Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 49, No 1, Spring 2018 (45-56)
DOI: 10.22059/ijfcs.2017.227071.654274

علوم گیاهان زراعی ایران
دورۀ ۴۹، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۷ (ص ۵۶-۴۵)

تأثیر باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری بر رشد و مقاومت گندم در شرایط تنش شوری

مریم صفدریان[۱]، حسین عسکری[۲]، مسعود سلطانی نجف آبادی[۳*] و قربانعلی نعمت زاده[٤]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی مولکولی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۲. استادیارگروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی انرژی و فناوری های نوین دانشگاه شهید بهشتی، تهران.
۳. استادیار بخش تحقیقات دانه های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال وبذر،کرج، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.
٤. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۳/۲۷)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه بر مقاومت به شوری گندم در مرحلۀ رشد رویشی، شماری جدایه از خاک‌های ریزوسفری گیاهان شورپسند، منطقۀ بیابانی اصفهان و گلستان با شوری بیش از ۱۰۰ میلی مولار جداسازی و از نظر تحمل به تنش شوری، صفات حل‌کنندگی فسفات، تولید اکسین، آهن‌بر (سیدروفور) و سیانید هیدروژن غربالگری شدند. از بین پنجاه جدایۀ به‌دست‌آمده، ده جدایۀ متحمل به شوری بین۲۰-۵ درصد بوده و شمار هشت جدایه قادر به انحلال فسفات نامحلول (۲۰۱۲-۱۸۸) میکروگرم بر میلی‌لیتر و شش جدایه هم مولد اسید ایندول-۳-استیک (۱/٤-۱۲۱/۷) میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. دو جدایۀ آهن‌بر تولید کرده و هیچ‌یک از جدایه‌ها توان تولید سیانید هیدروژن را نداشتند. تأثیر ده جدایۀ باکتری متحمل به شوری و دو سطح شوری شامل ۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم روی رشد گندم در مراحل اولیۀ رشد رویشی رشد ارزیابی شد. نتایج تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر وزن خشک ریشه و ساقه، وزن خشک کل، میزان اتیلن در شرایط تنش شوری روی رقم قدس گندم نشان داد، تلقیح با باکتری‌های منتخب در تعدیل تأثیر زیانبار شوری در دورۀ رشد رویشی گندم مؤثر بود. در تلقیح با جدایۀ ۸۸ (بهترین جدایه از نظر افزایش رشد در تنش شوری) وزن خشک کل (۲٦۱درصد)، وزن خشک ساقه (۳۹۰ درصد) و ریشه (۲۷۰ درصد) در مقایسه با تیمار شاهد افزایش و میزان اتیلن (۲٤درصد) کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: اتیلن، اکسین، باکتری محرک رشد، شوری، گندم.

Effect of salt-tolerant plant growth-promoting on growth and resistance of wheat (*Triticum aestivum* L.) in saline environment

Maryam Safdarian[1] HosseinAskari[2] MasoudSoltani Najafabadi[3] GhorbanAli Nematzadeh[4]

1. Former PhD student of Molecular Plant Physiology, Agricultural Biotechnology and Genetics Research Institute of Tabarestan, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
2.Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Energy Engineering and New Technologies, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Oil Seed Crops Research, Seed and Plant Improvement Institute (SPII). Agricultural Research, Education, and Extention Orgaization (AREEO), Karaj, Iran.
4. Professor, Biotechnology and Genetics Research Institute of Tabarestan Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran

(Received: , February 6, 2017- Accepted: June 17, 2017)

ABSTRACT

To study the efficiency of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on salt resistance of wheat plant (*Triticum aestivum* L) at vegetative growth stage, some isolated strains from the rhizosphere of halophyte plant which were collected from the deserts of four provinces (Isfahan, Yazd, Golestan and Hormozgan) of Iran. All strains were screened on their ability as salt tolerant, phosphate solubility, Auxin, siderophore and hydrogen cyanide (HCN) production. 10 isolates from a total of 50 isolates were salt tolerant to 5-20 percent salinity and have plant growth promoting (8 isolates were able to solubilize insoluble phosphate and 6 isolates produced Indole-3-acetic acid (IAA). Only two isolates produced siderophore and none of the isolates had the ability to produce cyanide hydrogen. Effects of 10 salt tolerant bacteria and two salt treatments (zero and 100 mM NaCl) on the initial phase of vegetative growth stage of wheat seedlings under 100 mM NaCl was investigated. The effect of PGPR on root and shoot dry weight, total dry weight, the amount of ethylene on Ghods wheat in saline conditions showed that the inoculation with selected bacteria in modulating the negative effects of salinity on growth period of wheat has been effective. Total dry weight (261%), shoot (390%) and root dry weight (270%) increased compared with control treatment and decreased levels of ethylene (24%) in salinity.

Keywords: Auxin, Ethylene, Plant growth promoting, Salt, Wheat.

* Corresponding author E-mail: m.soltanioil@yahoo.com

مقدمه

شوری خاک و آب از عامل‌های محدودکنندهٔ رشد و کاهش محصولات کشاورزی در بیشتر نقاط جهان و ایران از جمله نواحی خشک و نیمه‌خشک است. بنا بر آمار موجود در بررسی‌های خاکشناسی و طبقه‌بندی اراضی، حدود ۶/۸ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی کشور دارای خاک‌هایی با درجه‌های مختلف شوری تشخیص داده شده است (Arabi *et al*., 2006; Pikovskaya, 1984). حدود ۱/۱ میلیون هکتار (۲۷/۵ درصد) از این اراضی شوری ۱۴ تا ۱۶ دسی زیمنس بر متر و بیش از ۲/۴ میلیون هکتار (۵۷ درصد) شوری ۱۶ تا ۳۲ دسی زیمنس بر متر دارند. در چنین شرایط تنها شمار معدودی از گیاهان خیلی متحمل به شوری قادر به رشد و تولید محصول رضایت-بخش هستند (Pikovskaya, 1984)، از این‌رو شناسایی و ایجاد راهکارهای مناسب برای گیاهان برای رشد در مناطق شور بسیار اهمیت دارد. استفاده از گیاهان مقاوم به شوری و یا اصلاح زیستی (با استفاده از ریزجانداران یا میکروارگانیسم‌های مقاوم به شوری) برای اصلاح خاک-های شور در مقیاس گسترده از جملهٔ این روش‌ها است (Abrol *et al*., 1988; Payne, 1994). از راهکارهای نوین برای رویارویی با تنش شوری در گیاهان و کاهش تأثیر زیانبار آن‌ها، می‌توان به معرفی ریزجانداران مقاوم به شوری بهبوددهندهٔ رشد گیاه اشاره کرد. برخی از باکتری‌های جداسازی‌شده از مناطق شور شامل *Flavobacterium, Azospirillum, Alcaligens, Acetobacterium* و *Pseudomonas* هستند. این‌گونه باکتری‌های نمک‌دوست و مقاوم به شوری در اطراف ریشهٔ گیاهان، می‌تواند تأثیر تنش شوری را کاهش و حاصل‌خیزی خاک را بهبود ببخشند (Yang *et al*., 2009). باکتری‌های محرک رشد جداسازی‌شده از مناطق شور مقاومت به مقادیر بالای نمک را نشان داده‌اند (Rehman & Nautiyal, 2002) و باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری از طریق هدایت هیدرولیکی، تنظیم اسمزی، از بین بردن تأثیر سمی یون سدیم، حفظ هدایت اسمزی بالاتر و نورساخت (فتوسنتز) بیشتر می‌شوند (Mayak *et al*., 2004). باکتری‌های ریزوسفری می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن در گیاهان در هنگام بروز تنش جلوگیری کرده و سبب کاهش تأثیر منفی این هورمون در رشد و توسعهٔ اندام‌های گیاهی به‌ویژه ریشه شوند. باکتری‌های محرک رشد می‌توانند از راه تولید آنزیم (۱- ACC- آمینوسیکلوپروپان۱-کربوکسیلات دآمیناز) میزان تولید اتیلن را تنظیم کنند (Castric, 1974; Ventosa *et al*., 1998). این آنزیم به‌صورت غیرمستقیم و به‌طور عمده با کاهش سطح اتیلن در گیاه باعث تداوم رشد گیاه می‌شود (Grichko & Glick., 2001). این باکتری‌ها از راه‌های گوناگون مانند تولید هورمون‌ها، افزایش رهاسازی عنصرهای غذایی، تولید آنزیم ACC دی آمیناز، تثبیت زیستی (بیولوژیکی) نیتروژن و انحلال ترکیب‌های نامحلول روی سبب افزایش جذب عنصرهای غذایی شده و مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های محیطی(شوری، خشکی و سرما) افزایش می‌دهند (Suarez *et al*., 2015). در نتایج تحقیقی نشان داده شده، تلقیح بادام‌زمینی با باکتری محرک رشد در شرایط آبیاری با آب‌شور، رشد بهتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده داشت (Sandeep *et a.l*., 2016).

در بررسی سازوکارهای تحمل به نمک و اثر متقابل تلقیح اینتروباکتر به‌عنوان یک سویهٔ متحمل به شوری با گیاه بامیه (اوکرا) در شرایط تنش شوری نشان داده شد که تحمل به نمک در رقم‌های تلقیح‌شده افزایش یافته و باعث افزایش عملکرد مادهٔ خشک، محتوای سبزینه (کلروفیل)، قندهای کل و محلول، میزان آنزیم‌های پراکسیداز و پروتئین کل ریشه در شرایط تنش شوری شده است (Habib *et al*., 2016). محققان زیادی تأثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد را در کاهش اثرات تنش و و افزایش رشد گیاه تحت شرایط تنش‌زا مانند شوری، آلودگی به فلزهای سنگین (Abaid-Ullah *et al*, 2015)، حضور بیمارگر (پاتوژن)های گیاهی (Nabti *et al*., 2014)، شوری فزاینده و خشکی بالا (Hmaeid *et al*, 2014; Kaushal & Wani 2015) گزارش داده‌اند.

بنابراین با توجه به گستردگی قابل تأمل خاک‌های شور در ایران و نظر به جایگاه و اهمیت گندم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات مهم و راهبردی (استراتژیک) و با توجه به اهمیت موضوع و ضرورت به‌کارگیری روش‌های مناسب برای کاهش تأثیر شوری بر تولید محصول در شرایط یادشده، هدف از این بررسی گردآوری و معرفی انواع گونه‌های باکتری محرک رشد مقاوم به شوری و بررسی تأثیر آن‌ها برای بهبود رشد گندم در تنش شوری است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری خاک و جداسازی باکتری‌ها

نمونه‌گیری از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک مناطق بیابانی از بیابان‌های شور استان اصفهان (رودشت در شرق شهر اصفهان) و گلستان (آق‌قلا در شمال شهر گرگان) در مهرماه ۱۳۹۲ صورت گرفت (جدول ۱). برای جداسازی باکتری‌ها ۱ گرم از نمونهٔ خاک در ۹ میلی‌لیتر از محلول نمکی استاندارد (۰/۸۵درصد نمک طعام) حل و به مدت یک ساعت روی دستگاه لرزای اتاقک رشد (شیکر انکوباتور) با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفته و تا رقت 10^{-9}رقیق شدند. ۶۰ میکرولیتر از دروایهٔ (سوسپانسیون) خاک روی چند محیط کشت انتخابی (جدول ۲) پخش و در دمای ۲ ± ۳۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت تا ظهور پرگنه (کلونی)ها نگهداری (انکوبه) شدند. پرگنه‌هایی که ریخت‌شناختی (مورفولوژی) متفاوتی داشتند، انتخاب و با کشت متوالی خالص‌سازی و برای بررسی‌های بیشتر در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس روی محیط جامد نگهداری شدند.

ارزیابی مقاومت به شوری جدایه‌ها

برای بررسی مقاومت جدایه‌ها به شوری، آن‌ها را در محیط کشت مایع نوترینت براث (Nutrient Broth) با غلظت‌های بدون شوری (شاهد)، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد کلرید سدیم کشت داده و آنگاه میزان رشد جدایه‌ها (با اندازه‌گیری چگالی نوری در ۶۶۰ نانومتر) اندازه‌گیری شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت توانایی تحمل غلظت‌های مختلف نمک با ایجاد تیرگی رنگ در محیط کشت بررسی شد (Ventosa *et al.*, 1998).

جدول ۱. برخی ویژگی‌های شیمیایی نمونه خاک گردآوری‌شده از ریزوسفر گیاهان هالوفیت بیابان‌های نمکی ایران

Table 1. Some of chemical properties of the soil sample which were collected from the rhizosphere of the halophyte plants from saline deserts of Iran.

Region	EC * 103 mS/cm	pH	CO_3^{2-}	C (%)	SAR	ESP (%)	Mg/Ca	Na^+	Latitude Longitude
Golestan	30	7.9	13	0.84	32	37	98	36.5	30°15'N 50°45'E
Isfahan	110	8.1	15	0.98	45	42	102	48.2	32°50'N 51°50'E
Means	70	8	14	0.89	37.5	39.5	100	42.35	

جدول ۲. نام محیط کشت و ترکیب‌های آن‌ها

Media	Compounds (g/l)
NA	Nutrient Brouth: 8, Agar: 15
TSA	Tryptone: 15, Soytone: 5, Sodioum Chloride: 5, Agar: 15
LBA	LB: 25, Agar: 15
GYA	Glycerol: 5, Yeast Extract: 2, Dipotassium phosphate: 1, Agar: 15
A	NaCl: 174, $MgSO_4.7H_2O$: 0.1, $(NH_4)_2SO_4$: 2, K_2HPO_4: 3.12, NH_4CL: 2, Glucose: 10

Table 2 Media name and their compounds

برآورد کمی تولید ایندول ۳- استیک اسید (اکسین)

برآورد اکسین تولیدشده توسط باکتری (Beick *et al.*, 1991) و با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتری) انجام شد. نمونه‌های باکتری که به مدت ۷۲ ساعت در محیط کشت نوترینت برات همراه با ال-تریپتوفان (۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و دو درصد کلرید سدیم در ۳۰ درجهٔ سلسیوس رشد کرده، با معرف سالکوسکی (Salkowski) (۵۰ میلی‌لیتر، ۳۵درصد از اسید پرکلریک، ۱ میلی‌لیتر ۰٫۵ مولار محلول $FeCl_3$) به نسبت ۱:۱ مخلوط شدند. تولید اکسین به‌صورت ظهور رنگ صورتی آشکار شد که دو چگالی نوری آن، در ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. غلظت اکسین تولیدشده با تهیهٔ منحنی استاندارد از اکسین در محدودهٔ ۱۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان در نوترینت براث برآورد شد (Bieck *et al.*, 1991).

برآورد انحلال فسفات کانی

برای اندازه‌گیری توان حل‌کنندگی فسفات توسط باکتری‌ها، هر جدایه به‌طور جداگانه در پتری‌های حاوی روی محیط کشت جامد پیکوفسکی (PKV) کشت و پتری‌ها در دمای ۲±۳۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۵ روز نگهداری

شدند. برای شناسایی توان حل‌کنندگی فسفات از ویژگی شفاف‌سازی محیط پیرامون پرگنه‌ها استفاده شد (Grichko & Glick., 2001). سپس هر جدایه به‌صورت جداگانه در محیط کشت مایع درون فالکون‌های ۲۵ میلی‌لیتری پیکوفسکی به مدت ۱۰۰ ساعت روی دستگاه لرزا با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۲±۳۰ درجهٔ سلسیوس کشت داده شدند. سرانجام ۲ میلی‌لیتر محیط کشت از هر فالکون برداشته و به ویال‌های ۲ میلی‌لیتری انتقال داده شدند. سپس برای حذف باکتری و مواد جامد موجود در محیط کشت، ویال‌ها به مدت ده دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس سانتریفیوژ و محلول رویی شفاف هر ویال به ویال‌های جدید منتقل شد. در نهایت فسفر قابل اندازه‌گیری شد (Watanabe & Olsen., 1965).

ارزیابی تولید آهن‌بر

اندازه‌گیری آهن‌بر (سیدروفور) تولیدشده توسط باکتری‌ها با استفاده از روش کاس شاتل (CAS-Shattle) صورت گرفت باکتری‌های کشت‌شده در محیط با کمترین آهن (Fiss free) و در دمای (۲±۳۰) درجهٔ سلسیوس کشت داده شد. در صورت وجود آهن‌بر، آهن از ترکیب رنگی محیط کشت حذف و باعث کاهش در شدت رنگ آبی می‌شود. شدت رنگ توسط دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر خوانده می‌شوند (Payne, 1994).

ارزیابی کیفی اسید سیانیدریک (HCN)

بررسی کیفی HCN، به روش نمک آلی یا کانی اسید پیکریک صورت گرفت. باکتری‌ها در محیط کشت نوترینت براث حاوی ۴/۴درصد گرم گلیسین در دمای ۲± ۲۸ درجهٔ سلسیوس کشت شدند، سپس کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) آغشته به محلول ۲درصد کربنات سدیم و ۰/۵درصد اسید پیکریک روی محیط کشت قرار گرفته و در اتاقک رشد با دمای ۲± ۲۸ درجهٔ سلسیوس به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند. تغییر رنگ کاغذ صافی از زرد به نارنجی قهوه‌ای مبین تولید HCN است (Castric, 1974).

شناسایی مولکولی

استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم انجام گرفت. به‌منظور انجام واکنش PCR و افزونش ژن *16SrDNA* با طول bp ۱۵۰۰، از آغازگر (پرایمر)های 27F, 5′- AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′ و 1525R, 5′- AAGGAGGTGATCCAGCC-3′ استفاده شد (Weisburg *et a.l*, 1991). هر واکنش ۲۵ میکرولیتری شامل ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mixes kit (Thermo Scientific, USA) ، ۵۰ نانوگرم DNA و ۲۰pmol از هر آغازگر بود. شرایط PCR شامل دمای واسرشت‌سازی ۹۴ درجهٔ سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، به همراه ۳۵ چرخهٔ گرمایی با دمای ۹۴ درجه به مدت یک دقیقه، ۵۸ درجه به مدت ۹۰ ثانیه و ۷۲ درجهٔ سلسیوس به مدت ۲ دقیقه و افزونش نهایی در ۷۲ درجهٔ سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصول PCR از روی ژل آگارز (۱ درصد) بریده و توسط کیت (MN آلمان) خالص‌سازی شد و توالی‌یابی توسط شرکت Bioneer کرهٔ جنوبی انجام گرفت. توالی ژن *16SrDNA* باکتری‌های مورد نظر که همسان با توالی‌های *16SrDNA* دیگر باکتری‌ها در بانک ژنی GenBank/EMBL/DDBJ بودند از برنامهٔ BLASTN مقایسه و با نرم‌افزار MEGA6 همردیف (Blast) شدند (Weisburg *et al.*, 1991).

آزمون گلخانه‌ای

گندم رقم قدس برای انجام آزمایش از بخش تحقیقات غلات مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر کرج تهیه شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایهٔ کاملا تصادفی با دو عامل جدایه شامل ده سطح (ده جدایهٔ باکتری متحمل به شوری) و تنش شوری در دو سطح شوری (آب آبیاری به‌عنوان شاهد) و ۱۰۰ میلی مولار (که از طریق اضافه کردن نمک به آب، شوری با ۱۰۰ میلی مولار تهیه شد) در سه تکرار انجام شد. بذرها با استفاده از الکل ۹۶ درصد به مدت یک دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم با ۱/۵ درصد کلر فعال به مدت ۵ دقیقه سترون (استریل) سطحی شده و به‌منظور حذف سمیت هیپوکلریت سدیم بذرها با استفاده از آب مقطر سترون ده بار آبکشی شدند. بذرهای سترون‌شده به درون تشتک‌های پلاستیکی سترون ریخته و در زیر هود لامینار خشک شدند. در شرایط سترون ۱ گرم از بذرهای سترون‌شده با ۱ میلی‌لیتر از دروایهٔ باکتری درون تشتک‌های پتری با قطر ۸ سانتی‌متر تلقیح شدند. برای بررسی تأثیر باکتری‌های متحمل به شوری بر صفات رویشی گندم از ده جدایهٔ متحمل به شوری استفاده شد.

آزمایش به روش کشت در شن (Sand Culture) انجام شد. تهیهٔ بستر کشت ماسهٔ مورد نیاز از سواحل دریای مازندران تهیه شد و برای کاهش هدایت الکتریکی ناشی از نمک‌های رسوب کرده روی ذرات ماسه و جلوگیری از افزایش pH ناشی از محلولیت نمک‌ها، آبشویی و اسید شویی با استفاده از محلول ۱۰ درصد اسیدکلریدریک رقیق انجام شد. پس از هر نوبت اسید شویی سه مرتبه با آب معمولی آب‌کشی شدند در نهایت پس از خشک شدن، ماسه‌ها در آون با دمای ۱۸۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۴ ساعت سترون شدند. برای کاشت بذرها از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر با قطر دهانهٔ ۱۰ سانتی‌متر استفاده و به هر گلدان ۰/۵ کیلوگرم ماسه شستشوشده اضافه شد. در هر گلدان شمار ۱۵ بذر جوانه‌زده در عمق ۲ سانتی‌متری و با فاصله‌های یکسان کاشته شدند. یک هفته پس از کشت برای آبیاری گلدان-ها و به‌منظور تأمین نیازهای غذایی از محلول غذایی هوگلند استفاده شد. آبیاری و تغذیهٔ گیاهان تا آغاز مرحلهٔ سه برگی با محلول غذایی هوگلند بدون شوری و پس از مرحلهٔ سه برگی با اعمال تیمارهای شوری صورت گرفت. برای جلوگیری از وارد شدن تکانه (شوک) به گیاهان، تیمارهای شوری به‌صورت تدریجی اعمال شد. همچنین به‌منظور اطمینان از رسیدن به شوری مورد نظر هر هفته یک‌بار هدایت الکتریکی زهاب گلدان‌ها اندازه‌گیری شدند. پس از پایان دورهٔ رشد، گیاهان از ریشه کنده شده و شاخص‌های رشد، فراسنجه (پارامتر)های مربوط به اندام‌های هوایی (شامل وزن خشک ساقه و ارتفاع) و همچنین وزن خشک ریشه و کل اندازه‌گیری شد.

برآورد تولید اتیلن

تولید اتیلن در گندم با روش Siddikee *et al.* (2011) برآورد شد به این منظور ۵ گیاه از هر گلدان به‌طور کامل از خاک خارج و خاک اطراف ریشه شسته شد و سپس در بطری‌های ۱۲۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. پس از ۳۰ دقیقه، لوله با لاستیک بوتیل (Butyl Rubber) پوشانده شد. پس از ۴ و ۲۴ ساعت نگهداری (انکوباسیون) بطری-ها، ۱ مترمکعب فضای گازی بالای سر نمونه‌های درون بطری در شرایط همسان در دمای اتاق نمونه‌گیری شدند. محتوای اتیلن با یک سیستم PerkinElmer خودکار XL فام‌نگار (کروماتوگراف) مجهز به دماسنج تنظیم‌شده در ۱۵۰ درجهٔ سلسیوس و یک ستون Hayesep R (۲ متر طول، قطر ۲ میلی‌متر) شناور در یک جریان هلیوم (با کیفیت ۵۰) با شدت‌جریان ۲۸ میلی‌لیتر در دقیقه و در دمای ۵۰ درجهٔ سلسیوس اندازه‌گیری شد. سنجش میزان اتیلن در مقایسهٔ مقادیر اتیلن به‌دست‌آمده از نمونه نسبت به منحنی استاندارد بود (Siddikee *et al.*, 2011).

نتایج و بحث

جداسازی و ارزیابی تحمل به شوری باکتری‌ها

از مناطق نمونه‌گیری شده، پنجاه جدایه جداسازی و خالص‌سازی شد. از بین پنجاه جدایهٔ به‌دست‌آمده، ده جدایهٔ متحمل به شوری ۲۰-۵ درصد NaCl بود که بر پایهٔ ایجاد تیرگی رنگ در محیط کشت و افزایش جذب نوری (۶۰۰ نانومتر) با گذشت زمان، به‌عنوان معیار تحمل به شوری در نظر گرفته شد (Kaye & Baross, 2004).

برآورد کمی ایندول ۳- استیک اسید (اکسین)

از پنجاه جدایهٔ خالص‌شده، شش جدایه توانایی تولید اکسین داشتند. جدایه‌های ۵ و ۱۰۰ پس از ۷۲ ساعت نگهداری، به ترتیب با تولید ۱۲۱و ۸۷ میکروگرم در میلی‌لیتر اکسین بیشترین میزان اکسین را تولید کردند (جدول ۳). از ده جدایهٔ متحمل به شوری چهار جدایه تولیدکنندهٔ اکسین بودند. تولید اکسین وابسته به حضور ال تریپتوفان در محیط می باشد، باکتری با بهره‌گیری از ۵۰۰ میکروگرم تریپتوفان تولید ایندول استیک اسید می‌کند. تولید ایندول استیک اسید یک صفت مهم محرک رشد گیاه برای باکتری است به‌طوری‌که این هورمون‌گیاهی شبکهٔ ریشهٔ گیاه را توسعه داده و جذب مواد غذایی را بهبود می‌بخشد (Lim & Kim, 2009). در آزمایش انجام شده توسط اگامبردیوا، مشاهده شد که تولید اکسین در باکتری‌های محرک رشد متحمل به شوری، در شرایط تنش شوری افزایش می‌یابد و باعث افزایش رشد گیاه در شرایط تنش شوری می‌شوند (Egamberdiyeva, 2009). در بررسی دیگری محققان نشان دادند، بیشترین میزان تولید اکسین (۹۹/۹ میکرو گرم در لیتر) در سویه‌های جداسازی‌شده بود که باعث افزایش محتوای مواد مغذی و عملکرد گندم شد (Kumar *et al*,, 2014). در بررسی دیگری که در خصوص توانایی تولید اکسین در باکتری های جدا سازی شده از ریزوسفر

آویشن انجام گرفت مشخص گردید که همه ۲۱ جدایهٔ (ایزولهٔ) جداسازی‌شده توانایی تولید اکسین را دارند، بیشترین میزان اکسین تولیدشده ۳۰/۵۲ میکروگرم بر لیتر بود (Aghaahmadi *et al*., 2016).

برآورد انحلال فسفات کانی

از بین پنجاه جدایهٔ به‌دست‌آمده، ده جدایه قادر به انحلال فسفات نامحلول بودند (جدول ۳). جدایهٔ ۱۰۰ با ۱۸۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمترین و جدایهٔ ۴۷ با ۲۰۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین میزان انحلال فسفات نامحلول را داشتند. سه جدایه توانایی انحلال فسفات نامحلول بیش از ۱۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر را داشتند. از میان ده جدایهٔ متحمل به شوری، شش جدایه حل‌کنندهٔ فسفات بودند، درحالی‌که فسفر در شرایط شوری غیر محلول یا با حلالیت ضعیف است. بسیاری از باکتری‌های حل‌کنندهٔ فسفات عملکرد گیاه را حتی در شرایط تنش شوری هم افزایش می‌دهند (Habib *et al*, 2016).

حلالیت فسفات توسط جنس *Bacillus sp* جداشده از خاک‌های شور توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (Mayak *et al*., 2004a; Mardani *et al*., 2004). حل‌کنندگی فسفات صفت بسیار مهم محرک رشد گیاه است. در این فرآیند ریزجانداران حل‌کنندهٔ فسفات، فسفات نامحلول را حل و آن را در دسترس گیاهان قرار می‌دهد (Kaye & Baross, 2004). محققانی نیز آزادسازی فسفات به‌وسیلهٔ باکتری‌ها را بررسی کردند. یافته‌های آنان نشان داد، مولکول‌های آلی با وزن مولکولی پایین باعث آزادسازی و حل شدن فسفات کانی می‌شود (Parasad, 2014; Suarez *et al*, 2014). در تحقیقی مشخص شد که اسیدسیتریک، اسید گلوتانیک، اسیدلاکتیک و اسید پروپیونیک مهم‌ترین اسیدهای آلی جداشده از محیط کشت باکتریایی هستند که موجب آزادسازی فسفات خاک می‌شوند. محققان تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی فسفره و باکتری‌های حل‌کنندهٔ فسفات را در عملکرد دانهٔ کلزا بررسی کردند. یافته‌های آنان نشان داد، استفاده از باکتری‌های حل‌کنندهٔ فسفات موجب تولید بافت رویشی در مراحل زایشی بذر خواهد شد و اختلاف معنی‌داری نسبت به استفاده از کودهای شیمیایی دارد (Mardani *et al*., 2004).

ارزیابی تولید آهن، بر و اسید سیانیدریک

تنها دو جدایهٔ آهن‌بر تولید کرده و هیچ‌یک از جدایه‌ها توان تولید سیانید هیدروژن را نداشتند (جدول ۳).

جدول ۳. برخی از صفات محرک رشد جدایه‌ها.

Table 3. Some of Plant growth-promoting traits isolates ..

Isolte nember	Sidrophore %	Phosphate solubility (µg/ml)	Auxin (µg/ml)
5	N/A	1399 ± 5.4	121.7 ± 2.3*
10	N/A	N/A	13.4 ± 0.22
16	11 ± 0.71	N/A	30 ± 1.2
22	N/A	N/A	4.1 ± 0.03
26	N/A	N/A	48 ± 0.53
32	14 ± 0.75	N/A	18 ± 0.44
37	N/A	N/A	6.5 ± 0.05
41	N/A	1008 ± 6.2	N/A
47	N/A	1667 ± 1.4	N/A
57	N/A	± 3.6 2012	N/A
65	N/A	219 ± 4.6	N/A
69	N/A	1377 ± 8.8	N/A
76	N/A	388 ± 2.9	N/A
83	N/A	1797 ± 5.6	N/A
88	N/A	1480± 6.8	N/A
100	N/A	188 ± 3.1	78± 1.03
(5%) LSD	0.5	21.1	3.2

خطای استاندارد ± مقادیر: میانگین سه تکرار*

means of three replicates ± standard error:Values

جدایهٔ ۱۶ و ۳۲ به ترتیب ۱۱ و ۱۴ درصد آهن‌بر تولید کردند. به دلیل اهمیت بالای آهن‌برها در جذب آهن

توسط گیاهان، بررسی‌های زیادی برای جداسازی باکتری-های تولیدکنندهٔ آهن‌بر صورت گرفته است (Payne, 1994). در این پژوهش نیز برای جداسازی باکتری‌های تولیدکنندهٔ آهن‌بر، از روش سنجش CAS استفاده شد. در نتایج پژوهشی دیگر نشان داده شد، از بین شانزده سویهٔ جداسازی‌شده دوازده سویه قابلیت تولید آهن‌بر را داشتند (Sadeghi *et al*., 2012). در تحقیقی دیگر نیز نشان داده شد، تنها دو سویه از بین ۳۵ سویهٔ جداسازی‌شده توانایی تولید آهن‌بر را دارند (Jan *et al*., 2011). در نتایج پژوهشی نیز مشخص شد از بین ۴۳ سویهٔ جداسازی‌شده ۹ جدایه تولیدکنندهٔ آهن‌بر بودند (Besharati *et al*., 2015).

آهن‌برها مواد کلاته‌کنندهٔ آهن سه ظرفیتی با وزن مولکولی کم هستند که در شرایط کمبود آهن تولید می‌شوند و با یون آهن کمپلکس تشکیل می‌دهند. این کمپلکس به‌وسیلهٔ پروتئین‌های گیرنده در غشای یاختهٔ باکتری به‌طور اختصاصی شناسایی و جذب می‌شود. آهن‌برها نقش مهمی در ناهمسازی (آنتاگونیسم) بین ریزجانداران مختلف دارند. آهن‌بر خارج یاخته‌ای برخی از جدایه‌ها به نام سودوبا کتین به‌سرعت ریشه‌ها را احاطه کرده و آهن منطقهٔ ریشه را غیرقابل‌دسترس برای ریزجانداران ریزوسفر می‌سازد (Payne., 1994).

شناسایی مولکولی

ارزیابی همانندی چندگانهٔ (*Multiple* alignment) توالی *16SrDNA* سه باکتری منتخب از نظر بهترین صفات محرک رشد با دیگر توالی‌های *16SrDNA* موجود در بانک ژنی NCBI نشان داد، جدایهٔ ۸۸ و ۱۰۰ به ترتیب با ۹۹/۹ و ۹۹ درصد همانندی متعلق به *Bacillus subtillis* و جدایهٔ ۴۲ با ۹۹ درصد همانندی متعلق به *Enterobacter aerogenes* است (جدول ۴).

جدول ۴. شناسایی مولکولی بهترین جدایه‌ها در این بررسی

Table 4: Molecular identification of best isolates in this study.

Isolates	16 S rRNA fragment length (bp)	Similarity Percent	Accession Number	Closest relatives and NCBI accession number
42	1366	99	KU374974	*Enterobacter aerogenes*
88	1370	99.9	KU374977	*Bacillus amyloliquefaciens*
100	1127	99	KU374973	*Bacillus atrophaeus*

آزمون گلخانه‌ای

تیمار شوری تأثیر منفی و معنی‌داری بر عملکرد در گندم داشت. وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، وزن خشک کل و ارتفاع گیاه به ترتیب ۳۸، ۲۱، ۱۱ و ۶ درصد در مقایسه با نبود شوری کاهش یافت (جدول ۶). کاهش عملکرد گندم به دلیل افزایش شوری توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (Ji & Huang, 2008; Hamdi *et al*., 2004; Rajput *et al*., 2013) در این گزارش‌ها علت کاهش را نتیجه کاهش جذب آب، عنصرهای غذایی و بر هم خوردن تعادل عنصرهای غذایی عنوان کرده‌اند. در شوری ۱۰۰ میلی مولار، تلقیح با جدایه های محرک رشد مقاوم به شوری باعث افزایش معنی‌دار در ارتفاع، وزن خشک ریشه و ساقه در زمان برداشت شد (جدول ۶). جدایهٔ ۸۸ وزن خشک ساقه، جدایهٔ ۱۰۰ وزن خشک ریشه، و جدایهٔ ۴۷ وزن خشک کل را به ترتیب ۳۶۰، ۲۷۶ و ۱۹۸درصد در زمان برداشت در شوری ۱۰۰ میلی مولار افزایش دادند که بیانگر تأثیر مثبت باکتری بر عملکرد گندم در تنش شوری بود (جدول ۶). در تلقیح با جدایهٔ ۸۸ (بهترین جدایه از نظر افزایش رشد در تنش شوری) وزن خشک کل (۲۶۱ درصد)، وزن خشک ساقه (۳۹۰ درصد) و ریشه (۲۷۰ درصد) در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده افزایش یافت. بیشترین ارتفاع گیاه (۴۱ سانتی‌متر) مربوط به جدایهٔ ۳۲ در شرایط بدون تنش و بیشترین ارتفاع (۳۴/۸ سانتی‌متر) مربوط به جدایهٔ ۱۶ در شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار بود. افزایش رشد گندم در تنش شوری در تلقیح با جدایهٔ ۸۸ و ۱۰۰ را می‌توان به ویژگی‌هایی چون توانایی تولید اکسین و انحلال فسفات‌های معدنی که به نوبه خود باعث افزایش تقسیم سلولی، تمایز یاخته‌ای رشد ریشهٔ گیاه و قابلیت دسترسیگیاه به فسفر می‌شوند، نسبت داد.

جدول ۵. تجزیهٔ واریانس تأثیر شوری و باکتری بر وزن خشک ساقه، ریشه و کل گندم

Table 5. Analysis of variance for effect of salt and bacteria on shoot, root, and whole wheat plant dry mass

SOV	df	Shoot dry mass	Root dry mass	Total dry mass
Salt	1	0.009**	0.039**	0.0877**
Bacteria	9	0.008**	0.01**	0.0349**
Salt x Bacteria	9	0.004**	0.004**	0.0143**
Error	39	0.0015	0.0026	0.005
C.V		21/8	29/6	20/3

C.V., coefficient of variation; ** Significant at $P \leq 0.01$

جدول ۶. تأثیر ده جدایهٔ محرک رشد مقاوم به شوری بر برخی ویژگی‌های گندم در شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار

Table 6. The effect of 10 PGPRs isolates on some wheat growth traits under salt stress (100 mM).

plant height (cm)		Total dry mass (g)		Root dry mass (g)		shoot dry mass (g)		Isolate
100 (mM)	0 (mM)	100 (mM)	0 (mM)	100 (mM)	0 (mM)	100 (mM)	0 (mM)	
25.3 ± 1.1	26.9 ± 1.2	0.137± 0.018	± 0.018۰0.154	0.067± 0.012	0.085 ± 0.011	0.05 ± 0.008	0.069 ± 0.005*	control
33.5 ± 2.3	35.2 ± 2.55	0.322± 0.028	0.386 ± 0.039	0.139 ± 0.014	0.177 ± 0.021	0.183 ± 0.017	± 0.019۰0.209	5
34.3 ± 2.4	35 ± 2.5	0.293 ± 0.029	0.35 ± 0.033	0.145 ± 0.013	0.182 ± 0.022	0.148 ± 0.013	0.168 ± 0.014	10
34.8 ± 2.6	35 ± 2.7	0.288 ± 0.029	0.31 ± 0.047	0.117±0.008	0.107 ± 0.009	0.17 ± 0.016	0.203 ± 0.019	16
34 ± 2.3	35.7 ± 2.6	0.236 ± 0.022	0.298 ± 0.031	0.1 ± 0.009	0.144 ± 0.012	0.136 ± 0.012	0.154 ± 0.014	22
30.3 ± 1.8	35 ± 2.2	0.295 ± 0.022	0.369 ± 0.031	0.148 ± 0.016	0.184 ± 0.019	0.147 ± 0.014	0.185 ± 0.017	26
32.5 ± 1.7	41 ± 3.6	0.24 ± 0.029	0.339 ± 0.048	0.113 ± 0.012	0.16 ± 0.016	0.127 ± 0.011	0.179 ± 0.016	32
30.7 ± 1.7	36.7 ± 2.6	0.322 ± 0.033	0.394 ± 0.037	0.161 ± 0.016	0.198 ± 0.028	0.161 ± 0.009	0.196 ± 0.018	41
34 ± 2.4	34.9 ± 2.5	0.409 ± 0.052	0.325 ± 0.034	0.225 ± 0.023	0.167 ± 0.017	0.234 ± 0.016	0.158 ± 0.015	47
33.1 ± 2.7	37.1 ± 3.00	0.495 ± 0.058	0.462 ± 0.053	0.25 ± 0.024	0.256 ± 0.023	0.245 ± 0.018	0.207 ± 0.019	88
31.6 ± 1.5	34.3 ± 2.2	0.407 ± 0.075	0.386 ± 0.045	0.253 ± 0.024	0.197 ± 0.02	0.194 ± 0.014	0.189 ± 0.018	100
8.2		0.12		0.04		0.02		LSD (5%)

خطای استاندارد ± مقادیر: میانگین سه تکرار*

Values: means of three replicates ± standard error

افزایش رشد ریشه یکی از مهم‌ترین معیارها برای سنجش تأثیر سودمند باکتری‌های محرک رشد گیاه است. توسعهٔ سریع ریشه‌ها چه با افزایش طول ریشه‌های آغازین و چه با افزایش ریشه‌های جانبی و نابجا، راهی مناسب برای گیاهچه‌های جوان است که توانایی خود را برای استقرار در خاک و جذب مواد غذایی افزایش دهند (Patten & Gilick 2002). باکتری‌های متحمل به شوری در پیرامون ریشهٔ گیاهان می‌توانند آثار تنش شوری را کاهش و حاصل‌خیزی خاک را بهبود بخشند. در نتایج تحقیقی روی ذرت مشخص شد، وزن تر و خشک گیاهچهٔ ذرت به علت پیش تیمار بذر با باکتری‌های جنس سودوموناس افزایش یافت (Nadege *et al.*, 2016). همچنین در نخود، پیش تیمار با *Psedomonas fuloresence* به افزایش ارتفاع ساقه، طول ریشه و وزن خشک گیاه نسبت به تیمار شاهد انجامید (Hamdi *et al.*, 2004). در نتایج پژوهشی دیگر نشان داده شد، تلقیح گندم با باکتری محرک رشد *Pseudomonas sp* در شرایط تنش شوری، با کاهش جذب یون‌های سمی و افزایش تولید هورمون اکسین موجب تحریک رشد گیاه شد (Egamberdeyiva *et al*, 2009). در نتایج پژوهشی ایزولهٔ SAL-15 جداسازی‌شده که متعلق به گونه و جنس *Planococcus rifietoensis* است، قادر به افزایش مقاومت گندم به شرایط شوری خاک بوده است. این باکتری قادر به زنده ماندن در غلظت نمک زیاد (۶۵ گرم بر لیتر) و pH برابر ۹ است و رشد گیاه را در همین شرایط بهبود می‌بخشد (Nadeem *et al.*, 2013). باکتری‌های محرک رشد جداسازی‌شده از مناطق شور باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری از طریق هدایت

هیدرولیکی، تجمع اسمزی، از بین بردن تأثیر سمی یون سدیم، حفظ هدایت اسمزی بالاتر و نورساخت بیشتر می‌شوند (Rajput *et al*., 2013; Ventosa *et al*., 1998). نتایج آزمایشی نشان داد، *Bacillus Subtilis* AH18 و *Bacillus licheniforims* K1 با تولید IAA و IBA باعث افزایش در رشد اسفناج، گوجه‌فرنگی و تربچه می‌شوند (lim & Kim, 2009). گزارش‌های دیگر محققان نیز بر تأثیر محرک رشد باکتری‌های مقاوم به شوری جداشده از خاک‌های شور روی گیاه تأکید کرده‌اند که مؤلفهٔ مناسبی برای کشاورزی پایدار است (Jan *et al*., 2011; Yildirim & Taylor, 2005).

ارزیابی تولید اتیلن

نتایج بررسی‌ها نشان داد، در شوری ۱۰۰ میلی مولار میزان اتیلن در تیمار شاهد (بدون تلقیح با باکتری) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۷).

درصورتی‌که کاهش تولید اتیلن در تیمار تلقیح شده با باکتری در شرایط بدون شوری و شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد. از بین باکتری‌های کاهش‌دهندهٔ میزان اتیلن، جدایهٔ ۸۸ پس از هر دو زمان ۴ و ۲۴ ساعت پس از نگهداری کمترین میزان تولید اتیلن را نشان داد (جدول ۷). گیاه تلقیح‌شده با جدایهٔ ۸۸ در هر دو زمان ۴ و ۲۴ ساعت پس از نگهداری کمترین میزان تولید اتیلن را نشان داد (جدول ۷). تلقیح با جدایهٔ ۸۸ منجر به کاهش ۶۲/۳۵ درصد تولید اتیلن و افزایش عملکرد گندم در شوری ۱۰۰ میلی مولار شد (جدول ۷).

جدول ۷- تأثیر زمان اثر انکوباسیون جدایه‌ها بر بیوسنتز اتیلن در گندم در شرایط تنش شوری.

Table 7. Effect of incubation times of isolates on ethylene biosynthesis in wheat under salt stress

Ethylene emission (nmol ethylene g FW^{-1} h^{-1})				Time point
4 h incubation		24 h incubation		
200 mM	0 mM	200 mM	0 mM	NaCl concentration
11.56 ± 2.16	8.03 ± 2.20	72.23 ± 4.62 *	N/A	Not inoculated
8.25 ± 1.46	8.24 ± 2.24	72.05 ± 5.85	N/A	5
8.91 ± 1.2	7.63 ± 0.36	64.05 ± 3.46	N/A	10
7.52 ± 0.6	6.97 ± 2.16	61.78 ± 1.75	N/A	16
9.83 ± 1.73	8.22 ± 2.21	72.22 ± 9.37	N/A	22
9.53 ± 2.2	7.46 ± 5.36	70.22 ± 2.00	N/A	26
8.61 ± 0.92	7.34 ± 5.15	68.34 ± 8.30	N/A	32
7.12 ± 2.00	6.88 ± 3.64	62.34 ± 3.17	N/A	42
9.34 ± 2.27	7.71 ± 1.69	70.33 ± 4.47	N/A	47
8.68 ± 1.8	6.92 ± 1.49	60.88 ± 5.58	N/A	88
8.89 ± 2.9	7.81 ± 3.30	69.15 ± 3.35	N/A	100
2.5		12.5		LSD (5%)

* مقادیر: میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد

means of three replicates ± standard error:Values

اتیلن در بیشتر بافت‌ها در پاسخ به تنش ساخت (سنتز) می‌شود. در گزارشی نشان داده شد، تلقیح باکتری *Achromobacter piechaudi* وزن تازه و خشک گوجه-فرنگی را در غلظت نمک ۱۷۲ میلی مولار NaCl افزایش و تولید اتیلن را کاهش داده است (Mayak *et al*., 2004). در نتایج تحقیقی مشاهده شد با تلقیح *Pseudomonas sp*.S1 واجد توان تولید آنزیم ACC دآمیناز به بذر چاودار تحمل گیاه به تنش شوری ۱۰ گرم بر کیلوگرم NaClبه‌طور قابل توجهی افزایش و در یک دورهٔ رشد ۵۰ روزه، وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی در شرایط تنش شوری به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش یافت و میزان اتیلن کاهش یافت (Ji & Huang, 2008). در نتایج پژوهش دیگری، در نتیجهٔ تنش شوری که موجب افزایش میزان اتیلن در حدود ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در گندم شده است، کاهش ۲۵ درصدی عملکرد مشاهده شد (Girichko & Glick., 2001). تنش‌های غیرزنده مانند شوری زیاد خاک، خشکی، غرقاب، سرما و یخبندان، گرما و نیز عامل‌های بیماریزا باعث افزایش غلظت اتیلن در گیاه می‌شوند (Wang *et al*., 2000; Bal *et al*., 2013). هرچند وجود اتیلن به‌عنوان یک هورمون گیاهی مهم برای رشد و نمو طبیعی گیاه ضروری است، لیکن غلظت‌های بالای آنکه در شرایط

تنش شوری و خشکی رخ می‌دهد، باعث بروز اختلال در رشد گیاه می‌شود. بعضی از باکتری‌های محرک رشد گیاه آنزیمی به نام ACC دآمیناز دارند که قادر به تبدیل پیش مادهٔ اتیلن یعنی ۱- آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات (ACC)به آمونیاک و آلفاکتوبوتیرات بوده و از این راه موجب کاهش میزان اتیلن حتی در شرایط تنش می‌شود (Wang *et al.*, 2000; Girichko & Glick, 2001).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد، در بین باکتری‌های شده، جدایهٔ ۸۸ جدایهٔ برتر از نظر افزایش عملکرد در شرایط تنش شوری بود. همچنین نتایج نشان داد، جدایه‌های منتخب که ویژگی توان تولید اکسین، حل‌کنندگی فسفات و توانایی کاهش تولید اتیلن گیاه داشتند. تیمار بذر با جدایهٔ ۸۸ از طریق انحلال فسفات کانی و کاهش اتیلن سبب خنثی کردن شرایط ناشی از تنش شده و سبب افزایش وزن خشک ریشه، ساقه و کل شد. بنابراین، تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند با کاهش یا تعدیل اثر شوری، در بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه در شرایط تنش شوری مؤثر واقع شود.

سپاسگزاری

این نوشتار بخشی از پایان‌نامهٔ دکتری بوده که در پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تأمین هزینه و اجرا شد. که بدین‌وسیله از همهٔ اعضای این پژوهشکده قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Abaid-Ullah, M., Hassan, M. N., Jamil, M., Brader, G., Shah, M. K. N. & Sessitsch A. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria: an alternate way to improve yield and quality of wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal of Agriculture and Biology*. 17; 51–6.
2. Abrol, I.P., Yadav, J. S. P. & Massoudm, F. I. (1988). Salt Affected Soils and Their Management. Food and Agriculture Organization (FAO), UN, Soils Bulletin, Rome, p. 39.
3. Aghaahmadi A. H., Moghadam H., Najafi F., Mazaheri D., & Pourbabae A. A. Isolation and characterization of growth-promoting bacteria from rhizosphere of Thymus danenensisand study of their potential for enhancement of seed germination*Iranian Journal of Filed Crop Science*. 47, 1.
4. Arabi, F., Nikravesh, Z., Babaeezad, V., Rezaeian, V. & Rahimian, H. (2006). Occurrence of bacterial leaf spot of garden beet caused by *Pseudomonas syringae pv. aptata* in Iran. *Iran Journal of Plant Pathology*, 42: 655-671 (In Farsi with English Summary).
5. Bal, H. B., Nayak, L., Das, S. & Adhya, T. K. (2013). Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant Soil*, 366, 93–105.
6. Besharati, J., Widmer, G., Atkinson, V., Pickert, & Washington. J. (2015). Super-high-speed switched reluctance motor for automotive traction. In 2015 IEEE Energy Conversion Congress and Exposition, ECCE 2015, 5241–5248.
7. Castric, P. A. (1974). Hydrogen cyanide, a secondary metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*. *Canadian Journal of Microbiology*, 21:613–8.
8. Egamberdiyeva, D. (2009). Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31:861-864.
9. Jan. A. T., Azam, M., Ali, A. & Haq, Q. (2011). Novel approaches of beneficial Pseudomonas in mitigation of plant diseases an appraisal. *Journal of Plant Interactions*. 6(4):195–205.
10. Ji, Y. X., & Huang, X. D. (2008). Amelioration of salt stress on annual Ryegrass by ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. The 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, 16-18 May 2008. Shanghai. Pp: 4104-4107.
11. Habib S. H., Kausar H., & Saud H. M. (2016). Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes. *Biomed. Res. Int.* 2016:6284547.
12. Hmaeid, N., Metoui, O., Wali, M., Zorrig, W. & Abdelly, C. (2014). Comparative effects of Rhizobacteria in promoting growth of *Hordeum maritimum* L. plants under salt stress. *Journal of Plant Biology Research* 3(1):37-50.

13. Hamdi, M. A., Shaddad, M. A. K. & Doa, M. M. (2004). Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regul*, 44: 165–174.
14. Grichko, V. P., & Glick, B. R. (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminae –containing plant growth promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry*. 39:11-17.
15. Kaushal, M.S. & Wani. P. (2015). Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. Annual Microbiology. pp. 1–8.
16. Kaye, J. Z. & Baross, A. J. (2004). Synchronous effects of temperapture, hydrostatic pressure and salinity on growth, phospholipids profiles, and protein patterns of four Halomonas species isolated from deep see hydrothermal -vent and sea surface environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 6220-6229.
17. Kumar K., Kumar M., Kim S. R., Ryu H. & Cho Y. G. (2013). Insights into genomics of salt stress response in rice. *Rice* 6:27
18. Lim, J. H. & Kim, S. D. (2009). Synergistic plant growth promotion by the indigenous auxins-producing PGPR *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniforims* K11. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(5):531–8.
19. Mayak, S., Tirosh, T. & Glick, B. R. (2004). Plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42:565-572.
20. Madani, H., Naderi Borojerdi, GH., Aghajani, H. & Pazaki, A. (2004). Comparing the effects of using phosphorus fertilizers and phosphate solubilizing bacteria in the performance of seed, biology and relative content of phosphorus of tissues in autumn *Brassica Napus*, *Journal of Plant Molecular Breeding*, 6(4): 47-53.
21. Nabti, E., Bensidhoum, L., Tabli, N., Dahel, D., Weiss, A., Rothballer, M., Schmid, M. & Hartmann, A. (2014). Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium* sp. strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. *European Journal of Soil Biology*. 61, 20–26.
22. Nadege, A., Pacôme, A., Adolphe Adjanohoun, N., Agbessi, L. & Baba-Moussa, L. (2016).Synergistic Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Chitosan on In Vitro Seeds Germination, Greenhouse Growth, and Nutrient Uptake of Maize (*Zea mays* L). *Biotechnology Research International*. Article ID 7830182, 11 pages.
23. Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M. & Nawaz, S. (2013). Mitigation of salinity- induced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting rhizobacteria in naturally saline conditions. *Annal Microbiology*, 63:225–232.
24. Payne, S. M. (1994). Detection, Isolation and characterization of siderophores. Methods in Enzymology. 235:329–44.
25. Pikovskaya, R. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Microbiologyal, 17:362–370.
26. Patten, C.L. & Glick, B.R. (2002).The role of bacterial indoleacetic acid in the development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol*, 68:3795–801.
27. Prasad, K. (2014). Low levels of serum soluble receptors for advanced glycation end products, biomarkers for disease state: myth or reality. International Journal of Angiology: *Official Publication of the International College of Angiology, Inc.* 23, 11-16.
28. Rajput, L., Imran, A., Mubeen, F. & Hafeez, F. Y. (2013). Salt-tolerant pgpr strain *planococcus rifietoensis* promotes the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* l.) Cultivated in saline soil. *Pakistan journal of botany*, 45(6):1955-1962.
29. Rehman, A. & Nautiyal, C. S. (2002). “Effect of drought on the growth and survival of the stress-tolerant bacterium *Rhizobium* sp. NBRI2505 sesbania and its drought-sensitive transposon Tn5 mutant,” *Current Microbiology*, 45(5): 368–377.
30. Sandeep I. S., Kuanar A., Akbar A., Kar B., Das S. & Mishra A. (2016). Agroclimatic zone based metabolic profiling of turmeric (*Curcuma Longa* L.) for phytochemical yield optimization. *Ind. Crops Prod.* 85, 229–240.

31. Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P. A., Javid, M. G., Dalvand, Y. & Askari, H. (2012). Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World J Microbiol Biotechnol*, 28, 1503–1509.
32. Siddikee, M. A., Glick, B. R., Chauhan, P. S., Yim & WJSa, T. (2011). Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1- aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 427–434.
33. Suareza, C., Cardinalea, M ., Rateringa, S., Steffensb, D., Jungb, S.,. Zapata, A M., Rita, M., Plauma, G & Schnella, S. (2015). Plant growth-promoting effects of Hartmannibacter diazotrophicus on summer barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt stress. *Applied Soil Ecology*. 95: 23–30.
34. Suarez, C., Ratering, S., Geissler-Plaum, R. & Schnell, S. (2014). *Hartmannibacter diazotrophicus* gen. nov. sp. nov., a novel phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing alphaproteobacterium isolated from the rhizosphere of a natural salt meadow plant. International *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64:3160–3167.
35. Ventosa, A., Nieto, J. J. & Oren, A. (1998). Biology of moderately holophilic aerobic bacteri. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 24: 504-544.
36. Wang, C., Knill, E., Glick, B. R. & Defago, G. (2000). Effectc of transferring 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into *Pseudomonase fluorescens* strain CHAO and its gacA derivative CHA96 on their growth promoting and disease-suppressive capacities.*Canadian Journal of Microbiology*. 46:898-907.
37. Watanabe, F. & Olsen, S. (1965). Test of an ascorbic acid method for determining phosphorous in water and NaHCO3 extracts from soil. *Soil Science Society of America, Proceedings*, 29:677–678
38. Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A. & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173:697–703.
39. Yildirim, E. & Taylor, A. G. (2005). Effect of biological treatments on growth of bean Plants under Salt Stress. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, 48: 176-177.
40. Yang, J., Kloepper, J. W. & Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends Plant Science, 14, 1–4.