

# تأثیر باکتری اندوفیت باسیلوس سوبتیلیس POE26 بر فاکتورهای رشد و محتوی پرولین و اکسین در دو رقم گندم نان تحت تنش شوری

رامتین پاکزاد<sup>۱</sup>، مریم نصراصفحانی<sup>۱\*</sup>، رویا کرمان<sup>۲</sup> و جلال سلطانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، لرستان، دانشگاه لرستان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

<sup>۳</sup> ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه حفاظت گیاهی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۶



## چکیده

بمنظور بررسی اثرات شوری بر فاکتورهای رشد و محتوای پرولین و اکسین دو رقم تجارتي گندم ديم نان (ميهن و حيدري) در مرحله گياهچه، صفات درصد جوانه زني، طول و وزن تر و خشک قسمت هوایی و ریشه، سطح برگ و محتوای اکسین و پرولین در غیاب و حضور باکتری اندوفیت باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis* POE26) اندازه‌گیری شدند. دانه‌های گندم با باکتری تلقیح شدند، سپس جوانه‌ها در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده در گلدان کاشته و با محلول غذایی هوگلند حاوی ۶ سطح مختلف کلرید سدیم (NaCl) آبیاری شدند. اثر رقم، بتنهایی و باکتری در غلظتهای پایین نمک، بر روی درصد جوانه زنی معنی دار نبود ولی در غلظتهای بالا وجود باکتری باعث افزایش درصد جوانه زنی گردید. شوری بتنهایی باعث افزایش طول ریشه و شوری و باکتری در کنار هم باعث کاهش طول ریشه گردید. ایفای نقش باکتری در تغییر طول ریشه بدون دخالت پرولین بود. در نهایت مشخص شد که تیمار باکتری، بر مراحل رشدی گیاه تحت تنش شوری تأثیرگذار است و افزایش سطح برگ در هر دو رقم مورد مطالعه می‌تواند بدلیل تولید اکسین توسط باکتری باسیلوس سوبتیلیس باشد. در نهایت بر مبنای صفات مورد بررسی، رقم حیدری مقاومتر از رقم میهن بود.

واژه‌های کلیدی: گندم، تنش شوری، باکتری اندوفیت، فاکتور رشد

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۱۰۳۸۷۰، پست الکترونیکی: [esfahani.m@lu.ac.ir](mailto:esfahani.m@lu.ac.ir)

## مقدمه

بیشتر مناطق جهان از جمله ایران مختل می‌کند. علاوه بر این، کمبود آب، گرمایش جهانی و بالا آمدن سطح آب دریاها باعث تشدید شوری خاک‌های کشاورزی شده است بطوریکه سرعت گسترش شوری حدود ۱/۵ میلیون هکتار در هر سال تخمین زده می‌شود (۲۰). بدلیل مقاوم نبودن بسیاری از واریته‌های زراعی موجود در برابر شوری، روش‌های کلاسیک غربال‌گری موفقیت‌های محدودی داشته‌اند و این ژنوتیپ‌های شناسایی شده به منطقه جغرافیایی خاص تعلق دارند و نتوانسته‌اند در مکان‌های

در قرن بیست و یکم، سوء تغذیه یکی از نگرانی‌های عمده جهانی است و بنابراین، برای تغذیه جمعیت دایما در حال رشد، نیاز به کشاورزی پایدار افزایش یافته است. تخمین زده شده است که ۳۶ درصد از جمعیت جهان برای غذا و منبع درآمد به کشاورزی وابسته هستند. بهر حال، کشاورزی عمدتاً تحت تأثیر تغییرات آب و هوایی است که باعث آسیب‌پذیری امنیت غذایی جهانی می‌شود (۱۳). شوری بالای خاک یک نگرانی جهانی مهمی ایجاد کرده است که تولید پایدار محصولات زراعی از جمله گندم و برنج را در

ارتقای رشد گیاه وجود دارد مانند این که چگونه اندوفیت‌ها تنش شوری را در گیاهان بهبود می‌بخشند؟ و یا چه نوع تغییرات فیزیولوژیکی در گیاهان در شرایط شوری رخ می‌دهد؟

در ایران وسعت خاک‌های شور قابل‌توجه و از معضلات جدی کشاورزی است. در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ سطح محصولات زراعی حدود ۱۲ میلیون هکتار بوده که از این مقدار حدود ۵۱/۸ اراضی با کشت آبی و ۴۸/۲ درصد اراضی با کشت دیم بوده است (۱). نزدیک به ۵۰٪ این سطح زیرکشت به درجات مختلف با شوری، قلیایی بودن و غرقابی بودن روبرو هستند. گندم (*Triticum aestivum*) اساسی‌ترین محصول در الگوی غذایی ایرانیان است و جایگاه ویژه‌ای دارد، بگونه‌ای که همواره در سیاستگذاری‌های کشاورزی محور اصلی بوده است. سطح زیرکشت گندم در کشور حدود ۶ میلیون هکتار است که حدود ۲ میلیون هکتار کشت گندم آبی و ۴ میلیون هکتار گندم دیم می‌باشد. گندم دیم با تولید حدود ۵/۵ میلیون تن و سهم ۷۱/۵ درصد از کل میزان تولید محصولات زراعی دیم و گندم آبی که میزان تولید آن حدود ۸/۲ میلیون تن و سهم ۱۰/۹ درصد از کل میزان تولید محصولات زراعی است، سهم قابل توجهی از تولیدات کشاورزی کشور را بخود اختصاص داده‌اند (۱). با توجه به اهمیت بارز گندم در تغذیه انسان، لزوم شناسایی راهکارهایی موثر در بهبود تحمل شرایط تنش شوری ضروری است زیرا ارزش غذایی گیاه علاوه بر کنترل ژنتیکی، تحت تأثیر شرایط محیطی است. در این پژوهش، تأثیر همزیستی یک سویه باکتری باسیلوس سوبیتیلیس (*Bacillus subtilis* POE26) با دو لاین تجارتي گندم نان به نام‌های میهن و حیدری در مرحله گیاهچه‌ای در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت و با بررسی فاکتورهای رشد، محتوی پروتئین و اکسین، میزان تحمل و یا حساسیت این ارقام در مرحله گیاهچه‌ای مطالعه شد.

مختلف تحت شرایط تنش شوری زنده بمانند (۲۳). شوری خاک باعث ایجاد تنش‌های اسمزی و یونی در گیاهان می‌شود که رشد گیاه را مهار می‌کند (۱۶). شناسایی روش‌هایی که موجب تخفیف اثر تنش شوری شده و تا حد ممکن از افت عملکرد گیاهان جلوگیری نمایند، می‌تواند یکی از روش‌های مقابله با این معضل باشد (۲۱). با توجه به پرهزینه بودن تکنیک‌های مهندسی ژنتیک، استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید برای افزایش تحمل به شوری در گیاهان، یک رویکرد جایگزین امکان‌پذیر برای بازیابی زمین‌های مستعد شوری است (۱۱). میکروارگانیسم‌های ساکن در خاک بطور قابل توجهی به ارتقای رشد گیاه و تحمل به شوری کمک می‌کنند. این میکروب‌ها روابط خاک-آب-گیاه را تقویت می‌کنند، سیگنال‌های هورمونی گیاهی را دستکاری می‌کنند و چندین مکانیسم دیگر را فعال می‌کنند که بصورت یکپارچه برای افزایش تحمل به نمک و تنش خشکی در گیاهان کار می‌کنند (۱۴ و ۱۵). اندوفیت‌های باکتریایی در بافت‌های زنده گیاهی ساکنند، بدون آن‌که به گیاه صدمه ای بزنند. آنها قادرند همزیستی داخلی با گیاه برقرار نموده و برای گیاه یک محیط سودمند اکولوژیکی را ایجاد کنند که بواسطه آن نسبت به تنش‌های محیطی متحمل شده و یا سبب بهبود و افزایش رشد گیاه شوند (۱۹ و ۲۹). یکی از راسته‌های باکتری‌های اندوفیت، راسته Bacillals است که وجود سویه‌های دیگری از جنس *Bacillus* از این راسته، بعنوان باکتری اندوفیت در گیاهان دیگری بجز گندم نیز گزارش شده است (۱۷). Robinson و همکاران (۲۰۱۶) باکتری‌های اندوفیت گیاه گندم را مطالعه و وجود جنس *Bacillus* را در بین باکتری‌های همزیست با گندم گزارش کردند (۲۸). Lastochkina و همکاران (۲۰۱۷) خصوصیات مربوط به برخی اثرات سویه دیگری از *Bacillus subtilis* از این راسته از جمله تأثیر مثبتی که بر روی تنش خشکی طی همزیستی با ریشه‌های ارقام دیگری گندم دارند را گزارش کرده‌اند (۱۸). بهر حال، سوالات بزرگی در درک مکانیسم‌های میکروبی برای

## مواد و روشها

این آزمایش بمنظور بررسی اثرات تنش شوری در حضور و عدم حضور باکتری اندوفیت *B. subtilis* POE26 (۳۰) بر درصد جوانه‌زنی، وزن تر ریشه، وزن تر قسمت هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک قسمت هوایی، سطح برگ و میزان اکسین و پرولین در مرحله گیاهچه‌ای گندم در پاییز ۱۳۹۷ در دانشکده علوم دانشگاه بوعلی سینا انجام گردید. رقم تجارتمی گندم دیم نان بنام‌های میهن و حیدری از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی همدان تهیه شده و در ۶ سطح شوری شامل صفر (محلول هوکلند پایه بعنوان شاهد)، ۱۵، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار سدیم بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. هر گلدان با قطر ۱۱ سانتی‌متر و حاوی ماسه شسته شده و استریل بود. شرایط دمایی اتاق رشد بصورت  $20 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۶۰۰۰ لوکس و بمدت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تنظیم شد. گلدان‌ها با غلظت‌های شوری مربوطه آبیاری شدند و هدایت الکتریکی (EC) آب زهکش آنها بوسیله EC متر دیجیتالی کنترل گردید. آبیاری گلدان‌ها تا مرحله ۴ برگی ادامه پیدا کرد. تمامی بوته‌ها هر گلدان برداشت شده و ریشه و برگ هر یک از آنها جدا شدند. باکتری اندوفیت باسیلوس سوبتیلیس *Bacillus subtilis* POE26 در مطالعات پیشین از بافت‌های شاخه گیاه *Thuja orientalis* (Cupressaceae) جداسازی شده بود (۳۰).

باکتری‌ها در محیط کشت نوترینت براث (NB) کشت داده شدند تا به غلظت حدود  $10^8$  CFU برسند. جذب محیط کشت مایع تلقیح شده در طول موج ۶۵۰ nm در برابر محیط کشت تلقیح نشده، خوانده شد. چگالی نوری مورد قبول بین ۰/۱ تا ۰/۱۲ می‌باشد. سپس بذره‌های جوانه‌زده در محیط استریل به محیط کشت مایع تلقیح شده منتقل و

بمدت یک ساعت در شیکر با دور ۴۰-۵۰rpm مخلوط شدند (۳۱).

سطح برگ چند گیاه از هرگلدان با خطکش و کاغذ میلیمتری اندازه‌گیری و میانگین آنها، بعنوان اندازه سطح برگ هرگیاه در نظر گرفته شد. طول ریشه چند گیاه از هرگلدان با خطکش و کاغذ میلیمتری اندازه‌گیری و میانگین آنها اندازه طول ریشه هرگیاه در نظر گرفته شد. وزن تر برگ و ریشه چند گیاه از هرگلدان با ترازوی دیجیتالی با دقت یک ده هزارم گرم اندازه‌گیری شد. سپس گیاه قطعه قطعه شده و بمدت یک شب در آب مقطر دیونیزه در یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. دوباره وزن آنها اندازه‌گیری و میانگین آنها بعنوان وزن هیدراته Hydrated Weight (HW) ثبت گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک، برگ و ریشه هر تک بوته جداگانه بمدت ۷۲ ساعت در آن ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه بوسیله ترازوی دیجیتالی با دقت یک ده هزارم گرم تعیین شد.

سنجش پرولین گیاه بروش Bates و همکاران انجام گرفت (۱۰). ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳٪ اسید سولفوسالیسیلیک سائیده شد. از مخلوط همگن حاصل پس از سانتریفوژ در ۳۰۰۰ دور در دقیقه، ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر معرف اسیدی نین-هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص در بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد بمدت یک ساعت قرار داده شد. سپس آنها را در حمام آب یخ گذاشته و پس از اضافه نمودن ۴ میلی‌لیتر تولوئن، ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شدند، سپس مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر Photonix مدل Ar2017 خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن بدست آمد.

ارزیابی این سویه باکتری از نظر توان تولید هورمون اکسین ایندول استیک اسید (IAA) با روش پیشنهادی Bric و

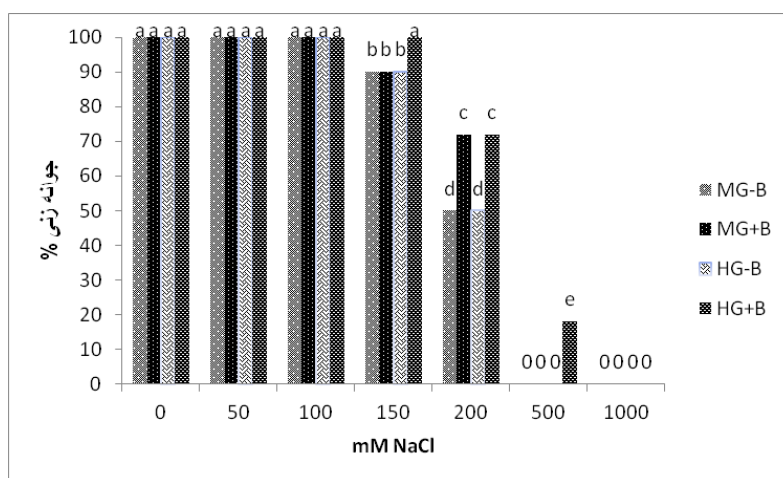
## آنالیز آماری

آنالیز آماری توسط نرم افزار SPSS ver.18 انجام گردید. مقادیر، میانگین سه تکرار می‌باشند. مقایسه میانگین‌ها بر اساس نتایج آزمون چنددامنه‌ای دانکن و در سطح  $P<0.05$  و  $P<0.01$  می‌باشند.

## نتایج

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های مربوط به ارزیابی درصد و سرعت جوانه‌زنی (شکل ۱) نشان داد که تاثیر غلظت شوری بر جوانه زنی در هر دو رقم معنادار بود و از غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار به بالا جوانه‌زنی کاهش یافت و در غلظت ۱ مولار به صفر رسید. در غلظت‌های پایین شوری، تیمار با باکتری تاثیر معناداری بر جوانه زنی نداشت اما در غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌مولار به بالا تیمار با باکتری باعث افزایش جوانه زنی شد.

همکاران انجام شد (۱۲). ابتدا باکتری‌ها بمدت ۴۸ ساعت در محیط کشت مولر هیتون کشت داده شدند. مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان اضافه و پس از ۲۴ ساعت، سوسپانسیون خالص باکتری بمدت ۱۰ دقیقه در  $g$  ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی بنسبت ۱ به ۲ با معرف سالکوفسکی (۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵/۷ میلی‌لیتر  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  نیم مولار) مخلوط گردید. پس از ۲۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق با استفاده از اسپکتروفتومتر Photonix مدل Ar2017، مقدار جذب نور در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید (۲۵). مقدار تولید هورمون IAA با مقایسه جذب آن با جذب نمودار استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.



شکل ۱ - تاثیر تیمارهای شوری و باکتری *Bacillus subtilis* POE26 بر درصد جوانه‌زنی گیاهچه گندم رقم‌های میهن و حیدری تحت تنش شوری (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌مولار). مقادیر، میانگین ۱۰ تکرار می‌باشند. غلظت ۰ بعنوان شاهد در نظر گرفته شده است. برای هر رقم جداگانه، اختلاف درصدها با حروف غیرمشترک در هر ستون، بیانگر تفاوت معنادار آماری ( $P<0.05$ ) بر اساس نتایج آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد. (رقم میهن بدون باکتری: MG-B، رقم میهن با باکتری: MG+B، رقم حیدری بدون باکتری: HG-B، رقم حیدری با باکتری: HG+B)

(HG+B)

افزایش غلظت نمک، طول بخش هوایی و سطح برگ کاهش یافت و این کاهش در حضور باکتری شدیدتر بود.

در رقم میهن تاثیر غلظت بر همه فاکتورهای رشد بتنهایی معنی دار می‌باشد. در این رقم و در غیاب باکتری با

پرویلین در حضور و عدم حضور باکتری افزایش یافت که این افزایش در حضور باکتری کمتر بود. مقدار اکسین در این رقم تحت اثر شوری تا غلظت ۳۰ میلی‌مولار افزایش و پس از آن کاهش یافت (جدول ۱).

در این رقم و در غیاب و حضور باکتری با افزایش غلظت نمک، طول ریشه افزایش یافت. وزن تر و خشک گیاهچه‌ها نیز تا غلظت ۳۰ میلی‌مولار افزایش و سپس کاهش یافت که این کاهش در حضور باکتری خفیف‌تر بود. مقدار

جدول ۱- تاثیر تیمارهای شوری و باکتری *Bacillus subtilis* POE26 بر فاکتورهای رشد و محتوای پرویلین و اکسین گیاهچه گندم رقم میهن تحت تنش شوری (۰، ۱۵، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE می‌باشند. درصد تغییرات نسبت به غلظت ۰ (بعنوان شاهد) در پراتنه درج شده است. برای هر صفت جداگانه، اختلاف میانگین‌ها با حروف غیرمشترک در هر ستون، بیانگر تفاوت معنادار آماری (P<0.05) بر اساس نتایج آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

میهن							
اکسین (ng/g FW)	پرویلین (mg/g FW)	وزن خشک (g)	وزن تر (g)	سطح برگ (mm <sup>2</sup> )	طول ریشه (mm)	طول بخش هوایی (mm)	سطوح شوری (mmol)
۲۶۵±۹ <sup>cd</sup>	۱/۱۲±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۲۱±۰/۰۳ <sup>cd</sup>	۰/۹۴±۰/۰۴ <sup>d</sup>	۱۱۲±۱/۲ <sup>e</sup>	۶۴±۳/۲ <sup>a</sup>	۳۷۲±۲/۵ <sup>e</sup>	۰ (شاهد)
۲۷۴±۹ <sup>d</sup>	۱/۳±۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۰/۲۵±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۱/۵۴±۰/۰۴ <sup>e</sup>	۱۲۵±۲/۵ <sup>f</sup>	۱۰۵±۵ <sup>e</sup>	۳۲۳±۳ <sup>d</sup>	۱۵
(+/-۳)	(+/-۱۶)	(+/-۱۴)	(+/-۱۵)	(/-۱۱)	(+/-۶۴)	(-/-۱۳)	
۲۸۱±۱۱ <sup>d</sup>	۱/۴±۰/۰۵ <sup>bcd</sup>	۰/۳±۰/۰۲ <sup>f</sup>	۱/۲۱±۰/۰۴ <sup>f</sup>	۱۴۰±۱/۵ <sup>g</sup>	۱۱۳±۳/۶ <sup>f</sup>	۲۹۸±۲۰ <sup>c</sup>	۳۰
(+/-۶)	(+/-۲۵)	(+/-۳۶)	(+/-۲۹)	(-/-۲۵)	(+/-۷۶)	(-/-۲۰)	
۲۴۹±۱۴ <sup>c</sup>	۱/۵±۰/۰۸ <sup>de</sup>	۰/۱۱±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۵۹±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱۵۲±۱/۵ <sup>h</sup>	۱۲۳±۲/۶ <sup>g</sup>	۳۱۹±۱/۵ <sup>d</sup>	۵۰ بدون باکتری
(-/-۶)	(+/-۳۴)	(-/-۵۰)	(-/-۳۶)	(-/-۳۵)	(+/-۹۲)	(-/-۱۴)	
۱۸۵±۱۱ <sup>a</sup>	۱/۷±۰/۰۷ <sup>fg</sup>	۰/۱۶±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۷۵±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۱۱۵±۲ <sup>e</sup>	۱۳۸±۱/۵ <sup>h</sup>	۳۸۰±۱/۵ <sup>e</sup>	۱۰۰
(-/-۳۰)	(+/-۵۲)	(-/-۲۷)	(-/-۲۰)	(-/-۳)	(+/-۱۱۶)	(+/-۲)	
۱۸۵±۱۵ <sup>a</sup>	۱/۹±۰/۱۱ <sup>g</sup>	۰/۱±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۵۲±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۹۹±۱/۷ <sup>d</sup>	۱۲۴±۳/۲ <sup>g</sup>	۳۰۱±۱/۵ <sup>c</sup>	۱۵۰
(-/-۳۰)	(+/-۷۰)	(-/-۵۵)	(-/-۴۴)	(-/-۱۱)	(+/-۹۴)	(-/-۱۹)	
۳۰۶±۱۱ <sup>e</sup>	۱/۳±۰/۰۹ <sup>ab</sup>	۰/۲۴±۰/۰۱ <sup>de</sup>	۰/۵±۰/۰۳ <sup>f</sup>	۱۱۴±۰/۶ <sup>e</sup>	۹۱±۲ <sup>c</sup>	۲۴۱±۱/۵ <sup>a</sup>	۰
(+/-۱۵)	(+/-۱۶)	(+/-۹)	(-/-۶۴)	(/-۲)	(+/-۴۲)	(-/-۳۵)	
۳۰۹±۱۱ <sup>e</sup>	۱/۳±۰/۰۸ <sup>abc</sup>	۰/۳±۰/۰۲ <sup>f</sup>	۱/۵±۰/۰۴ <sup>g</sup>	۱۱۴±۱/۷ <sup>e</sup>	۱۶۲±۲/۵ <sup>i</sup>	۲۳۰±۱/۵ <sup>a</sup>	۱۵
(+/-۱۷)	(+/-۱۶)	(+/-۳۶)	(+/-۶۴)	(+/-۲)	(+/-۱۵۳)	(-/-۳۸)	
۳۲۱±۱۲ <sup>e</sup>	۱/۳±۰/۰۷ <sup>abc</sup>	۰/۱۸±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۹۳±۰/۰۲ <sup>d</sup>	۹۳±۴ <sup>c</sup>	۹۸±۲/۵ <sup>d</sup>	۲۳۱±۲/۵ <sup>a</sup>	۳۰
(+/-۲۱)	(+/-۱۶)	(-/-۱۸)	(-/-۱)	(-/-۱۷)	(+/-۵۳)	(-/-۳۸)	با
۲۸۳±۶ <sup>d</sup>	۱/۳±۰/۱ <sup>abc</sup>	۰/۱۹±۰/۰۲ <sup>bc</sup>	۰/۸۷±۰/۰۶ <sup>d</sup>	۷۷±۲/۶ <sup>b</sup>	۱۱۵±۲ <sup>f</sup>	۲۶۲±۴/۹ <sup>b</sup>	۵۰ باکتری
(+/-۷)	(+/-۱۶)	(-/-۵)	(-/-۷)	(-/-۳۱)	(+/-۸۱)	(-/-۳۰)	
۲۱۹±۱۰ <sup>b</sup>	۱/۵±۰/۰۹ <sup>cd</sup>	۰/۲۲±۰/۰۳ <sup>de</sup>	۱/۰۲±۰/۰۵ <sup>e</sup>	۷۱±۲/۶ <sup>a</sup>	۱۸۴±۵/۳ <sup>j</sup>	۳۲۱±۳ <sup>d</sup>	۱۰۰
(-/-۱۷)	(+/-۳۴)	(-/-۱۴)	(-/-۹)	(-/-۳۶)	(+/-۱۸۷)	(-/-۱۴)	
۲۰۷±۱۳ <sup>b</sup>	۱/۶±۰/۱۱ <sup>ef</sup>	۰/۱±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۵۱±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۶۹±۱ <sup>a</sup>	۸۱±۱/۵ <sup>b</sup>	۳۳۰±۳/۵ <sup>d</sup>	۱۵۰
(-/-۲۲)	(+/-۴۳)	(-/-۵۵)	(-/-۴۵)	(-/-۳۸)	(+/-۲۷)	(-/-۱۱)	

جدول ۲- همبستگی پیرسون میان صفات مورد بررسی در گیاهچه گندم رقم میهن تحت تنش شوری و باکتری *Bacillus subtilis* POE26. \* و \*\*: بترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

صفات مورد بررسی	طول هوایی	طول ریشه	سطح برگ	وزن تر	وزن خشک	پرویلین
طول هوایی						
طول ریشه	-۰/۱ <sup>ns</sup>					
سطح برگ	۰/۱۱ <sup>ns</sup>	-۰/۰۹ <sup>ns</sup>				
وزن تر	-۰/۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۴۰*	۰/۱۶ <sup>ns</sup>			
وزن خشک	-۰/۳۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۹ <sup>ns</sup>	۰/۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۷۸**		
پرویلین	۰/۳۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۶ <sup>ns</sup>	-۰/۱۲ <sup>ns</sup>	-۰/۴۴**	-۰/۶۳**	
اکسین	-۰/۷۱**	-۰/۲۱ <sup>ns</sup>	۰/۲۲ <sup>ns</sup>	۰/۴۷**	۰/۶۱**	-۰/۷۵**

آن متحمل کاهش شد. وزن تر و خشک گیاهچه‌ها نیز تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش و سپس کاهش یافت که این کاهش در حضور باکتری خفیف‌تر بود. همانند رقم میهن مقدار پرویلین در حضور و عدم حضور باکتری افزایش یافت که این افزایش در حضور باکتری کمتر بود. مقدار اکسین در این رقم تحت اثر شوری تا غلظت ۳۰ میلی‌مولار افزایش و پس از آن کاهش یافت (جدول ۳).

در رقم حیدری نیز تاثیر غلظت بر همه فاکتورهای رشد بتنهایی معنی‌دار می‌باشد. در این رقم بر خلاف رقم میهن و در غیاب باکتری با افزایش غلظت نمک، طول بخش هوایی افزایش یافت و حضور باکتری از شدت این افزایش کاست. در این رقم همانند رقم میهن و در غیاب و حضور باکتری با افزایش غلظت نمک، طول ریشه افزایش یافت و این افزایش در غیاب باکتری شدیدتر بود. با افزایش شوری تا سقف ۳۰ میلی‌مولار سطح برگ افزایش داشت و پس از

جدول ۳- تاثیر تیمارهای شوری و باکتری *Bacillus subtilis* POE26 بر فاکتورهای رشد و محتوای پرویلین و اکسین گیاهچه گندم رقم حیدری تحت تنش شوری (۰، ۱۵، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE می‌باشند. درصد تغییرات نسبت به غلظت ۰ (بعنوان شاهد) در پراتنز درج شده است. برای هر صفت جداگانه، اختلاف میانگین‌ها با حروف غیرمشترک در هر ستون، بیانگر تفاوت معنادار آماری ( $P < 0.05$ ) بر اساس نتایج آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

حیدری							
اکسین	پرویلین	وزن خشک	وزن تر	سطح برگ	طول ریشه	طول بخش هوایی	سطوح شوری
(ng/g FW)	(mg/g FW)	(g)	(g)	(mm <sup>2</sup> )	(mm)	(mm)	(mmol)
۲۹۲±۸ <sup>ab</sup>	۱/۲۱±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۱۴±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۷۳±۰/۰۳ <sup>d</sup>	۱۳۱±۲۰ <sup>fg</sup>	۶۲±۳ <sup>a</sup>	۳۵۳±۳ <sup>b</sup>	۰ (شاهد)
۳۱۴±۵ <sup>bc</sup>	۱/۲۶±۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۰/۲۵±۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۱/۲۱±۰/۰۴ <sup>f</sup>	۱۴۱±۲ <sup>g</sup>	۱۰۳±۶ <sup>d</sup>	۴۴۰±۱/۵ <sup>i</sup>	۱۵
(+/-۷)	(+/-۴)	(+/-۷۸)	(+/-۶۶)	(/۸)	(+/-۶۶)	(/۲۴)	
۳۱۴±۹ <sup>bc</sup>	۱/۳۹±۰/۰۴ <sup>bc</sup>	۰/۳۱±۰/۰۱ <sup>d</sup>	۱/۵۱±۰/۰۳ <sup>g</sup>	۱۲۰±۲ <sup>def</sup>	۱۱۴±۴ <sup>f</sup>	۴۳۱±۲/۶ <sup>h</sup>	۳۰ بدون باکتری
(+/-۸)	(+/-۱۵)	(+/-۱۲۱)	(+/-۱۰۷)	(-/۸)	(+/-۸۴)	(/۲۲)	
۲۸۲±۱۱ <sup>ab</sup>	۱/۴۴±۰/۱۰ <sup>c</sup>	۰/۲۵±۰/۰۱ <sup>acd</sup>	۱/۲۰±۰/۰۴ <sup>f</sup>	۱۶۶±۲ <sup>h</sup>	۱۳۲±۳ <sup>h</sup>	۴۳۱±۱/۵ <sup>h</sup>	۵۰
(-/-۴)	(+/-۱۹)	(/۷۹)	(/۶۴)	(/۲۷)	(+/-۱۱۳)	(/۲۲)	
۲۷۰±۱ <sup>a</sup>	۱/۷±۰/۰۷ <sup>d</sup>	۰/۱۴±۰/۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۶۹±۰/۰۶ <sup>cd</sup>	۱۲۳±۳ <sup>ef</sup>	۱۴۴±۴ <sup>i</sup>	۴۰۵±۱۳ <sup>f</sup>	۱۰۰

۱۵۰	(+/-۱۴)	(+/-۱۳۲)	(-/-۶)	(-/-۴)	(/۰)	(+/-۴۰)	(-/-۸)
۳۷۱±۱/۵ <sup>d</sup>	۱۳۲±۳ <sup>h</sup>	۴۹±۳ <sup>a</sup>	۰/۵۳±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۱۱±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۱/۸۳±۰/۰۸ <sup>e</sup>	۲۷۰±۱۴ <sup>a</sup>	
(/۵)	(+/-۱۱۳)	(-/-۶۳)	(-/-۲۹)	(-/-۲۱)	(+/-۵۱)	(-/-۹)	
۰	۳۱۱±۳/۲ <sup>a</sup>	۹۶±۱۲ <sup>c</sup>	۰/۵±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۱/۲۴±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۳۲۲±۱۱ <sup>bc</sup>	
۱۵	۳۵۲±۳/۲ <sup>b</sup>	۲۱۰±۳ <sup>j</sup>	۱/۶۱±۰/۰۴ <sup>h</sup>	۰/۲۴±۰/۰۱۶ <sup>cd</sup>	۱/۳±۰/۰۹ <sup>abc</sup>	۳۳۶±۹ <sup>c</sup>	
۳۰	۳۶۹±۴ <sup>d</sup>	۱۰۸±۸ <sup>cd</sup>	۰/۶۶±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۰/۱۴±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۱/۳۲±۰/۰۸ <sup>abc</sup>	۳۱۸±۶۴ <sup>bc</sup>	
۵۰	۴۲۳±۳/۱ <sup>g</sup>	۱۹۰±۴ <sup>i</sup>	۰/۸۲±۰/۰۲ <sup>e</sup>	۰/۱۶±۰/۰۲ <sup>bc</sup>	۱/۲۸±۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۳۰۱±۴ <sup>abc</sup>	با باکتری
۱۰۰	۳۶۱±۱/۵ <sup>c</sup>	۱۱۱±۲ <sup>ef</sup>	۰/۳۲±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۰۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۴۴±۰/۱۰ <sup>c</sup>	۲۸۷±۱۰ <sup>ab</sup>	
۱۵۰	۳۸۳±۳/۶ <sup>e</sup>	۷۶±۴ <sup>b</sup>	۰/۲۸±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۵۰±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۶۳±۰/۱۱ <sup>d</sup>	۲۸۶±۱۵ <sup>ab</sup>	
	(/۸/۵)	(+/-۳۴)	(-/-۴۲)	(-/-۶۲)	(+/-۳۴)	(-/-۳)	

جدول ۴- همبستگی پیرسون میان صفات مورد بررسی در گیاهچه گندم رقم حیدری تحت تنش شوری و باکتری *Bacillus subtilis* POE26. \* و \*\*: بترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

صفات مورد بررسی	طول هوایی	طول ریشه	سطح برگ	وزن تر	وزن خشک	پرویلین
طول هوایی						
طول ریشه	۰/۴۵**					
سطح برگ	۰/۲۹ <sup>ns</sup>	۰/۱۷ <sup>ns</sup>				
وزن تر	۰/۴۵**	۰/۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۶۷**			
وزن خشک	۰/۵۴**	۰/۲۹ <sup>ns</sup>	۰/۵۲**	۰/۸۶**		
پرویلین	۰/۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۵۱**	-۰/۵۳**	-۰/۳۴*	-۰/۲۳ <sup>ns</sup>	
اکسین	-۰/۱۵ <sup>ns</sup>	-۰/۲۵ <sup>ns</sup>	۰/۳۷*	۰/۴۱*	۰/۳۰ <sup>ns</sup>	-۰/۴۷**

جدول ۵- نسبت ریشه به بخش هوایی تحت تاثیر تیمارهای شوری (۰، ۱۵، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و باکتری *Bacillus subtilis* POE26 در گیاهچه گندم رقم‌های میهن و حیدری. برای هر رقم جداگانه، اختلاف میانگین‌ها با حروف غیرمشترک در هر دو ستون، بیانگر تفاوت معنادار آماری ( $P < 0.05$ ) بر اساس نتایج آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

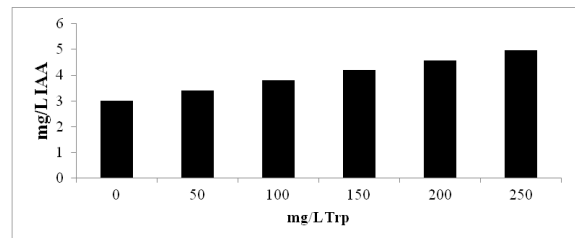
سطوح شوری (mmol)	رقم میهن		رقم حیدری	
	بدون باکتری	با باکتری	بدون باکتری	با باکتری
۰	۰/۱۷ <sup>a</sup>	۰/۳۸ <sup>e</sup>	۰/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۲۳ <sup>c</sup>
۱۵	۰/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۷۰ <sup>i</sup>	۰/۲۹ <sup>e</sup>	۰/۳۵ <sup>g</sup>
۳۰	۰/۳۸ <sup>e</sup>	۰/۴۲ <sup>f</sup>	۰/۳۱ <sup>f</sup>	۰/۲۹ <sup>e</sup>
۵۰	۰/۳۹ <sup>e</sup>	۰/۴۴ <sup>g</sup>	۰/۳۱ <sup>f</sup>	۰/۲۵ <sup>d</sup>
۱۰۰	۰/۳۶ <sup>d</sup>	۰/۵۷ <sup>h</sup>	۰/۴۰ <sup>h</sup>	۰/۳۱ <sup>f</sup>
۱۵۰	۰/۴۱ <sup>f</sup>	۰/۲۵ <sup>b</sup>	۰/۳۴ <sup>g</sup>	۰/۲۱ <sup>b</sup>

شوری‌های بالا عامل محدودکننده، تنش شوری بوده که با ایجات اثرات اسمزی و سمیت یونی رشد دانه‌رست را مختل می‌سازد (۲). در هر دو رقم در غلظت ۲۰۰ میلی-مولار، تیمار با باکتری باعث افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی بذرها شد. تاثیر مثبت باکتری‌های تولیدکننده فیتوهورمون‌هایی مانند ایندول استیک اسید، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها بر جوانه‌زنی، در مطالعات پیشین مورد تایید قرار گرفته بودند (۱۷). جوانه‌زنی در غلظت بالاتر متوقف شده بود که نشان داد این دو رقم گندم در خاکهای شور با غلظت بیش از ۲۰۰ میلی‌مولار قادر به جوانه زنی نیستند.

تغییر طول بخش هوایی با تغییر سطح شوری در هر دو رقم گندم با یکدیگر اختلاف معنی دار دارد. عموماً تیمار شوری باعث کاهش بخش هوایی در گیاه می‌شود که می‌تواند بشکل کاهش رشد و ریزش برگ‌ها بواسطه افزایش تولید اتیلن باشد. این یک مکانیسم دفاعی با هدف جلوگیری از تعرق و از دست دادن آب می‌باشد (۹). شوری در رقم میهن بر روی طول بخش هوایی تاثیر منفی دارد اما در رقم حیدری با افزایش غلظت نمک، رشد بخش هوایی افزایش یافته است. در تیمار باکتری با افزایش غلظت نمک، رشد بخش هوایی کاهش یافته است.

ریشه اندامی است که وظیفه جذب آب و املاح معدنی را بعهده دارد و تنش شوری بیشتر از ناحیه ریشه به گیاه وارد می‌شود زیرا که نخستین بخشی از گیاه که با شوری مواجه می‌گردد، ریشه‌ها هستند (۳). اثر غلظت بتنهایی بر طول ریشه در هر دو رقم معنی دار بود یعنی طول ریشه با افزایش سطح شوری در هر دو رقم گندم نسبت به شاهد افزایش یافت ولی از این لحاظ بین دو رقم تفاوتی وجود ندارد. این امر می‌تواند بدلیل تمایل ریشه گیاه به فرار از ناحیه شور در بستر و ورود به نواحی با شوری کمتر باشد. در رقم میهن تیمار با باکتری باعث افزایش طول ریشه شده است. در رقم حیدری نیز تیمار با باکتری باعث افزایش طول ریشه نسبت به شاهد شد اما

نتایج مشخص کرد که در گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری با افزایش سطح شوری (در نبود باکتری) محتوای اکسین تا غلظت ۵۰ میلی‌مولار نسبتاً ثابت بوده و پس از آن بشکل معنی‌داری کاهش می‌یابد. محتوای اکسین در رقم حیدری نسبت به میهن به طرز معنی‌داری بیشتر بود. تیمار با باکتری بطرز معنی‌داری محتوای اکسین را بالا برد. نتایج نشان حاصل از سنجش تولید هورمون اکسین توسط باکتری در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج مشخص کرد که در باکتری با افزایش سطح تریپتوفان، محتوای اکسین بشکل معنی‌داری افزایش می‌یابد.



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های تریپتوفان بر محتوای اکسین محیط کشت باکتری *Bacillus subtilis* POE26 مقادیر میانگین سه تکرار می‌باشند. اختلاف میانگین‌ها با حروف غیرمشترک در هر ستون، بیانگر تفاوت معنادار آماری ( $P < 0.05$ ) بر اساس نتایج آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

شوری یکی از استرس‌های شدید است که از دو جنبه بر گیاه تاثیر منفی می‌گذارد: درگام نخست ریشه با آن مواجه شده و در کوتاه مدت باعث استرس اسمتیک و کاهش دسترسی به آب می‌گردد. در گام بعدی و در درازمدت باعث سمیت یونی و برهم خوردن توازن ریزمغزی‌ها در سیتوسول می‌شود (۹). شوری مانع اصلی برای تولید مثل گیاهان در مرحله‌ی جوانه‌زنی محسوب می‌شود (۴) در شوری‌های پایین عامل محدودکننده رشد، کمبود عناصر ضروری لازم برای رشد دانه‌رست می‌باشد، در حالی که در

این افزایش نسبت به عدم حضور باکتری، کمتر بود. آنالیز ضریب همبستگی بین طول ریشه و محتوای اکسین نشان داد که در یک همبستگی ضعیف معکوس بین این دو عامل وجود دارد یعنی با افزایش غلظت اکسین، طول ریشه کاهش می‌یابد. در هر دو رقم حضور باکتری باعث کاهش شدیدتر طول ریشه نسبت به شاهد و حالت عدم حضور باکتری می‌گردد که با توجه به این که باکتری مورد بررسی، تولیدکننده اکسین است، این کاهش را می‌توان به افزایش سطح اکسین باکتریایی در ریشه نسبت داد.

یک شاخص مهم برای ارزیابی تاثیر تنش بر گیاه، تغییر نسبت ریشه به بخش هوایی می‌باشد. با افزایش شوری در هر دو رقم و در غیاب باکتری، نسبت ریشه به بخش هوایی افزایش یافت (جدول ۵) که با مطالعات Acosta-Motos و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت داشت که این کاهش را هم در گیاهان حساس و هم مقاوم گزارش کرده بودند (۹). این افزایش نسبت ریشه به بخش هوایی یک مکانیسم مقاومت و بقاء است و گیاه با افزایش این نسبت، یون‌های سمی را در ناحیه ریشه مهار می‌کند تا از انتقال آنها به بخش هوایی جلوگیری کند (۹).

با افزایش سطح تنش شوری، محتوای پرولین آزاد نمونه‌ها افزایش معنی‌دار یافت. کاربرد باکتری، بتنهایی موجب افزایش معنی‌دار پرولین در تیمار باکتری در هر دو رقم گیاهچه‌های گندم نسبت به گروه شاهد شد. بین دو رقم اختلاف معناداری از نظر مقدار پرولین دیده نشد. در حضور هر دو عامل شوری و باکتری و در هر دو رقم، تیمار با باکتری باعث کاهش محتوای پرولین نسبت به غلظت-های مشابه در غیاب باکتری گردید. آنالیز ضریب همبستگی بین محتوای پرولین آزاد و فاکتورهای رشد دیگر نشان داد که در رقم میهن بین طول ریشه و بخش هوایی با محتوای پرولین همبستگی قوی ( $r < 0.7$ ) وجود ندارد اما در رقم حیدری بین پرولین و طول ریشه همبستگی وجود دارد. با توجه به تاثیر مثبت تیمار باکتری

در افزایش طول ریشه و همبستگی بین مقدار پرولین و طول ریشه در رقم حیدری و عدم وجود همبستگی در رقم میهن برغم افزایش طول ریشه، می‌توان نتیجه گرفت که ایفای نقش باکتری در تغییر طول ریشه بدون دخالت پرولین باشد. البته Poustini و همکاران (۲۰۰۷) نیز با مطالعه گندم گزارش نمودند که همبستگی معنی‌داری میان تجمع پرولین برگ و تحمل به تنش شوری در ارقام گندم دیده نشد (۲۶). در هر دو رقم بین محتوای پرولین و وزن تر و خشک گیاه یک همبستگی معکوس وجود دارد. گیاهان برای ساختن مواد آلی (مانند پرولین) انرژی زیادی صرف می‌کنند که با صرف انرژی زیاد جهت تنظیم اسمزی برای مقابله با شوری باعث کاهش کارایی ریشه در تامین عناصر غذایی و آب برای سایر اندام‌ها می‌شود و رشد اندام‌های هوایی کاهش یافته و در نتیجه تنش شوری باعث کاهش اندام‌زائی و تولید ماده خشک شده و در نهایت کاهش انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به محور جنینی را بدنبال داشته و در نتیجه کاهش وزن ریشه و وزن ساقه را منجر شود (۶).

در هر دو رقم میهن و حیدری با افزایش شوری بترتیب تا ۳۰ و ۵۰ میلی مولار وزن تر افزایش می‌یابد که این افزایش در حیدری بیشتر از میهن است. در غلظت‌های بالاتر کاهش وزن تر را می‌بینیم. تفاوت بین نمونه‌های تیمار دیده با باکتری و تیمار ندیده معنی‌دار است و تاثیر تیمار با باکتری بر روی وزن تر در هر دو رقم معنی‌دار است و رقم میهن نسبت به حیدری حساس‌تر است. در مجموع تیمار با باکتری در هر سطح از تنش شوری باعث حفظ وزن تر گیاهچه‌ها نسبت به گروه کنترل شدند.

Munus و James (۲۰۰۳) با مطالعه واکنش ارقام گندم دوروم به تنش شوری، بررسی وزن خشک بوته را یکی از صفات اصلی قابل بررسی و قابل اطمینان جهت بررسی واکنش گیاهان به تنش شوری بیان نمودند (۲۲). Zhao و همکاران (۲۰۰۷) نیز با بررسی ارقام یولاف گزارش دادند

ریشه با کاهش مواجه شده و نهایتاً رشد اندام هوایی کاهش یافته و از طول و وزن آنها کاسته شده و در نهایت وزن خشک برگ و اندام هوایی با کاهش مواجه می‌شود (۳).

در رقم میهن بین طول ریشه و طول بخش هوایی و سطح برگ همبستگی مشاهده نشد اما در رقم حیدری بین طول ریشه با طول بخش هوایی یک همبستگی متوسط و با سطح برگ یک همبستگی ضعیف دیده شد که این امر می‌تواند نشان دهنده ارتباط بین ریشه (بعنوان اندامی که آب و عناصر غذایی لازم را بسایر اندام‌ها منتقل می‌کند) با اندام هوایی و برگ باشد. یعنی تا زمانی که تنش شوری وجود ندارد این انتقال با موفقیت صورت گرفته و هر گونه افزایش در طول یا وزن ریشه باعث افزایش طول و وزن برگ و اندام هوایی و بیومس کل خواهد شد و بر عکس هر چه گیاه در معرض شوری قرار بگیرد با کاهش بیومس ریشه از وزن سایر قسمت‌ها نیز بدلیل عدم انتقال یا انتقال کم آب و عناصر غذایی از ناحیه ریشه کاسته خواهد شد. این نتایج با نتایج اقبال و نسیم (۲۴) که ضرایب همبستگی بین صفات در مرحله گیاهچه‌ای را معنی‌دار ارزیابی کرده بودند، مطابقت داشت. از طرفی انتقال کربوهیدرات‌های غیرساختمانی از ریشه به اندام هوایی در شرایط شوری نسبت به شرایط طبیعی کمتر است، در نتیجه بیوماس کل تولید شده در اثر تنش شوری کاهش می‌یابد. دلیل دیگر کاهش وزن بیوماس کل می‌تواند ناشی از هزینه انرژی متابولیک مربوط به سازگاری در شرایط تنش، کاهش نرخ فتوسنتز در واحد سطح برگ، کاهش جذب کربن، صدمه به بافت‌ها و رسیدن به حداکثر غلظت نمکی باشد که گیاه آن را تحمل می‌کند. کاهش وزن خشک بیوماس در اثر افزایش سطوح شوری نشان دهنده حساس بودن گندم به تنش شوری در مراحل اولیه رشد و بخصوص در مرحله ۳-۴ برگی می‌باشد (۳).

که تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار وزن بوته در گیاهچه یولاف گردید (۳۲). در هر دو رقم با افزایش شوری تا ۳۰ میلی مولار وزن خشک افزایش می‌یابد که این افزایش در حیدری بیشتر از میهن است. در غلظت‌های بالاتر کاهش وزن خشک را می‌بینیم. این کاهش وزن خشک با نتایج فرهودی (۱۳۹۲) نیز مطابقت داشت (۴). تفاوت بین نمونه‌های تیمار دیده با باکتری و تیمار ندیده معنی‌دار است. در هر دو رقم تیمار باکتری باعث افزایش وزن خشک شد. مستاجران و قاسمی (۱۳۹۷) نیز با تلقیح گیاه گندم نشان دادند که وزن خشک ریشه و بخش هوایی در اثر تلقیح با برخی سویه‌های آزوسپیریلوم افزایش معنی‌داری نشان داد (۷). همانند وزن تر، تغییر وزن خشک با تغییر سطح شوری در هر دو رقم گندم با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارد و رقم میهن نسبت به حیدری حساس‌تر است. در مجموع تیمار با باکتری در هر سطح از تنش شوری باعث افزایش وزن خشک گیاهچه‌ها نسبت به گروه کنترل شدند. این امر می‌تواند به تولید و انباشتگی ترکیباتی مانند اسمولیت‌ها در گیاه جهت مقاومت در برابر تنش شوری باشد (۹).

ممکن است کاهش وزن خشک و تر در غلظت‌های بالای نمک در اثر اختلال در جذب مواد غذایی لازم جهت رشد باشد. این کاهش می‌تواند در نتیجه اثرات منفی تنش شوری روی تولید ریشه‌ها و ساقه‌های کم وزن تر توسط گیاهچه باشد. سمیت یونی، عدم تعادل عناصر غذایی و بهم خوردن تنظیم اسمزی از اثرات تنش شوری است. محیط شور دارای مقدار زیادی از یون‌های مضر مانند منیزیم، کلر، سدیم و سولفات می‌باشد که یا خود آنها مضر هستند یا باعث اختلال در متابولیسم‌های عناصر غذایی دیگر می‌شوند. مثلاً رقابت سدیم با پتاسیم و کلر با نترات باعث اختلال در جذب عناصر غذایی می‌شود. در نتیجه گیاه با صرف انرژی بیشتر برای تولید مواد آلی خود، انرژی لازم برای مقابله با تنش شوری را از دست داده و کارایی

حضور باکتری گردید. مقصودی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که در اثر کاربرد اکسین، شاخص سطح برگ افزایش یافته و در دوام سطح برگ گندم دوروم نیز اثر مثبتی نشان داد (۸). تولید اکسین توسط این باکتری مورد تایید قرار گرفت که با نتایج Lastochkina و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد (۱۸). از این رو می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش سطح برگ در هر دو رقم مورد مطالعه می‌تواند بدلیل تولید اکسین توسط باکتری باسیلوس سوبتیلیس باشد. در نهایت بر مبنای صفات مورد بررسی، رقم حیدری در برابر تنش شوری مقاومتر از رقم میهن بود. با توجه به نقش این باکتری در تحمل شوری گیاه، پیشنهاد می‌شود که در مورد جایگاه استقرار این باکتری در گیاه و سایر تاثیرات آن بر فیزیولوژی و عملکرد اقتصادی رقم های تجاری بومی گندم مطالعات تکمیلی انجام گردد.

#### سیاسگزاری

این پروژه تحقیقاتی در دانشکده‌های علوم پایه دانشگاه‌های بوعلی‌سینا و لرستان انجام شده که بدین‌وسیله از کلیه کسانی که در انجام این پروژه همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

برگ مکان اصلی فتوسنتز در گیاه است و هرگونه آسیب فیزیکی و عملکردی به آن موجب کاهش عملکرد گیاه می‌گردد. کاهش سطح برگ یکی از اولین واکنش‌های گیاهان در برابر تنش شوری می‌باشد. به این دلیل که تجمع ماده خشک و سطح برگ توسط شوری بطور پیوسته کاهش می‌یابد، ممکن است کاهش سطح برگ یکی از دلایل کاهش رشد در اثر شوری باشد. تنش شوری از طریق کاهش تکثیر سلولی و کاهش تجمع ماده خشک باعث کوتاه شدن میانگره‌ها شده و ارتفاع بوته و در نتیجه وزن خشک برگ و اندام هوایی را کاهش می‌دهد. البته بعضی از منابع علت اصلی کاهش وزن برگ را کاهش تعداد پنجه در گلدان و در نتیجه کاهش سطح برگ دانسته‌اند. آنها بیان داشتند که مقداری از تفاوت در تعداد پنجه به تفاوت‌های ژنتیکی ارقام بر می‌گردد (۶). سطح اندام‌های فتوسنتز کننده در اثر تنش شوری بر اثر مرگ تعدادی از برگ‌ها بسیار کاهش می‌یابد و راندمان فتوسنتز برگ‌های باقی مانده نیز زیاد نمی‌باشد. در این تحقیق هم مشاهده شد که در اثر تیمار شوری و در غیاب باکتری سطح برگ کاهش یافت اما تیمار با باکتری باعث افزایش سطح برگ نسبت به عدم

#### منابع

- ۱- احمدی، ک.، عبادزاده، ج.ر.، حاتمی، ف.، عبدشاه، ه.، کاظمیان، آ.، ۱۳۹۹ آمارنامه کشاورزی سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷. وزارت جهادکشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات.
- ۲- بناکار، م.ح.، امیری، ح.، رنجبر، غ.ح.، سرافراز اردکانی، م.ر.، ۱۴۰۰، تعیین آستانه تحمل به شوری توده‌های مختلف شنبلیله (*Trigonella Foenum-graecum L.*) در مرحله جوانه‌زنی با استفاده از مدل‌های تجربی، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۳۴(۴): ۸۹۷-۹۱۱.
- ۳- زادوریان، گ.، خدارحمی، م.، امینی، ا.، مصطفوی، خ.، ۱۳۹۰، بررسی تاثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر
- بیوماس ارقام تجاری گندم نان در مرحله گیاهچه ای. مجله زراعت و اصلاح نباتات ۷(۱): ۸۳-۶۹.
- ۴- عباس‌پور، ن.، مسیبی، م.، محمدخانی، ن.، رحمانی، ف.، ۱۴۰۱، تاثیر شوری بر جوانه‌زنی بذر و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های *Salsola crassa*، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۳۵(۱): ۹۹-۱۱۱.
- ۵- فرهودی، ر. (۱۳۹۲). بررسی اثر تنش شوری بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک نه رقم گندم در مرحله رشد رویشی. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی ۵(۲۰): ۷۱-۸۶.

- ۶- کافی، د. ا.، استوارت، م. ۱۳۸۰. اثرات شوری در رشد و عملکرد نه رقم گندم. مجله علوم و صنایع کشاورزی ۱۲(۱):۱۱۲.
- ۷- مستاجران، ا.، قاسمی، ح. ر. ۱۳۹۷. بررسی اثر همیاری باکتری آزوسپیریلوم برازیلنس (*Azospirillum brasilense* Sp7 and Sp245) بر شاخص‌های رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی دانه رست‌های گندم
- 18- Lastochkina, O., L. Pusenkova, et al. 2017. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 121:80-88
- 19- Liu, H., L. C. Carvalhais, et al. 2017. Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits from Endophytic Bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 8:25-52
- 20- Munns R, Husain S, et al. 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. *Plant Soil*. 247:93-105
- 21- Munns R, James RA, et al. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*. 57:1025-1043
- 22- Munns, R. and R. A. James. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*. 253:201-218.
- 23- Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Rev. Plant Biol. Annu* 59:651-681.
- 24- Naseem, A., M. S. Iqbal, et al. 2001. Comparative Performance of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes under salinity stress II: Ionic composition. *Journal of Biological Science*. 1:43-45 .
- 25- Patten, C. L. and B. R. Glick . 2002. Role of *pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of host plant root system. *Applied Environmental Microbiology* 68:3795-3801.
- ۸- مقصودی، ب.، جعفری حقیقی، ب.، جعفری، ع.، تاثیر کاربرد عناصر ریز مغذی و هورمون اکسین بر عملکرد و اجزاء عملکرد گندم دوروم. "اکوفیزیولوژی گیاهی ۶(۱۶): ۲۶-۱۳.
- 9- Acosta-Motos JR, Ortuño MF, et al. 2017 . Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy* 7(18)
- 10- Bates, L. S., S. Waldren, et al. 1993. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205-207
- 11- Berg, G. 2009 Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl Microbiol Biotechnol* 84:11-18
- 12- Bric JM, Bostock RM, et al. 1999. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose Membrane. *Applied and Environmental Microbiology* 57:535-538.
- 13- Choudhary, D. K., A. K. Sharma, et al. 2017 Volatiles and food security, Springer.
- 14- Dodd, I., C, and F. Perez-Alfocea. 2012. Microbial amelioration of crop salinity stress *J Exp Bot* 63:3415-3428.
- 15- Forni, C., D. Duca, et al. 2017. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant Soil* 410:335-356.
- 16- Hashem, A., E. F. Abd-Allah, et al. 2019. Comparing symbiotic performance and physiological responses of two soybean cultivars to arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. *Saudi J Biol Sci* 26(1):38-48.
- 17- Karthik, M., P. Periyasamy, et al. 2017. Endophytic bacteria associated with banana cultivars and their inoculation effect on plant growth. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 92:1-9

- 26- Poustini, K., A. Siosemardeh, et al. 2007. Proline accumulation as response to salt stress in 30 wheat (*T.aestivum*) cultivars. Genetic Resource Crop Evolution. 54:925-934.
- 27- Rajae S, Reisee F, et al. 2007. Evaluation of the potential of some *Azotobacter chroococcum* isolates from native soils of Chahar Mahal and Bakhtiari in production of plant growth promoting substances. Scientific Journal of Agriculture of Shahid Chamran University. 30:33-47
- 28- Robinson, R. J., B. A. Fraaije, I. M. Clark, R. W. Jackson, P. R. Hirsch & T. H. Mauchline (۲۰۱۶) Endophytic bacterial community composition in wheat (*Triticum aestivum*) is determined by plant tissue type, developmental stage and soil nutrient availability. Plant Soil, 405, pages381–396.
- 29- Soltani, J. 2017. Endophytism in Cupressoideae (Coniferae): A Model in Endophyte Biology and Biotechnology. In: “Endophytes: Biology and Biotechnology”. Pp. 127-143. Edited by Maheshwari D. Sustainable Development and Biodiversity, vol 15. Springer
- 30- Soltani, J., M. Zaheri-Shoja, et al. 2016. Diversity and bioactivity of bacterial endophyte community of Cupressaceae. Forest Pathology 46(4):353-361.
- 31- Xia Y, De Bolt S, Dreyer J, Scott D and Williams MA 2015 Characterization of culturable bacterial endophytes and their capacity to promote plant growth from plants grown using organic or conventional practices. Front. Plant Sci. 6:490 doi: 10.3389/fpls.2015.00490
- 32- Zhao, G. Q., B. L. Ma, et al. 2007. Growth, Gas exchange, chlorophyll fluorescence and ion content of Nakota Oat in response to salinity. Crop Science. 47:123-131

## The effect of endophytic bacteria (*Bacillus subtilis* POE26) on growth factors and proline and auxin contents of two cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress

Pakzad R.<sup>1</sup>, Esfahani M.<sup>1\*</sup>, Karamian R.<sup>2</sup> and Soltani J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Lorestan University, Lorestan, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

<sup>3</sup> Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

### Abstract

In order to investigate the effect of salinity stress on the growth factors, proline and auxin contents of two cultivars of rainfed wheat (*Triticum aestivum* L.), the wheat seeds were pretreated with *Bacillus subtilis* POE26, then the seedlings were planted in pots in controlled laboratory conditions and were irrigated with Hoagland nutrient solution containing 6 different Sodium chloride (NaCl) levels. The plants were harvested at the 4 leaves stage and growth factors and proline and auxin contents were assessed. The results showed a significant difference in the growth of aerial parts between pretreated and non-pretreated plants in different salinity levels. The bacteria increased the germination of seeds only at the high NaCl concentration. Pretreatment of wheat seeds with bacteria increased the auxin content of the plants. The role of bacteria in changing root length was without the involvement of proline. In conclusion, pretreatment of wheat seeds with auxin producing bacteria altered the growth factors, and especially increased the leaf area under salinity stress.

**Key words:** Wheat, Salinity stress, Endophytic bacteria, Growth factors