نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۵، آذر – دی ۱۳۹۹، ص. ۱۰۵۹-۱۰۴۷

Journal of Water and Soil
Vol. 34, No. 5, Nov.-Dec. 2020, p. 1047-1059

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر سویه‌های برتر *باسیلوس* و *استافیلوکوکوس* جداسازی شده از دیم‌زارها بر شاخص‌های کمی و کیفی گندم در شرایط تنش

ابراهیم شیرمحمدی[۱]- حسینعلی علیخانی[۲*]- احمدعلی پوربابائی[۳]- حسن اعتصامی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۰

چکیده

استفاده از پتانسیل باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) در جهت کاهش اثرات تنش‌های کم‌آبی، شوری و کمک به تغذیه بهینه عناصر غذایی (بخصوص فسفر)، راهکاری علمی و سازگار با محیط زیست در جهت افزایش تولید گندم در کشور می‌باشد. پژوهش حاضر به‌صورت گلخانه‌ای با هدف بررسی تأثیر سویه‌های *Bacillus pumilus* W72، *B. safensis* W73 و *Staphylococcus succinus* R12N2 بر تعدادی از صفات کمی و کیفی گندم به‌صورت آزمایش فاکتوریل (سه فاکتوره شامل: ۲ سطح رطوبتی، ۶ سطح کود فسفری و ۴ سطح جدایه باکتری) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طراحی و اجرا شد. نتایج نشان داد که سطح رطوبتی ۸۰ درصد نسبت به ۵۵ درصد ظرفیت زراعی (FC) باعث افزایش ارتفاع، وزن خشک، نسبت ریشه به اندام هوایی، تعداد خوشه بارور، تعداد دانه، وزن هزار دانه، و غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه شد. همچنین کود سوپر فسفات تریپل در هر سطحی نسبت به شاهد باعث بهبود اغلب صفات اندازه‌گیری شده گردید؛ ولی تیمار خاک فسفات به تنهایی (بدون تیمار باکتری) فاقد چنین اثری بود. خاک فسفات همراه با تیمار *S. succinus* R12N2 در هر دو سطح رطوبتی ۵۵ و ۸۰ درصد FC، و نیز *B. pumilus* W72 و *B. safensis* W73 تنها در سطح رطوبتی ۸۰ درصد FC، نسبت به شاهد باعث افزایش غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه شد. در کل برای کشت گندم در شرایط غیر تنش و تنش کم‌آبی، استفاده از تیمار باکتری *S. succinus* R12N2 مناسب به نظر می‌رسد؛ و بررسی کارآیی این سویه در شرایط طبیعی (دیم‌زارهای گندم) توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB)، تنش کم‌آبی، PGPR

مقدمه

گندم به لحاظ راهبردی مهمترین محصول زراعی کشور می‌باشد؛ و نان حاصل از آن اصلی‌ترین منبع غذایی محسوب می‌شود به‌طوری که قسمت عمده کالری و پروتئین مورد نیاز مردم از این طریق بدست می‌آید. برای تأمین غذای مورد نیاز جمعیت در حال رشد کشور، تولید گندم باید افزایش یابد. طبق آمارنامه کشاورزی سال ۱۳۹۷ متوسط عملکرد گندم در شرایط آبی و دیم به ترتیب ۴،۳۴۳ و ۱،۰۳۷ کیلوگرم در هکتار بوده است (۱). با توجه به آمار ذکر شده عملکرد گندم دیم در مقایسه با گندم آبی بسیار پایین است و میانگین کل نیز کمتر از متوسط جهانی تولید گندم آبی/ دیم می‌باشد (۳۹). بنابراین در صورت اعمال مدیریت صحیح و مناسب، افزایش تولید گندم در کشت آبی و دیم امکان‌پذیر است. با توجه به قرارگیری ایران در اقلیم گرم و خشک، یکی از راه‌های دستیابی به تولید بیشتر گندم در دیم‌زارها، افزایش توان تحمل آن به تنش‌های کم‌آبی، شوری و کمبود عناصر ضروری مخصوصاً فسفر است؛ که استفاده از پتانسیل ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR) می‌تواند در این موضوع راه‌گشا باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که PGPR با مکانیسم‌های متعدد باعث کاهش اثرات تنش‌های کم‌آبی، شوری و افزایش مقاومت گیاهان در مقابل این تنش‌ها می‌شوند که در نهایت باعث افزایش تولید محصول می‌گردند. برای مثال: در پژوهشی *Azospirillum brasilense* در شرایط تنش کم‌آبی با مکانیسم تولید ایندول استیک اسید (IAA)

۱- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده آب و خاک، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- استاد گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: halikhan@ut.ac.ir)
۳ و ۴- به‌ترتیب دانشیار و استادیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
DOI: 10.22067/jsw.v34i5.83826

باعث توسعه آوندهای چوب گندم شد و در نتیجه آن وضعیت آب در گیاه بهبود یافت (۲۹). تیموسک و همکاران (۳۷) نیز بیان نمودند که مایه‌کوبی گندم با *Bacillus thuringiensis* در شرایط تنش کم‌آبی باعث افزایش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، افزایش مدت زمان زنده ماندن گیاه و وزن خشک آن، و کاهش ترکیبات فرار ناشی از تنش شد که نشان دهنده کاهش اثرات تنش کم‌آبی در گیاهان مایه‌کوبی شده با این باکتری است. همچنین گزارش شده که مایه‌کوبی گندم با PGPR، از طریق مکانیسم‌هایی مانند تولید اگزوپلی ساکارید، IAA و افزایش توان حل کردن فسفات‌های کم‌محلول، باعث کاهش اثرات تنش شوری بر گیاه شد (۳۸). بارناوال و همکاران (۲) نیز بیان نمودند که مایه‌کوبی گندم با *Arthrobacter protophormiae* با مکانیسم تولید IAA و کاهش آبسیزیک اسید باعث افزایش مقاومت گندم به تنش شوری می‌شود. نتایج پژوهش رزاقی و همکاران (۳۱) نیز نشان داد که در تنش شوری *Staphylococcus* sp.، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، میزان کلروفیل کل، جذب پتاسیم و شاخص‌های رشد گیاه را افزایش دادند. علاوه بر اثرات PGPR بر افزایش مقاومت و تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی گزارش‌های متعددی نیز مبنی بر نقش محرک رشدی و تغذیه‌ای این میکروارگانیسم‌ها برای گیاهان وجود دارد. در این راستا گزارش شده که PGPR با بهبود تغذیه‌ای (NPK)، و کاهش جذب یون سدیم اثر تنش شوری را در گندم کاهش دادند (۲۱). در پژوهشی دیگر PGPR همراه با خاک فسفات باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه، اندام هوایی، عملکرد دانه و جذب فسفر (در ریشه، اندام هوایی و دانه) ذرت و گندم شد (۱۲). همچنین سالمی و همکاران (۳۲) بیان نمودند که مایه‌کوبی گندم با سویه‌های *Azotobacter*، *Azospirillum* و *Bacillus*، با افزایش انحلال فسفر و تولید هورمون‌های گیاهی و جلوگیری از پاتوژن‌ها، باعث بهبود رشد گیاه شدند. ضیائیان و همکاران (۴۱) گزارش کردند که کاربرد توام کود فسفر و باکتری حل کننده فسفات تأثیر مثبتی بر افزایش ارتفاع بوته‌ها داشت. همچنین در پژوهشی دیگر گزارش شد که مایه‌کوبی گندم با PGPR همراه با سایر مدیریت‌های کودی باعث بهبود شاخص‌های رشد، افزایش تولید دانه و همچنین افزایش NPK در دانه و بقایای گیاه شد (۸). با توجه به اثرات مفید ذکر شده از ریزوباکترهای محرک رشد گیاه، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سه سویه PGPR برتر (از نظر توان حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول و متحمل به تنش‌های کم‌آبی و شوری) بر تعدادی از شاخص‌های رشد و غلظت فسفر در اندام‌های مختلف گندم دیم، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک

خاک مورد استفاده در این آزمایش از مختصات جغرافیایی"49°26'25 طول شرقی از گرینویچ "35°52'26 عرض شمالی از استوا و ارتفاع ۱۵۳۴ متر (واقع در دیم‌زارهای استان قزوین)، از عمق ۳۰-۰ سانتیمتر نمونه برداری شد. پس از عبور نمونه خاک از الک ۲ میلی‌متری، خصوصیاتی از خاک از جمله: بافت خاک، درصد رطوبت‌های اشباع خاک (SP)، ظرفیت زراعی (FC) و نقطه پژمردگی دائم (PWP) (۱۵)، قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک (ECe)، pH گل اشباع، ماده آلی، نیتروژن کل، فسفر کل، فسفر قابل دسترس، پتاسیم قابل دسترس، آهن، منگنز، روی و مس قابل دسترس، کربنات کلسیم، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) (۲۶) و جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات (۳۶)، اندازه‌گیری شد و نتایج آن در جدول ۳ بیان گردید.

طرح و تیمارهای آزمایش

آزمایش به صورت فاکتوریل (سه فاکتور) و در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول: سطح رطوبتی خاک در دو سطح شامل ۸۰ و ۵۵ درصد ظرفیت زراعی (W80 و W55)؛ فاکتور دوم: باکتری در چهار سطح شامل (B0: بدون مایه‌کوبی با باکتری) و مایه‌کوبی با سویه‌های *Bacillus pumilus* strain W72 (B1) *B. safensis* strain W73 (B2) و *Staphylococcus succinus* strain R12N2 (B3)؛ فاکتور سوم: کود فسفر در شش سطح شامل شاهد بدون کود فسفر(F0)، خاک فسفات (F1)، خاک فسفات + ۱۹ میلی‌گرم سوپر فسفات تریپل بر کیلوگرم خاک (F2)، خاک فسفات + ۳۸ میلی‌گرم سوپر فسفات تریپل بر کیلوگرم خاک (F3)، خاک فسفات + ۵۷ میلی‌گرم سوپر فسفات تریپل بر کیلوگرم خاک (F4)، و ۵۷ میلی‌گرم سوپر فسفات تریپل بر کیلوگرم خاک (F5)، در سه تکرار جمعاً ۱۴۴ واحد آزمایشی (گلدان) بود. در تیمارهای دارای خاک فسفات، ۱۹۲ میلی‌گرم خاک فسفات (دارای ۱۳/۸ درصد P2O5 یا ۶/۱۳ درصد P) به ازای هر کیلوگرم خاک مخلوط شد. ۳/۵ کیلوگرم از خاک عبور داده شده از الک ۴ میلی‌متری بر طبق طرح آزمایشی با اعمال تیمارهای کود فسفری در گلدان‌هایی با حجم ۳ لیتر پر شدند. همچنین قبل از کاشت میزان کود مورد نیاز بر اساس آزمون خاک محاسبه و تمام کود پتاسه (۱۹ میلی‌گرم سولفات پتاسیم بر کیلوگرم خاک)، کود روی (۱۵ میلی‌گرم سولفات روی بر کیلوگرم خاک)، کود فسفری (از منابع سوپر فسفات تریپل و خاک فسفات بر اساس تیمارهای طرح آزمایشی) و نیز۳۰ درصد نیتروژن (۴۰ میلی‌گرم اوره بر کیلوگرم خاک) قبل از کشت با خاک مخلوط گردید. همچنین ۴۰ و ۵۳ میلی‌گرم اوره بر کیلوگرم خاک همراه با آهن (۲/۵ میلی‌گرم سکوسترین آهن ۱۳۸ بر کیلوگرم

خاک) به ترتیب بعد تنک کردن و انتهای پنجه دهی بصورت محلول در آب به تمام گلدان‌ها اضافه شد (۱۷).

آماده سازی بذور

بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم آذر ۲ از بانک ژن گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه گردید. بذرهای سالم و هم‌اندازه جداسازی و به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد غوطه‌ور شدند و با سرم فیزیولوژیک (۰/۸۵ درصد نمک سدیم کلراید) استریل شستشو گردیدند؛ سپس به مدت ۳ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد غوطه‌ور شده و با سرم فیزیولوژیک استریل ۸ بار شستشو شدند (۳۳).

آماده‌سازی زادمایه و مایه کوبی بذور

طی پژوهش‌های قبلی از بین باکتری‌های جداسازی شده از دیم‌زارهای استان‌های قزوین و زنجان، سه جدایه برتر باکتری منتخب و شناسایی شده با نام‌های *B. pumilus* strain W72 (MF689055)، *B. safensis* strain W73 (MF689056) و *S. succinus* strain R12N2 (MK629237) که قابلیت بالایی در حل‌کننده‌گی فسفات‌های نامحلول معدنی و تحمل زیاد به تنش‌های کم‌آبی و شوری داشتند (جدول ۱)، استفاده شد. برای تولید زادمایه، پس از رشد کافی باکتری‌ها درون محیط کشت نوترینت براث، با استفاده از روش مک فارلند جمعیت باکتری در تمامی سوسپانسیون‌ها تخمین زده شد. سپس سوسپانسون‌های باکتری به مدت ۱۰ دقیقه با ۵۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی را دور ریخته و جمعیت باکتری‌ها با مقدار مناسب (با در نظر گرفتن تخمین جمعیت اولیه سوسپانسیون باکتری) از سرم فیزیولوژیک حاوی ۰/۵ درصد کربوکسی متیل سلولز استریل در حد 5×10^8 CFU/ml تنظیم گردید. در ادامه به ازای هر ۱۰۰ بذر استریل سطحی شده ۴۰ میلی‌لیتر از زادمایه باکتری‌ها و شاهد (سرم فیزیولوژیک حاوی ۰/۵ درصد کربوکسی متیل سلولز استریل) به صورت جداگانه اضافه گردید و به مدت ۴۵ دقیقه بذرها در آن غوطه‌ور شدند. در نهایت بذور مایه‌کوبی شده در دمای آزمایشگاه و شرایط استریل و دور از نور روی کاغذ صافی استریل، خشک شدند (۴ و ۳۳).

جدول ۱- توان تحمل سویه‌های باکتری استفاده شده به کم‌آبی، شوری و انحلال فسفر از منابع خاک فسفات و تری کلسیم فسفات

Table 1- Tolerance potential of used bacterial strains to water deficit, salinity and phosphorus solubilization from rock phosphate and tricalcium phosphate sources

تیمارهای باکتری Bacterial treatments	سویه‌های باکتری Bacterial strains	حلالیت تری کلسیم فسفات Solubility of tricalcium phosphate (mg l^{-1})	حلالیت خاک فسفات Solubility of rock phosphate (mg l^{-1})	تحمل به شوری Salinity tolerance (%NaCl)	تحمل به خشکی Drought tolerance (bar)
B1	*Bacillus pumilus* strain W72	58	37	4	-17.17
B2	*B. safensis* strain W72	101	69	8	-22.17
B3	*Staphylococcus succinus* strain R12N2	220	131	8	-22.17

کاشت گیاه و اعمال تنش کم‌آبی

طبق طرح آزمایشی در تیمارهای باکتری، درون هر گلدان تعداد ۱۰ بذر تیمار شده با زادمایه‌ها طبق طرح آزمایشی کشت و آبیاری با آب مقطر در حد ۸۰ درصد (FC) انجام شد. سه هفته پس از کشت واحدهای آزمایشی تنک شدند و در هر واحد آزمایشی (گلدان) ۵ بوته نگه داشته شد. با شروع مرحله ساقه رفتن نیز تیمار تنش رطوبتی شدید (طبق جدول ۲، رطوبت ۵۵ درصد (FC) نزدیک به رطوبت نقطه پژمردگی دائم (PWP) بود) طبق طرح آزمایشی به‌صورت وزنی اعمال شد و تا برداشت محصول ادامه یافت. همچنین در طول دوره ۱۲۵ روزه آزمایش، گلدان‌ها در گلخانه با درجه حرارت روز ۲۵±۲°C و شب ۲۰±۲°C و طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت با متوسط شدت نور ۲۳۰۰۰ لوکس نگهداری شدند (۲۵).

برداشت محصول و اندازه گیری صفات در گیاه

در پایان دوره رشد گیاهان که ۱۲۵ روز طول کشید متوسط ارتفاع گیاهان، تعداد خوشه‌های بارور، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی، وزن خشک کل گیاه (شامل ریشه، اندام هوایی و دانه که در آون با دمای ۶۵ درجه سلسیوس در مدت ۷۲ ساعت خشک شدند)، تعداد دانه، وزن هزاردانه و غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه نیز پس از هضم خشک با روش فسفو وانادو مولیبدات–روش زرد (۴۰)، برای هر واحد آزمایشی (گلدان) اندازه‌گیری و محاسبه شد.

آنالیز آماری داده‌ها

تجزیه آماری با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون توکی (HSD) و در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند.

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک استفاده شده

Table 2- Physical, chemical and biological properties of used soil

شن Sand	لای Silt	رس Clay	بافت خاک Soil texture	درصد انشباع SP	ظرفیت مزرعه ای FC	نقطه پژمردگی دائم PWP	قابلیت هدایت الکتریکی EC	واکنش خاک pH	کربن آلی OC	ماده آلی OM	کربنات کلسیم $CaCO_3$	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC	کل Total		قابل دسترس Available						باکتری‌های حل‌کننده PSB
													نیتروژن N	فسفر P	فسفر P	پتاسیم K	آهن Fe	منگنز Mn	مس Cu	روی Zn	
(%)					(%)		$dS\ m^{-1}$		(%)			$cmc\ kg^{-1}$	($mg\ kg^{-1}$)								$CFU\ g^{-1}$
23	51	26	Loam	38.9	15.8	7.1	6.95	8.22	0.73	1.26	12.2	15	0.07	303.8	2.31	245	2.5	3.1	0.3	0.7	2.8×10^2

نتایج و بحث

میانگین ارتفاع گیاه

مطابق با جدول ۳، تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که علاوه بر اثرات اصلی باکتری، رطوبت و کود فسفری که بر متوسط ارتفاع گیاهان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود؛ اثرات متقابل دوجانبه باکتری و رطوبت نیز در سطح احتمال پنج درصد بر این صفت معنی‌دار شد. تیمارهای کودی F4 و F0 به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین ارتفاع گیاه را به خود اختصاص دادند. تیمار کودی F4 نسبت به F1 و تیمارهای کودی F2، F3، F4 و F5 نسبت به F0 بطور معنی‌داری این صفت را افزایش دادند. بعبارت دیگر تیمارهای دارای کود سوپر فسفات تریپل با همدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و نسبت به شاهد و تیمار خاک فسفات باعث افزایش معنی‌دار این صفت شده‌اند (جدول ۴). مصرف کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل در خاکی که فسفر قابل جذب آن کمتر از حد بحرانی است باعث افزایش رشد و عملکرد گندم می‌شود (۱۷)؛ ولی سطوح مختلف مصرف این کود (بسته به شرایط آزمایش) ممکن است از نظر بعضی از شاخص‌های رشد مانند ارتفاع بوته، نتواند تفاوت معنی‌داری ایجاد کند (۱۹ و ۴۱). همچنین هر یک از تیمارهای باکتریایی در سطح رطوبتی W80 نسبت به W55 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت شدند. در سطح رطوبتی W80 باکتری‌های B2 و B3 نسبت به B0، این صفت را افزایش دادند؛ ولی در سطح رطوبتی W55 هیچیک از تیمارهای باکتریایی B0، B1، B2 و B3 اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۵). در تنش‌های شوری و کم‌آبی رشد گیاهان مخصوصاً ارتفاع آنها کاهش پیدا می‌کند. ولی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در اغلب موارد مایه‌کوبی گیاهان با PGPR ارتفاع گیاهان افزایش می‌یابد (۶، ۷، ۱۶ و ۳۴). البته این میکروارگانیسم‌ها همیشه و در همه حال اثرات مفید و معنی‌دار بر گیاهان ندارد و ممکن است در شرایط مختلف آزمایشی از مایه‌کوبی این میکروارگانیسم‌ها با گیاهان اثرات مختلفی را شاهد باشیم (۳). با توجه به جدول ۲، خاک استفاده شده در این آزمایش جزء خاک‌های شور طبقه‌بندی می‌شود، بنابراین در تمام واحدهای آزمایشی گیاهان با تنش شوری مواجه بودند. در حقیقت باکتری‌های B2 و B3 نسبت به شاهد (B0) در شرایط تنش شوری و بدون اعمال تنش کم‌آبی (W80) توانستند ارتفاع گیاه گندم را بطور معنی‌داری افزایش دهند؛ ولی در شرایط تنش شوری و تنش کم‌آبی (W55) این توانایی را نداشتند. به نظر می‌رسد که وجود چنین تفاوت‌های عملکردی در شرایط مختلف از ماهیت زیستی این میکروارگانیسم‌ها نشأت می‌گیرد به همین دلیل در شرایط مختلف شاهد رفتارهای متفاوت از مایه‌کوبی گیاهان با این میکروارگانیسم‌ها هستیم.

تعداد خوشه بارور

تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که تنها اثرات اصلی باکتری، رطوبت و کود فسفری بر تعداد خوشه‌های بارور گیاهان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). تیمار باکتری‌های B3 و B2 به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد خوشه بارور را به خود اختصاص دادند البته تیمار باکتری‌های B1 و B3 اختلاف معنی‌داری با B0 نداشتند (شکل ۱).

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در گیاه

Table 3- ANOVA of measured traits in plant

	Source	B	W	F	B×W	B×F	W×F	B×W×F	Error	CV%
	DV	df 3	1	5	3	15	5	15	96	
Mean squares (MS)	PlH	93.80**	25262.50**	69.70**	60.30*	9.60^{ns}	20.60^{ns}	6.60^{ns}	13.10	6.62
	FCl	8.13**	156.25**	3.68**	0.16^{ns}	0.48^{ns}	0.33^{ns}	0.35^{ns}	0.62	14.08
	R/Sh	0.01**	0.11**	0.00^{ns}	0.01**	0.00^{ns}	0.00^{ns}	0.00^{ns}	0.00	13.06
	TWP	79.60**	11399.50**	32.30**	44.50**	4.10^{ns}	2.70^{ns}	1.60^{ns}	3.50	6.95
	GrN	499^{ns}	151127 **	2851**	2877**	276^{ns}	202^{ns}	151^{ns}	233	12.18
	TGW	162.66**	1824.78**	0.13^{ns}	53.97**	0.08^{ns}	0.14^{ns}	0.10^{ns}	2.97	5.1
	RPC	0.31**	1.54**	0.18**	0.13**	0.01**	0.01**	0.01**	0.00	3.66
	SPC	0.00**	0.01**	0.00**	0.01**	0.00**	0.00**	0.00**	0.00	3.46
	GPC	0.09**	0.44**	0.05**	0.04**	0.00**	0.00**	0.00**	0.00	3.11

تیمارهای باکتریایی (B)، محتوی آب خاک (W)، کودهای فسفری (F) متغیرهای وابسته (DV)، ارتفاع گیاه (PlH)، خوشه‌های بارور (FCl)، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (R/Sh)، وزن خشک کل گیاه (TWP)، تعداد دانه (GrN)، وزن هزار دانه (TGW)، غلظت فسفر ریشه (RPC)، غلظت فسفر اندام هوایی (SPC)، غلظت فسفر دانه(GPC)، *،** و ns به ترتیب نشان دهنده معنی داری در $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ و غیر معنی‌داری $p < 0.05$

Bacterial treatments (B), Soil Water Content (W), Phosphorus Fertilizers (F), Dependent Variable (DV), Plant Height (PlH), Fertile Clusters (FCl), Root dry weight /shoot dry weight ratio (R/Sh), Total Dry Weight of Plant (TWP) Grain Number (GrN), Thousand Grain Weight (TGW), Root Phosphorus Concentration (RPC), Shoot Phosphorus Concentration (SPC), Grain Phosphorus Concentration (GPC). *,** and ^{ns} indicate significant at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and non significant at $p < 0.05$, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی کود فسفری بر صفات رشد و عملکردی گیاه گندم

Table 4- Mean comparison of main effects of P-fertilizers on yield and growth traits of wheat

تیمارهای کود فسفری P fertilizers treatments	میانگین ارتفاع گیاه Average of plant height (cm pot^{-1})	تعداد خوشه بارور Fertile cluster (number pot^{-1})	وزن خشک کل گیاه Total dry weight of plant (g pot^{-1})	تعداد دانه Grain Number (number pot^{-1})
F0	52.13 c	4.96 c	25.11 c	107.96 b
F1	52.81 bc	5.25 bc	25.80 bc	115.29 b
F2	55.39 ab	5.67 ab	27.27 ab	129.46 a
F3	55.82 ab	5.92 a	27.58 a	133.38 a
F4	56.10 a	5.88 ab	28.08 a	134.29 a
F5	55.53 ab	5.83 ab	27.47 a	130.75 a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05).

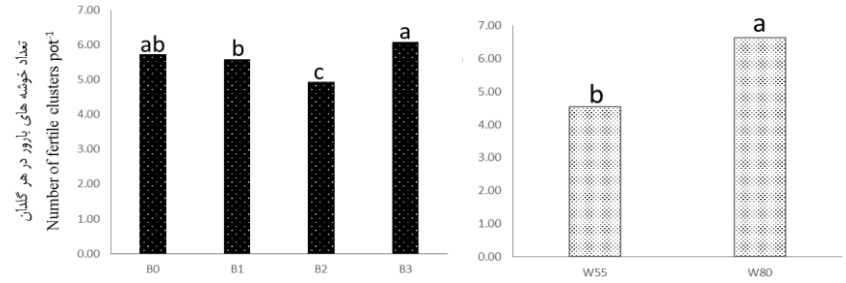
جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای رطوبتی و باکتری بر صفات صفات رشد و عملکردی گیاه گندم

Table 5- Mean comparison of mutual effects of soil water content and bacterial treatments on yield and growth traits of wheat

محتوی آب خاک soil water content	تیمارهای باکتریایی Bacterial treatments	میانگین ارتفاع گیاه Average of plant height (cm pot^{-1})	نسبت وزن خشک ریشه بر وزن خشک اندام هوایی Root dry weight /shoot dry weight ratio	وزن خشک کل گیاه Total dry weight of plant (g pot^{-1})	تعداد دانه در هر گلدان Grain Number (number pot^{-1})	وزن هزار دانه Thousand grain weight (g)
W55	B0	41.37 c	0.16 d	17.13 d	90.11 d	29.87 de
	B1	41.14 c	0.19 c	17.83 cd	92.06 cd	28.43 e
	B2	39.85 c	0.20 c	17.83 cd	83 d	31.44 d
	B3	43.17 c	0.22 bc	19.15 c	106 c	31.08 d
W80	B0	64.27 b	0.25 ab	32.25 b	161.22 a	33.62 c
	B1	67.98 ab	0.25 a	36.72 a	167.06 a	35.84 b
	B2	68.92 a	0.25 a	38.03 a	157.94 ab	39.16 a
	B3	70.32 a	0.25 a	36.12 a	144.11 b	40.68 a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمارهای رطوبتی و باکتریایی بر تعداد خوشه‌های بارور گندم

Figure 1- Mean comparison of main effects of soil water content and bacterial treatments on fertile clusters

نتایج حاصل از پژوهش کادر و همکاران (۱۰) نیز نشان می‌دهد که مایه کوبی گندم با PGPR نسبت به شاهد (عدم مایه کوبی) باعث افزایش معنی‌دار این صفت نشد. بعضی از باکتری‌ها علی‌رغم دارا بودن خصوصیات PGPR در شرایط درون شیشه‌ای، در کشت خاکی گیاهان بدلیل حاکم بودن شرایط و برهمکنش‌های پیچیده آب، خاک، گیاه و میکروب‌ها در ریزوسفر (۳۰)، نمی‌توانند اثرات محرک رشدی بر روی تمام شاخص‌های رشد و نمو گیاهان داشته باشند. سطح رطوبتی W80 نسبت به W55 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت شد (شکل ۱). به‌صورت کلی شوری و کم آبی دو تنش بزرگ محیطی هستند که از طریق تنش‌های ثانویه مانند تنش‌های اسمزی، اکسیداتیو و تنش یونی باعث کاهش بعضی از صفت‌های رشدی گیاه می‌شوند (۱۳ و ۲۲). بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که با افزایش رطوبت قابل استفاده گیاه تعداد خوشه‌های گیاه نیز افزایش یابد (۲۷). تیمارهای کودی F2، F3، F4 و F5 نسبت به F0 بطور معنی‌داری این صفت را افزایش دادند (جدول ۴). معمولاً با مصرف کود فسفری تعداد پنجه‌ها افزایش می‌یابد (۴۲). زیرا غلظت فسفر قابل جذب یکی از عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهان در اغلب خاک‌ها بوده و مصرف کود فسفری از منبع مناسب آن (مانند سوپر فسفات تریپل) می‌تواند اجزاء عملکرد گیاهان را مانند تعداد خوشه‌های بارور را افزایش دهد.

نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی

علاوه بر اثرات اصلی باکتری و رطوبت، اثرات متقابل دوجانبه باکتری و رطوبت بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). هر یک از تیمارهای باکتریایی در سطح رطوبتی W80 نسبت به سطح W55 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت شدند. همچنین در سطح رطوبتی W80 تیمارهای باکتری B1، B2 و B3 نسبت به B0 از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری نداشتند؛ ولی در سطح رطوبتی W55 هر سه تیمار باکتری (B1، B2 و B3) نسبت به B0 این صفت را افزایش دادند (جدول ۵). رزاقی و همکاران (۳۱) نیز اظهار داشتند که در شرایط تنش مایه‌کوبی گیاه با *Staphylococcus*، باعث افزایش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی گیاه شد. به نظر می‌رسد PGPR با افزایش رشد ریشه (از طریق مکانیسم‌های مختلف مخصوصاً تولید هورمون‌های رشد گیاه(۴))، سطح تماس ریشه با خاک را افزایش می‌دهد (دسترسی به حجم بیشتری از خاک برای جذب آب و عناصر غذایی) و از این طریق مقاومت گیاه به تنش کم‌آبی را افزایش می‌دهند.

وزن خشک کل گیاه

اثرات اصلی باکتری، رطوبت و کود فسفری، و اثرات متقابل دوجانبه باکتری و رطوبت بر وزن کل گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). تیمارهای کودی F3، F4 و F5 نسبت به F1 و F0 بطور معنی‌داری این صفت را افزایش دادند (جدول ۴). خلیلی راد و میرسید حسینی (۱۴) گزارش کردند که مصرف کود فسفری نسبت به عدم مصرف آن (در خاکی که فسفر قابل جذب آن ۴/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و pH آن نیز برابر ۷/۴۵ بود) به طور معنی‌داری وزن خشک گیاه را افزایش داد. همچنین نتایج حاصل از پژوهش موسوی و سپهر (۲۰) نشان داد که مصرف خاک فسفات نسبت به شاهد (عدم مصرف کود) در ۳ رقم جو اختلاف معنی‌داری از نظر این صفت ایجاد نکرد؛ که نتایج بدست آمده در این پژوهش تأیید کننده نتایج پژوهش‌های مذکور می‌باشد. با توجه به جدول ۲، چون فسفر قابل استفاده خاک بسیار پایین می‌باشد بنابراین معقول به نظر می‌رسد که با مصرف کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل رشد و تولید ماده خشک گیاهان افزایش یابد. از طرفی، چون درصد کربنات کلسیم معادل و نیز pH خاک استفاده شده در این آزمایش زیاد بود (جدول ۲)، بنابراین مصرف خاک فسفات در افزایش وزن خشک گیاه تأثیر معنی‌داری نداشت. زیرا مصرف خاک فسفات در خاک‌هایی با pH خنثی تا قلیایی، کارآیی لازم را در عرضه فسفر برای گیاه را ندارد (۹). در هر یک از تیمارهای باکتریایی، سطح رطوبتی W80 نسبت به W55 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن خشک گیاه شد. همچنین در سطح رطوبتی W80 تیمارهای باکتریایی B1، B2 و B3 نسبت به B0 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت شدند؛ ولی در سطح

رطوبتی W55 تنها تیمار باکتری B3 نسبت به B0 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت گردید (جدول ۵). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در شرایط تنشی و غیر تنشی باکتری‌های محرک رشد با مکانیسم‌های مختلف می‌توانند رشد و نمو گیاهان را بهبود بخشند (۴ و ۱۱). البته PGPR همیشه و در هر شرایطی باعث بهبود رشد و نمو گیاهان نمی‌شود (۳).

تعداد دانه

مطابق با جدول ۳، تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که علاوه بر اثرات اصلی رطوبت و کود فسفری اثرات متقابل دوجانبه باکتری و رطوبت بر تعداد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. تیمارهای کودی F2، F3، F4 و F5 نسبت به F0 و F1 به طور معنی‌داری این صفت را افزایش دادند (جدول ۴). استفاده از کود شیمیایی فسفری مانند سوپر فسفات تریپل باعث افزایش تعداد دانه در سنبله گندم می‌شود ولی میزان استفاده از آن برای ایجاد اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد (عدم مصرف کود) در شرایط مختلف متفاوت است (۱۹)؛ که باید برای ارقام، خاک‌ها و شرایط آب و هوایی متنوع جداگانه آزمایش و تعیین شود. هر یک از تیمارهای باکتریایی در سطح رطوبتی W80 نسبت به سطح W55 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت شدند. همچنین در سطح رطوبتی W55 تنها تیمار باکتری B3 نسبت به B0 تعداد دانه را بطور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۵). با کاهش آب قابل دسترس، قابلیت دسترسی به عناصر غذایی و جذب آنها بوسیله گیاه کاهش می‌یابد، بنابراین یکی از مشکلات گیاه در شرایط تنش کم‌آبی کمبود عناصر غذایی می‌باشد. در میان عناصر غذایی نیز فسفر به عنوان یکی از عناصر پر مصرف، دارای نقشی اساسی و مهم در رشد گیاه است که جذب آن در شرایط کمبود آب کاهش می‌یابد (۲۸). به نظر می‌رسد در شرایط رطوبتی مطلوب (W80) قابلیت دسترسی به آب، عناصرغذایی و قابلیت استفاده از کود فسفری، افزایش یافته و در نهایت باعث تولید محصول بیشتر در گندم شده است. همچنین در اغلب موارد، مایه‌کوبی گندم با PGPR در شرایط تنش باعث افزایش عملکرد گیاه می‌شود. زیرا این میکروارگانیسم‌ها با مکانیسم‌هایی رشد گیاهان را بهبود می‌بخشند و در مقابل تنش‌ها مقاوم می‌کنند در نتیجه تولید محصول افزایش می‌یابد (۴ و ۱۱). البته لازم به ذکر است که در بعضی مواقع اثرات غیرمعنی‌دار یا حتی کاهش رشد گیاهان در اثر مایه‌کوبی با برخی از این میکروارگانیسم‌ها مشاهده می‌شود (۳۵).

وزن هزار دانه

علاوه بر اثرات اصلی باکتری و رطوبت، اثرات متقابل دوجانبه باکتری و رطوبت بر وزن هزار دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). هر یک از تیمارهای باکتریایی در سطح رطوبتی W80 نسبت به سطح W55 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت شدند. همچنین در سطح رطوبتی W80 تیمارهای باکتری B1، B2 و B3 نسبت به B0 به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این صفت شدند؛ ولی در سطح رطوبتی W55 هیچ‌یک از این تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری از نظر این صفت نداشتند (جدول ۵). اغلب پژوهش‌ها نشان می‌دهد که مایه کوبی گیاهان با PGPR، باعث بهبود شاخص‌های کمی و کیفی گیاهان می‌شود؛ که افزایش وزن هزار دانه (یعنی تولید دانه‌های درشت تر و با وزن بیشتر) یکی از این شاخص‌هاست (۲۳). ولی پژوهش کادر و همکاران (۱۰) نشان داد که باکتری‌های محرک رشد همیشه و در همه حال اثرات مثبت معنی‌دار بر این صفت ندارد.

غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تمامی اثرات اصلی باکتری، رطوبت و کود فسفری، اثرات متقابل دو جانبه باکتری و رطوبت، باکتری و کود فسفری، رطوبت و کود فسفری، و اثرات متقابل سه جانبه باکتری، رطوبت و کود فسفری بر غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). در سطح رطوبتی W55، تیمار باکتری B3 نسبت به B0، B1 و B2، در هر یک از سطوح کود فسفری به طور معنی‌داری این صفت‌ها را افزایش داد. علاوه بر این استفاده از باکتری B3 بدون مصرف کود فسفری (F0) نسبت به تیمارهای باکتری B0، B1 و B2 با سطح حداکثری کود فسفری (F4) از نظر غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه اختلاف معنی‌داری نداشت. در سطح رطوبتی W80، تیمارهای باکتری B2 و B3 در هر یک از سطوح کود فسفری، و تیمار باکتری B1 اغلب در سطوح کودی F0، F1، F2 و F3، نسبت به B0 این صفت‌ها را افزایش دادند. استفاده از باکتری B3 با سطح کودی F2 نیز نسبت به تیمار باکتری B0، B1 و B2 با سطح کودی F4 از نظر غلظت فسفر ریشه و دانه اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین استفاده از باکتری‌های B2 و B3 با سطح کودی F2، و B1 با سطح کودی F3، نسبت به تیمار B0 با سطح کودی F4 از نظر غلظت فسفر اندام هوایی اختلاف معنی‌داری نداشت. که در کل این نتایج نشان دهنده کارآمدی باکتری B3 بدون استفاده از کودهای فسفری در شرایط تنش کم‌آبی، و نیز کارآمدی باکتری‌های B1، B2 و B3 در استفاده حداقلی از کودهای فسفری در شرایط بدون تنش کم‌آبی برای تأمین فسفر در بخش‌های مختلف گیاه است (شکل ۲). افزایش قابلیت دسترسی عناصر ضروری مخصوصاً فسفر توسط PGPR برای گیاهان به اثبات رسیده است (۴، ۵)؛ که معمولاً از طریق کاهش pH، و تولید فیتازها، فسفاتازهای اسیدی و قلیایی سبب افزایش دسترسی گیاه به

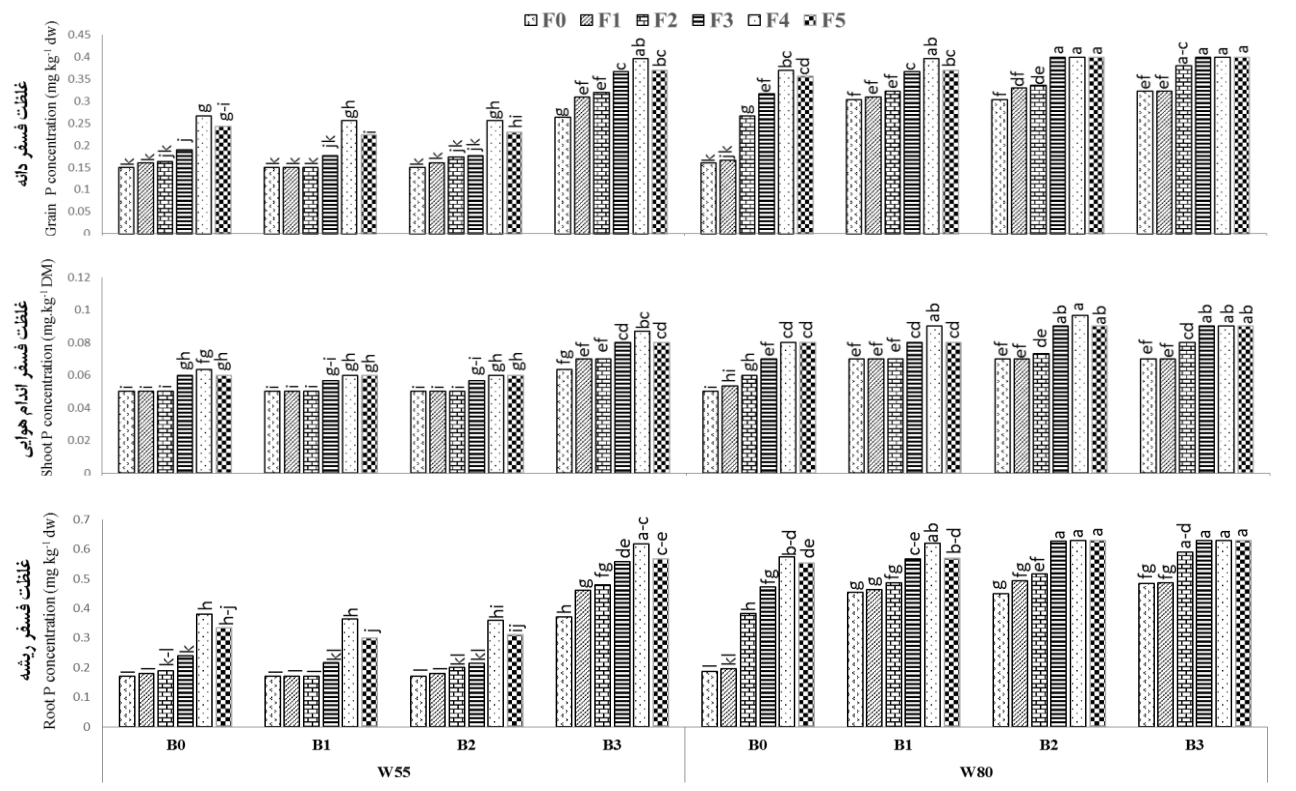
فسفر می‌شوند (۱۲). مک‌بیث و همکاران (۱۸) نیز بیان می‌کنند که بین میزان رطوبت خاک و تغذیه فسفر برای گیاهان یک رابطه هم‌افزایی وجود دارد؛ همچنین مصرف فسفر بصورت کود باعث بهبود استفاده گیاه از فسفر خاک می‌شود. با توجه به اینکه هر چه از رطوبت اشباع به سمت رطوبت‌های کمتر پیش می‌رویم جریان رطوبت بصورت مایع کاهش می‌یابد و فقط محدود به یکسری منافذ خیلی ریزتر می‌شود و در نتیجه انتشار فسفر محدودتر می‌گردد. بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که با افزایش رطوبت قابلیت جذب فسفر نیز افزایش یابد.

همبستگی بین صفت‌ها

بطور کلی، تمام صفات اندازه‌گیری شده با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند. (جدول ۶). قوی‌ترین همبستگی‌ها (بیشتر از ۹۵ درصد) میان غلظت‌های فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه، و همچنین میان ارتفاع گیاه و وزن خشک کل گیاه بود؛ ضعیف‌ترین همبستگی‌ها (کمتر از ۵۵ درصد) نیز میان وزن هزار دانه و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی مشاهده گردید. با توجه به اهمیت تولید محصول با وزن هزار دانه بیشتر (تولید دانه‌های سالم‌تر و درشت‌تر با وزن بیشتر) نسبت به دیگر صفت‌های اندازه‌گیری شده، می‌توان گفت: هر عاملی که بتواند نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی، غلظت فسفر (ریشه، دانه و اندام هوایی)، تعداد دانه، تعداد خوشه بارور گیاه و مخصوصاً وزن خشک کل و ارتفاع گیاه گندم را افزایش دهد باعث افزایش وزن هزار دانه گندم خواهد شد؛ زیرا صفت‌های ذکر شده همبستگی بین ۵۴ تا ۸۴ درصدی با وزن هزار دانه گندم داشتند.

نتیجه‌گیری

سطح رطوبتی ۸۰ درصد نسبت به ۵۵ درصد ظرفیت زراعی (FC) باعث افزایش ارتفاع، وزن خشک گیاه، نسبت وزن خشک ریشه بر وزن خشک اندام هوایی، تعداد خوشه بارور، تعداد دانه، وزن هزار دانه، و همچنین افزایش غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه شد. تمام سطوح تیمارهای دارای کود سوپر فسفات تریپل نیز نسبت به شاهد (بدون کود فسفری) باعث افزایش کمی اغلب صفات مذکور گردید؛ ولی تیمار خاک فسفات نسبت به شاهد فاقد چنین اثری بود.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای باکتری، رطوبت و کود فسفری بر غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه

Figure 2- Mean comparison of mutual effects of bacterial treatments, soil water content and P-fertilizer on phosphorus concentration of root, shoot and grain

جدول ۶- همبستگی پیرسون بین صفات اندازه‌گیری شده

Table 6- Pearson correlation among measured traits

Traits	PlH	FCl	R/Sh	TWP	GrN	TGW	RPC	SPC	GPC
PlH	1**								
FCl	0.78**	1**							
R/Sh	0.68**	0.56**	1**						
TWP	0.98**	0.76**	0.68**	1**					
GrN	0.89**	0.73**	0.66**	0.89**	1**				
TGW	0.83**	0.60**	0.54**	0.84**	0.64**	1**			
RPC	0.71**	0.65**	0.60**	0.72**	0.71**	0.67**	1**		
SPC	0.68**	0.61**	0.57**	0.69**	0.67**	0.64**	0.96**	1**	
GPC	0.70**	0.64**	0.60**	0.71**	0.70**	0.67**	0.99**	0.96**	1**

ارتفاع گیاه (PlH)، خوشه‌های بارور (FCl)، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (R/Sh)، وزن خشک کل گیاه (TWP)، تعداد دانه (GrN)، وزن هزار دانه (TGW)، غلظت فسفر ریشه (RPC)، غلظت فسفر اندام هوایی (SPC)، غلظت فسفر دانه(GPC)، ** نشان دهنده همبستگی معنی‌دار در $p < 0.01$

Plant Height (PlH), Fertile Clusters (FCl), Root dry weight /shoot dry weight ratio (R/Sh), Total Dry Weight of Plant (TWP), Grain Number (GrN), Thousand Grain Weight (TGW), Root Phosphorus Concentration (RPC), Shoot Phosphorus Concentration (SPC), Grain Phosphorus Concentration (GPC). **, indicates significant correlation at $p < 0.01$

البته مصـرف خاک فسفات به همراه هر یک از تیمار باکتری‌های *B. pumilus* W72، *B. safensis* W73 و *S. succinus* R12N2 در سـطح رطوبتی ۸۰ درصـد FC، و نیز تیمار باکتری *S. succinus* R12N2 در سطح رطوبتی ۵۵ درصد FC، باعث افزایش غلظت فسفر ریشـه، اندام هوایی و دانه گندم شـد. به طور کلی، تیمار باکتری‌های *B. pumilus* W72 و *B. safensis* W73 تنها در سـطح رطوبتی۸۰ درصد FC، ولی تیمار باکتری *S. succinus* R12N2 در هر دو سطح رطوبتی ۵۵ و ۸۰ درصـد FC، باعث افزایش غلظت فسـفر بخش‌های مختلف گیاه شـد و همچنین اغلب شاخص‌های رشد و عملکردی گیاه گندم را بهبود بخشید. بنابراین برای کشت گندمی که ممکن است در یک یا چند مرحله از رشد و نمو خود با تنش رطوبتی مواجه شود (مانند کشت گندم در دیم‌زارها) استفاده از تیمار باکتری *Staphylococcus succinus* R12N2 مناسب به نظر می‌رسد؛ ولی برای توصیه در قالب کود زیسـتی مناسـب دیم‌زارهای گندم نیازمند آزمایشـات تکمیلی در شرایط طبیعی (دیم‌زارهای گندم) است.

منابع

1- Ahmadi K., Ebadzadeh H.R., Abdshah H., Kazemian A., and Rafiey M. 2018. Agricultural Statistics Vol. I: Crops in 2016-17 years. 1st ed. Publication of Ministry of Agriculture, Deputy of Planning and Economics, Tehran, Iran. (In Persian)

2- Barnawal D., Bharti N., Pandey S.S., Pandey A., Chanotiya C.S., and Kalra A. 2017. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and TaCTR1/TaDREB2 expression. Physiologia Plantarum 161: 502-514.

3- Delfim J., Schoebitz M., Paulino L., Hirzel J., and Zagal E. 2018. Phosphorus availability in wheat, in volcanic soils inoculated with phosphate-solubilizing *Bacillus thuringiensis*. Sustainability 144: 1-15.

4- Etesami H., and Maheshwari D.K. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. Ecotoxicology and Environmental Safety 156: 225–246.

5- Glick B. 2012. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. Scientifica 1-15.

6- Heydarian Z., Yu M., Gruber M., Glick B.R., Zhou R., and Hegedus D.D. 2016. Inoculation of soil with plant growth promoting bacteria producing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase or expression of the corresponding acdS gene in transgenic plants increases salinity tolerance in *Camelina sativa*. Frontiers in Microbiology 7: 1-17.

7- Hokmalipour S., Panahyan Kivi M. and Shiri Janaghard M. 2018. The Effect of Seed Inoculation with *Azotobacter* and *Azospirillum* on Yield and some Qualitative and Quantitative Characteristics of Safflower at Different Planting Date. Journal of Water and Soil 32(5): 931-942. (In Persian with English abstract)

8- Inwati D.K., Yadav J., Yadav J.S., Pandey G., and Pandey A. 2018. Effect of different levels, sources and methods of application of nitrogen on growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7: 2398-2407.

9- Johnston A.E., and Syers J.K. 1998. Nutrient Management for Sustainable Crop Production in Asia. Wallingford, UK, CAB International. 394 pp.

10- Kader M.A., Main M.H., and Hoque M.S. 2002. Effects of *Azetobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Sciences 2: 259-261.

11- Kadmiri I.M., Chaouqui L., Azaroual S.E., Sijilmassi B., Yaakoubi K., and Wahby I. 2018. Phosphate-solubilizing and auxin-producing rhizobacteria promote plant growth under saline conditions. Arabian Journal for Science and Engineering 44: 3403-3415.
12- Kaur G., and Reddy M.S. 2015. Effects of phosphate-solubilizing bacteria, rock phosphate and chemical fertilizers on maize-wheat cropping cycle and economics. Pedosphere 25: 428–437.
13- Kaushal M., and Wani S.P. 2016. Rhizobacterial-plant interactions: Strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. Agriculture, Ecosystems and Environment 231: 68-78.
14- Khalili-Rad R., and Mirseyed Hosseini H. 2016. Assessing some root morphological properties and efficiency indexes in several phosphorus efficient and inefficient cultivars of wheat Journal of Soil Management and Sustainable Production 6(3): 65-82. (In Persian with English abstract)
15- Klute A. (Ed), (1986). Methods of Soil Analysis. Part 1: Physical and Mineralogical Methods. 2nd ed. Agronomy, ASA and SSSA, Wisconsin, USA: Madison.
16- Li H., Lei P., Pang X., Li S., Xu H., Xu Z., and Feng X. 2017. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant *Enterobacter cloacae* HSNJ4. Applied Soil Ecology 119: 26–34
17- Malekutey M.J., and Gheybi M.N. 1997. Determination of Critical Level of Nutritional Elements in Strategic Products and the Correct Recommendation of Fertilizer in the country. Agriculture Education Publication, Karaj, 56 pp. (In Persian)
18- McBeath T.M., McLaughlin M.J., Kirby J.K., and Armstrong R.D. 2012. The effect of soil water status on fertiliser, topsoil and subsoil phosphorus utilisation by wheat. Plant and Soil 358: 337–348.
19- Moradi M., Siadat S.A., Khavazi K., Naseri R., Maleki A., and Mirzaei A. 2011. Effect of application biofertilizer and phosphorus fertilizers on qualitative and quantitative traits of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Crop Ecophysiology 18: 51-66. (In Persian with English abstract)
20- Musavi R., and Sepehr E. 2014. Phosphorus efficiency of some barley genotypes in the presence of phosphate-solubilizing microorganisms. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 16: 27-40. (In Persian with English abstract)
21- Nadeem S.M., Zaheer Z.A., Naveed M., and Nawaz S. 2013. Mitigation of salinityinduced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting rhizobacteria in naturally saline conditions. Annals of Microbiology 63: 225–232.
22- Nakbanponte W., Pantlurtumpai N., Sangdee A., Sakulpone N., Sirisom P., and Pimthong A. 2014. Salt tolerant and plant-growth-promoting-bacteria isolated from Zn/Cd contaminated soil: identification and effect on rice under saline conditions. Journal of Plant Interactions 9: 379–387.
23- Naseri R., and Mirzaei A. 2010. Response of yield and yield components of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to seed inoculation with *Azotobacter* and *Azospirillum* and different nitrogen levels under dry land condition. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 9: 445-449.
24- Oksinska M.P., Wright S.A.I., and Pietr S.J. 2011. Colonization of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) by strains of *Pseudomonas* spp. with respect to their nutrient utilization profiles. European Journal of Soil Biology 47: 364-373.
25- Ova E.A., Kutman U.B., Ozturk L., and Cakmak I. 2015. High phosphorus supply reduced zinc concentration of wheat in native soil but not in autoclaved soil or nutrient solution. Plant and Soil, DOI: 10.1007/s11104-015-2483-8.
26- Page A.L., Miller R.H., and Keeney D.R. (Eds.). 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. Agronomy, ASA and SSSA, Wisconsin, USA: Madison.
27- Parvazi-Shandi S., Pazoki A., Asgharzadeh A., and Azadi A. 2013. Effects of irrigation intervals, plant growth promoting Rhizobacteria and humid acid on yield and yield components of wheat (Kavir cultivar). Modern Science of Sustainable Agriculture 9: 9-16. (In Persian with English abstract)
28- Payne W.A., Hossner L.R., Onken A.B., and Wendt C.W. 1995. Nitrogen and phosphorus uptake in pearl millet and its relation to nutrient and transpiration efficiency. Agronomy Journal 87: 425-431.
29- Pereyra M.A., Garcia P., Colabelli M.N., Barassi C.A., and Creus C.M. 2012. A better water status in wheat seedlings induced by *Azospirillum* under osmotic stress is related to morphological changes in xylem vessels of the coleoptile. Applied Soil Ecology 53: 94-97.
30- Pinton R., Varanini Z., and Nannipieri P. 2007. The Rhizosphere Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface. CRC Press Taylor & Francis Group, LLC
31- Razzaghi B.K., Alikhani H.A., Etesamia H., and Khoshkholgh-Sima N.A. 2019. Improved growth and salinity tolerance of the halophyte *Salicornia sp.* by co–inoculation with endophytic and rhizosphere bacteria. Applied Soil Ecology 138: 160–170.
32- Saleemi M., Kiani M.Z., Sultan T., Khalid A., and Mahmood S. 2017. Integrated effect of plant growth-promoting rhizobacteria and phosphate-solubilizing microorganisms on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under rainfed condition. Agriculture and Food Security 6(46): 1-8.

33- Salem G., Stromberger M.E., Byrne P.F., Manter D.K., El-Fekid W., Weir T.L. 2018. Genotype-specific response of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) to irrigation and inoculation with ACC deaminase bacteria. Rhizosphere 8: 1–7.
34- Sapre S., Gontia-Mishra I., and Tiwari S. 2018. *Klebsiella* sp. confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*). Microbiological Research 206: 25–32.
35- Shool A., Shamshiri M.H., Akhgar A.R., and Esmaeilizadeh M. 2014. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and Pseudomonas fluorescence on vegetative growth of pistachio seedlings (*Pistacia vera* cv. Qazvini) under four different irrigation regimes. Iranian Jornal of Horticultural Science 45: 297-307. (In Persian with English abstract)
36- Sperber J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research 9: 778.
37- Timmusk S., Abd El-Daim I.A., Copolovici L., Tanilas T., Kannaste A., Behers L., Nevo E., and Seisenbaeva G., Stenström E., and Niinemets Ü. 2014. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. PLoS One 9: e96086.
38- Upadhyay S.K., Singh J.S., and Singh D.P. 2011. Exopolysaccharide-Producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. Pedosphere 21: 214–222.
39- USDA. 2019. World Agricultural Production. Foreign Agricultural Service. Circular Series WAP 5-19.
40- Westerman L.R. 1990. Soil Testing and Plant Analysis. Soil Science Society of America, INC. Madison, Wisconsin, USA.
41- Ziaeyan H., Farahbakhash A.R., Besharati H. and Joukar L. 2016. Interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and mycorrhiza on the growth and phosphorus uptake of Sorghum. Journal of Water and Soil 30(5): 1478-1488. (In Persian with English abstract)
42- Zabihi H.R., Savagebi G.R., Khavazi K., and Ganjali A. 2009. Response of wheat growth and yield to application of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of phosphorus fertilization. Iranian Jornal of Field Crops Research 1: 41-51. (In Persian with English abstract)

Journal of Water and Soil
Vol. 34, No. 5, Nov.-Dec. 2020, p. 1047-1059

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۵، آذر – دی ۱۳۹۹، ص. ۱۰۵۹-۱۰۴۷

Effect of Super Strains of *Bacillus* and *Staphylococcus* Isolated from Dryland Farming on Quantitative and Qualitative Indices of Wheat under Stress Condition

E. Shirmohammadi[1]- H.A. Alikhani[*2]- A.A. Pourbabaee[3]- H. Etesami[4]

Received: 11-11-2019
Accepted: 31-10-2020

Introduction: Stresses of drought, salinity and deficiency of nutrients especially phosphorus (P) are the most important challenges for wheat production in Iran. One of the ways to achieve more wheat yield production is increasing of this plants tolerance to stresses of water-deficit, salinity and deficiency of essential elements such as P; and/or alleviate destructive effects of these stresses. In this respect, use of PGPR can be useful. Research has shown that PGPR with multiple mechanisms reduces the negative effects of water-deficit and salinity stresses, and also increases the resistance of plants to these stresses, which ultimately leads to increase of plants growth. This study was designed and carried out to investigate the effect of three superior PGPR on qualitative and quantitative indices of wheat under water-deficit stress in saline soil.

Materials and Methods: The soil used in this experiment was collected from longitude of 49° 26' 25" E, latitude of 35° 52' 26" N and elevation of 1534 m (located in the Qazvin province of Iran) from depth of 0-30 cm of soil. According to the experimental design, 3.5 kg of soil with applying P-fertilizers treatments was filled to the pots. The factorial arrangement based on completely randomized design (CRD) was used in this study. The treatments were replicated three times. The first factor: soil water content at two levels including 80% and 55% FC (W80 and W55); the second factor: Bacterial inoculants at four levels including control or non-inoculated seeds with bacterium (B0), inoculated seeds with *Bacillus pumilus* strain W72 (B1), inoculated seeds with *B. safensis* strain W73 (B2), inoculated seeds with *Staphylococcus succinus* strain R12N2 (B3); and the third factor: P-fertilizers at six levels including control or non-treated plants with P-fertilizers (F0), and plants treated with (rock phosphate) RP - (F1), RP + 19 mg triple superphosphate (TSP) / kg of soil (F2), RP + 38 mg TSP / kg of soil (F3), RP + 57 mg TSP / kg of soil (F4), with 57 mg TSP / kg of soil (F5), generally there were 144 experimental units (pots). Also, 192 mg RP (containing 13.8% P2O5 or 6.13% P) was mixed per kg of soil in each of RP treatments. Statistical analysis of data was performed using SAS software and comparison of means was evaluated by using the Tukey's test (HSD) at $p < 0.05$ level. There were 5 plants in each pot and irrigated up to 80% FC with distilled water. With the beginning of stem elongation stage, water-deficit stress was applied and continued until the harvest. During the experiment, pots were kept in greenhouse at 25/20±2°C day/night temperatures and 16 h photoperiod with 23,000 lux light intensity. At the end of the experiment, plants height, fertile clusters, root dry weight /shoot dry weight ratio, total dry weight of plant, grain number, thousand grain weight, also, root, shoot and grain P-concentration were measured.

Results and Discussion: Generally, it can be said that the moisture level of W80 compared to W55 increased all of measured traits in wheat plant. Due to the unique properties of water and its role in biological and non-biological reactions, by reducing soil water content to near of the permanent wilting point (W55), water absorption by the plant hardly occurs. Therefore, the plant needs to consume more energy for water absorption or grow with less water than normal status, which these factors disturb the metabolism of cells and eventually decreases natural activity and growth plant. Also, it seems that under water stress condition, wheat plant by formation of "Rhizosheaths" around their own roots, enters to the defensive phase and by this strategy prevents expansion of their own rhizosphere. With attention to the special importance of the rhizosphere in the supply of water, nutrients and activity of microorganisms, as well as the effect of microorganisms secretion and root exudates on the solubility and availability of nutrients. Thus, it is reasonable that qualitative and quantitative traits of plants decrease by reduction of the rhizosphere diameter due to the water-deficit stress. There was no significant difference between application of rock phosphate and control (F0) for most of measured traits of soil and plant;

1- Assistant Professor, Department of Soli Science, Faculty of Water & Soil, University of Zabol, Zabol, Iran
2- Professor, Department of Soli Science, Faculty of Agricultural Engineering & Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(*- Corresponding Author Email: halikhan@ut.ac.ir)
3 and 4- Associate Professor and Assistant Professor, Department of Soli Science, Faculty of Agricultural Engineering & Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, respectively.
DOI: 10.22067/jsw.v34i5.83826

but, application of RP with bacterial treatments (B1 and B2 at W80 and B3 at both level of W55 and W80) compared to the control, often increased measured traits. Moreover, each level of TSP compared to the control, increased this trait frequently. Research indicate that RP can be used as a P-fertilizer, but its efficiency depends on its reactivity in the soil. There is ample evidence that RP has not enough efficiency in neutral and alkaline soils; but, it can be used as the P-fertilizer with proper efficiency in acidic soils or alkaline soil with application of PGPR. Basically, all of three bacterial treatments (B1, B2 and B3) at level of W80 and B3 treatment at level of W55, compared to control (without bacterial inoculation) improved qualitative and quantitative traits of plant. Research also shows that under stressful and non-stressful conditions, PGPR can improve plant growth by different strategies. However, this microorganism does not always improve plant growth under all conditions. It seems that this could be due to differences in genetic and function of bacteria and with conditions change, each bacterium may behave differently.

Conclusions: In general, for wheat cultivation that may get exposed to moisture stress at one or more stages of its growth (such as dry-farming of wheat), the use of B3 bacterial inoculant (*Staphylococcus succinus* strain R12N2) seems appropriate for crop management. Because in this study at both W80 (non-water-deficit stress) and W55 (severe water-deficit stress) levels of soil water content, B3 treatment increased qualitative and quantitative of wheat traits. In other words, because of the natural conditions of the dryland farming, the probability of precipitation is different; it seems that B3 treatment can increase wheat production under these conditions. However, the use of this bacterium as a biofertilizer for dryland wheat farming in Iran or other places of the world requires further testing and evaluation in dryland farms of that countries.

Keywords: Phosphate solubilizing bacteria (PSB), PGPR, Water deficit stress