Journal of Wheat Research
Volume 1. Issue 1. 2019

دانشگاه کردستان

نشریه پژوهش های گندم
دوره اول. شماره یکم. پاییز و زمستان ۱۳۹۷

اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم تحت شرایط تنش خشکی

داریوش صفری*[۱]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج‌فارس، بوشهر، ایران
پست الکترونیکی نویسنده مسئول dariush.s1987@gmail.com

دریافت: ۰۶/ ۱۱/ ۱۳۹۷ پذیرش: ۲۵/ ۱۲/ ۱۳۹۷

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم، رقم الموت، تحت شرایط تنش خشکی در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه رازی کرمانشاه اجرا شد. این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در چارچوب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. عامل نخست آبیاری در سه سطح (بر پایه ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) و عامل دوم باکتری‌های محرک رشد در چهار سطح (PGU19, PGU18, PGU17, PGU16) به همراه یک تیمار شاهد (بدون باکتری) بودند. تعداد ۲۰ جدایه از دید ویژگی‌های برجسته محرک رشدی و تحمل به خشکی در شرایط آزمایشگاه موردبررسی قرار گرفتند و از میان آن‌ها چهار جدایه که قابلیت ویژگی‌های محرک رشد و تحمل به خشکی بالاتری داشتند برای تلقیح انتخاب شدند. بذرها در زمان کاشت با باکتری‌های سودوموناس فلورسنت (غلظت $۱۰^{۸}$ سلول در هر گرم باکتری) تلقیح شدند. برآیندهای تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی همه فاکتورها بر صفات موردمطالعه معنی‌دار بود و اثرات متقابل آبیاری و باکتری بر صفات ارتفاع بوته، تعداد سنبله و تعداد دانه در سنبله معنی‌دار بود. با افزایش تنش خشکی عملکرد و اجزای عملکرد کاهش یافت. در همه سطوح تنش، جدایه‌های مختلف باکتری موجب افزایش همه صفات موردبررسی در سنجش با شاهد شدند ولی از تیمار ۸۰ میلی‌متر تبخیر از کلاس A به بعد کاربرد باکتری اثر معنی‌داری بر صفات مذکور نداشت.

کلیدواژگان: *سودوموناس‌های فلورسنت، تنش رطوبتی، الموت، عملکرد*

مقدمه

گندم از مهم‌ترین منابع غذایی جهان است که در کشورهای درحال‌توسعه ۷۰ تا ۹۰ درصد کالری و ۶۶ تا ۹۰ درصد کل پروتئین مصرفی در رژیم غذایی را تأمین می‌کند (Safa *et al*, 2011). طبق آمارهای ارائه‌شده میان سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۴ این محصول رتبه نخست را در میان تولیدات زراعی کشور به خود اختصاص داده و با تولید ۸۶۵۲۰۰۰ تن گندم در سال ۲۰۱۴ رتبه دهم را در میان کشورهای تولیدکننده این محصول در جهان دارد (FAO, 2014). خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی است (Abedi *et al*, 2010). اخیراً به نقش ریزجانداران در سازگاری گیاهان نسبت به تنش خشکی توجه بیشتری شده است (East, 2013). این راهبرد یعنی استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) جهت افزایش تحمل گیاهان زراعی در برابر تنش‌های غیرزنده ازجمله تنش خشکی نه‌تنها آسان، بلکه کم‌هزینه و اقتصادی است (Kim *et al*, 2013, yang *et al*, 2009). باکتری‌های محرک رشد از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم، افزایش عناصر معدنی خاک، کنترل عوامل بیماری‌زا و تولید هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و نیز سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شوند (Sifola *et al*, 2006). باکتری‌های محرک رشد گیاه سبب انحلال فسفات نامحلول در خاک شده و از طریق تولید هورمون‌های طبیعی محرک رشد گیاه، سبب گسترش ریشه‌ها و جذب بیشتر و بهتر آب و مواد غذایی توسط گیاه می‌شوند (Esitken *et al*, 2010). درعین‌حال باکتری‌های محرک رشد از طریق سنتز هورمون‌های محرک رشد مانند ایندول استیک اسید، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها، باعث افزایش رشد گیاه، درصد جوانه‌زنی بذرها، ریشه‌زایی و گسترش ریشه می‌شوند (Emtiazi, 2007). برهمکنش گیاه با ریزجانداران خاک شرایط خوبی را برای گیاه در برابر تنش کم‌آبی فراهم می‌سازد (Verma *et al*, 2016). باکتری‌های PGPR و قارچ مایکوریزا پتانسیل بالا و خوبی جهت تعدیل و تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه در برابر تنش خشکی داشته و به همین دلیل سبب افزایش بقای گیاه تحت شرایط سخت و متنوع محیطی می‌شوند (Marasco *et al*, 2012). محققان طی تحقیقی به‌منظور کنترل تنش خشکی در گندم با استفاده از باکتری‌های محرک رشد گزارش کردند که تلقیح باکتریایی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای میزان آسیب حاصل از تنش خشکی را در گیاه گندم کاهش داد. آن‌ها اشاره داشتند که باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای متعددی چه به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم باعث افزایش تحمل گیاه گندم در برابر تنش خشکی می‌شوند (Kasim *et al*, 2013)؛ بنابراین دلیل اهمیت تنش خشکی در تعیین سطح زیر کشت گندم و نقش باکتری‌های محرک رشد در تعدیل یا کاهش اثر خشکی پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر پیش تیمار چند جدایه از این باکتری‌ها در شرایط تنش خشکی بر برخی خصوصیات ازجمله عملکرد و اجزای عملکرد گندم رقم الموت اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر چهار جدایه از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر رشد و عملکرد گندم رقم الموت در شرایط تنش خشکی آزمایشی در شرایط مزرعه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. عامل اول سه سطح آبیاری (دور آبیاری بر پایه ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A) و عامل دوم تلقیح بذور با جدایه‌های سودوموناس در چهار سطح (PGU16، PGU17، PGU18 و PGU19) به همراه یک تیمار شاهد (بدون باکتری) بود. در این تحقیق از ۲۰ نمونه خاک فرا ریشه‌ای گیاه گندم از مناطق مختلف استان کرمانشاه ۲۰ جدایه *Pseudomonas* جداسازی و به گونه *P. fluorescens* تفکیک شدند. جدایه‌ها ازنظر ویژگی‌های مهم محرک رشدی گیاه شامل تولید آنزیم ACC دآمیناز، تولید سیانید هیدروژن، سیدروفور، توانایی حلالیت فسفات معدنی، تولید هورمون رشد (IAA) و تحمل به خشکی در شرایط آزمایشگاه موردبررسی قرار گرفتند. چهار جدایه که قابلیت ویژگی‌های محرک رشد و تحمل به خشکی بالاتری داشتند برای تلقیح انتخاب شدند. قبل از اجرای آزمایش به‌منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل

آزمایش، ۱۰ نمونه تصادفی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک تهیه و مورد تجزیه فیزیکی و شیمیایی قرار گرفت (جدول ۱). آب مورداستفاده برای آبیاری مزرعه با pH حدود ۷/۵ و هدایت الکتریکی برابر با ۰/۵ دسی-زیمنس بر متر، کیفیت مطلوبی برای استفاده داشت. زمین محل اجرای آزمایش در طول سال قبل آیش بود. عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم، مصرف کودهای شیمیایی (بر پایه نتایج آزمون خاک و توصیه کودی موسسه تحقیقات کرمانشاه به‌صورت ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع اوره و ۷۰ کیلوگرم در هکتار فسفر خالص از منبع سوپر فسفات تریپل)، دیسک، ماله و ایجاد فاروها (به فاصله‌های ۵۰ سانتی‌متر) به نحو مطلوب، قبل از کاشت انجام شد و سپس نقشه آزمایش روی زمین پیاده شد. هر کرت آزمایشی دارای ۱۰ خط کاشت به طول ۵ متر با فاصله ۲۰ سانتی‌متر و تراکم ۴۰۰ بوته در مترمربع بود. خطوط اول و آخر و ۵۰ سانتی‌متر از ابتدا و انتهای هر کرت به‌عنوان حاشیه در نظر گرفته شد و از ۸ خط وسط برای اندازه‌گیری صفات مورد آزمون استفاده شد. میان هر یک از کرت‌های فرعی یک پشته و میان کرت‌های اصلی دو پشته به‌صورت نکاشت در نظر گرفته شد و فاصله میان تکرارها نیز سه متر تعیین شد. عملیات کاشت در آبان ماه ۱۳۹۶ انجام شد. تراکم جمعیت باکتری در همه مایه تلقیح‌ها 10^8 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بود. برای تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد از جنس‌های سودوموناس فلورسنت استفاده و هر یک از آن‌ها با نسبت برابر در آزمایشگاه آب‌وخاک، مخلوط و به روش بذر مال مورداستفاده قرار گرفتند. در این شرایط پس از محاسبه میزان بذر برای هر تیمار و ریختن آن‌ها در داخل یک کیسه پلی‌اتیلنی، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر صمغ عربی به آن‌ها اضافه و برای مدت ۴۰ ثانیه به‌شدت تکان داده شد تا سطح کلیه بذرها به‌طور یکنواخت چسبناک شود. پس‌ازآن مقدار ۲۰ گرم از مایهٔ تلقیح به بذرهای چسبناک اضافه شد و پس از یک دقیقه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یکنواخت مایهٔ تلقیح به بذرها، بذرهای آغشته به مایهٔ تلقیح روی ورقهٔ آلومینیومی تمیز در زیر سایه پهن شد تا بذرها خشک شوند. سپس به‌سرعت نسبت به کاشت بذرها اقدام شد. در این تحقیق علاوه بر مصرف کود نیتروژن به‌صورت پایه، در دو مرحله (آغاز به ساقه رفتن و آغاز سنبله دهی) نیز به‌صورت سرک هر یک به میزان ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص مصرف شد. روش آبیاری به‌صورت جوی و پشته‌ای انجام و حجم آب واردشده به کرت‌ها با استفاده از کنتور تعیین شد. برداشت دانه در مرحله رسیدگی کامل دانه‌ها در تیرماه انجام پذیرفت. برای محاسبهٔ تعداد سنبله در مترمربع، مساحت یک مترمربع از هر کرت به‌طور تصادفی انتخاب و تعداد سنبله‌ها شمارش و از آن‌ها میانگین گرفته شد. برای اندازه‌گیری تعداد دانه در سنبله، از هر کرت ۲۰ سنبله به‌طور تصادفی انتخاب و پس از بوجاری و شمارش تعداد بذرها، متوسط تعداد دانه در سنبله برای هر واحد آزمایش مشخص شد. وزن هزار دانه نیز از شمارش و توزین چهار نمونه تصادفی ۱۰۰ بذری در هر کرت و ضرب کردن میانگین آن‌ها در عدد ۱۰ به دست آمد. برای عملکرد زیست‌توده، پس از حذف حاشیه، مساحت دو مترمربع از هر کرت کف‌بر، خشک و توزین و به کیلوگرم در هکتار تبدیل شد. نمونه‌های حاصل از این بخش پس از جدا کردن دانه‌ها و توزین آن‌ها به کیلوگرم در هکتار تبدیل و عملکرد دانه در رطوبت ۱۲ درصد محاسبه شد و شاخص برداشت نیز از تقسیم عملکرد دانه بر عملکرد زیست‌توده برحسب درصد به دست آمد. داده‌های به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار آماری SAS Ver. 9.1 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD (در سطح احتمال ۵ درصد) مقایسه شدند.

جدول ۱ – خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 1 - Physical and Chemical Properties of the experimental farm soil

Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	EC ($ds.m^{-1}$)	N (%)	P ($mg.kg^{-1}$)	K ($mg.kg^{-1}$)	Fe ($mg.kg^{-1}$)	Zn ($mg.kg^{-1}$)	Cu ($mg.kg^{-1}$)
62	24	15	1.5	0.08	11	350	7.5	1	0.8

ویژگی‌های جدایه‌های موردبررسی در جدول (شماره ۲) آورده شده است. سه جدایه از چهار جدایه موردبررسی دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز بودند و فعالیت آن‌ها از ۳/۲۵۰ تا ۵/۳۰۰ میکرومول آلفا کتوبوتیرات در میلی‌گرم پروتئین در ساعت متغیر بود و بیشترین اثر بر حل‌کنندگی فسفر مربوط به جدایه PGU18 بود، کلیه جدایه‌های مورد آزمایش دارای توان تولید سیانید هیدروژن، سیدروفور و IAA بودند (جدول ۲) .

جدول ۲- فعالیت ACC deaminase، توان انحلال سازی منابع نامحلول فسفر، توان تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن و IAA جدایه‌های موردمطالعه

Table 2 – ACC deaminase activity, solubilization potential of phosphorus insoluble sources, siderophore production potential, hydrogen cyanide and IAA of studied strains.

Desired traits	strains			
	PGU16	PGU17	PGU18	PGU19
ACCdeaminase activity[1]	3.250	4.135	5.300	3.755
Solubility insoluble phosphate (mg/l)	7.5	8.9	9.5	8.2
siderophore production potential	+	+	+	+
hydrogen cyanide	+	+	+	+
The ability to produce IAA	+	+	+	+

1- میکرومول آلفا کتوبوتیرات در میلی‌گرم پروتئین در ساعت

تعیین میزان تحمل به خشکی جدایه‌های ریزوسفری

برای تعیین میزان تحمل باکتری به سطوح مختلف خشکی از روش (Burlyn E. Michel & Merrill R. Kaufmann 1973) استفاده‌شده است. در این روش از ماده (PEG) برای تأمین پتانسیل آبی موردنیاز برحسب بار (Bar) در محیط کشت YMB استفاده گردید (Zahran, 1999). پتانسیل آبی منفی صفر، ۵-، ۱۰- و ۱۵- بار به ترتیب با افزودن مقادیر صفر، ۱۲/۸، ۱۶/۲ و ۲۰/۶ گرم از ماده PEG در هر لیتر از محیط کشت YMB مطابق فرمول زیر ایجاد شد (Salardini, 1987).

Water potential (wp)= -(1018e – 2)c – (1.18e – 4)$c^8$2 + (2.67e – 4)ct + (8.39e – 7)$c^8$2T

(T= دمای کلوین، C= غلظت پلی‌اتیلن گلیکول، t= دمای محیط، e= ضریب ثابت، wp= پتانسیل آبی). محیط کشت حاوی PEG+YMB در ظروف 100 ml توزیع و سپس درون اتوکلاو استریل شد. آنگاه پس از تلقیح در شرایط استریل با جدایه موردنظر به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر دورانی در دمای ۲۹°c قرار گرفتند. پس از این مدت در هر نمونه مقدار دانسیته نوری (OD) در طول‌موج ^{nm}۵۷۰ قرائت گردید. بدیهی است افزایش مقادیر PEG موجب افزایش پتانسیل آبی و کاهش رشد باکتری شده و لذا مقدار OD اندازه‌گیری شده کمتر خواهد بود. نتایج حاصله در نرم‌افزار Excel جمع‌آوری و اقدام به تهیه میانگین و گروه‌بندی شدند. درجه‌بندی جدایه‌ها به کاملاً متحمل، متحمل، حساس و کاملاً حساس بر پایه میزان OD آن ها در محیط کشت PEG+YMB در پتانسیل آبی ۱۵- بار می باشد (جدول ۳).

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی رژیم آبیاری و باکتری‌ها و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر صفت ارتفاع بوته معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۳- میزان تحمل به خشکی جدایه‌های ریزوسفری

Table 3. Drought tolerance of rhizosphere isolates

سویه	OD	Drought Tolerance
-	O.D < 0.3	Compeletly Sensitive
PGU19 , PGU16	O.D < 0.3- 0.4	Sensitive
PGU17	O.D < 0.4 – 0.5	Tolerant
PGU18	O.D > 0.5	Compeletly Tolerant

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر آبیاری و باکتری‌های محرک رشد بر صفات گندم الموت

Table 4. Analysis of variance of the effect of irrigation and PGPR on almote wheat characters

S.O.V	Df	Plant height	Pedunle length	Spike lenght	No. of spike	No. of grain per spike	Grain yield	Biologic yield	1000-grain Weight
Block	3	351.6**	14.51**	35.57**	1851.57ns	172.08**	1.97ns	592994.98**	527.94**
Irrigation	2	2704.87**	408.08**	43.23**	247440.49**	598.58**	238.72**	61395429.6**	575.88**
Bacteria	4	163.55**	3.60**	2.49**	4696.61**	28.15**	25.66**	619595.19**	14.96**
Irrigation × Bacteria	8	25.85**	1.73ns	0.83ns	416.75**	0.55**	1.20ns	80131.70ns	1.78ns
Error	42	31.34	0.62	0.86	807.69	23.68	0.79	90791.17	3.79
C.V%		6.78	4.56	9.87	6.31	12.30	4.25	3.67	6.01

ns، ** و** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns,* and ** Not – significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

مقایسه میانگین اثرات متقابل آبیاری در باکتری نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی از ارتفاع بوته کاسته شد و در دور آبیاری ۱۶۰ میلی‌متر به کمترین مقدار خود (۷۰ cm) رسید درعین‌حال کاربرد باکتری‌های محرک رشد در همه سطوح تنش موجب افزایش این صفت نسبت به شاهد شد ولی این اختلاف تنها در دور ۸۰ میلی‌متر با باکتری PGU18 معنی‌دار بود و در سطوح دیگر تنش کاربرد باکتری‌ها با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشتر تنش‌های محیطی تولید مواد فتوسنتزی را محدود کرده که همراه با تأثیر منفی بر سایر متابولیسم‌های گیاه، منجر به کاهش رشد گیاه می‌شوند (Rasoli sadighiany, 2006). Hasnainand Sabri (۲۰۰۵) گزارش کردند که تلقیح گندم با باکتری محرک رشد *Pseudomonas* sp. تحت شرایط تنش، از طریق کاهش جذب یون‌های سمی و افزایش تولید هورمون اکسین موجب تحریک رشد گیاه می‌گردد. Singh و همکاران (۲۰۰۴) بیان داشتند کودهای زیستی تثبیت‌کننده فسفات از طریق سنتز ویتامین‌های مختلف و هورمون‌های محرک رشد نظیر اکسین، سیتوکنین و جیبرلین موجب بهبود رشد رویشی می‌شوند.

طول پدانکل

نتایج این آزمایش نشان داد که اثرات اصلی فاکتورها (رژیم آبیاری و باکتری) بر صفت طول پدانکل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر اصلی آبیاری نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی از ارتفاع بوته کاسته شد و در دور آبیاری ۱۶۰ میلی‌متر به کمترین مقدار خود (۱۲/۶۸) رسید. درعین‌حال کاربرد باکتری‌های محرک رشد به‌غیراز جدایه PGU16 موجب افزایش این صفت نسبت به شاهد شدند (جدول ۵).

مقایسه میانگین اثرات متقابل آبیاری در باکتری نشان داد که بیشترین طول پدانکل در تیمار آبیاری ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A و تلقیح با باکتری PGU19 بود (جدول ۶).

تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد موجب جذب عناصر غذایی توسط گیاه و افزایش ارتفاع بوته و طول پدانکل می‌شود (Astaraei and Ivani, 2008). گزارش‌ها نشان می‌دهند که طول پدانکل گندم دوروم که

ارتباط تنگاتنگی با ارتفاع بوته دارد، در شرایط کمبود رطوبت کاهش می‌یابد (Cox and Jolliff, 2007).

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های اثر آبیاری و باکتری‌های محرک رشد بر صفات گندم الموت

Table 5. Mean comparison of the effect of irrigation and PGPR on Alamute wheat characters

Factor	Plant height (cm)	Pedunle length (cm)	Spike lenght (Cm)	No. of spike (m^2)	No. of grain per spike	Grain yield (Kg/ha)	Biologic yield (Kg/ha)	1000-grain Weight (g)
Irrigation								
80 mm	95 a	21.69 a	11.05 a	552.62 a	45.32 a	2014.45 a	10001.2 a	37.87 a
120 mm	80.37 b	17.75 b	9.06 b	465.70 b	38.88 b	2010.49 b	8122 b	32.14 b
160 mm	72.02 c	12.68 c	8.18 b	331.82 c	34.44 c	2007.56 c	6500.2 c	27.14 c
PGPR								
Non-inoculation	78.67 b	16.37 c	8.89 a	417.59 b	37.29 b	2008.55 d	7825 b	30.92 b
PGU16	81.25 b	17.05 bc	9.17 a	453.24 a	39 ab	2010.52 c	8238.1 a	32.06 ab
PGU17	82.87 ab	17.58 ab	9.43 a	456.81 a	39.87 ab	2011.71 ab	8306 a	32.58 ab
PGU18	88.50 a	18.17 a	10.11 a	471.38 a	41.44 a	2012.41 a	8427.4 a	34.02 a
PGU19	81.04 b	17.71 ab	9.56 a	451.22 a	40.12 a	2011 bc	8242.5 a	32.33 ab

میانگین‌هایی که در هر ستون و برای هر عامل که دارای حروف مشابه می‌باشند بر پایه آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means, in each column and for each factor, followed with similar letter(s) are not significantly different at the %5 probability level- using Least Significant Differences Test.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف خشکی و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات گندم

Table 6. Means comparison of effects of various irrigation levels and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on some characteristics of wheat

Irrigation	(PGPR)	Plant height (cm)	Pedunle length (cm)	Spike lenght (Cm)	No. of spike (m^2)	No. of grain per spike	Grain yield (Kg/ha)	Biologic yield (Kg/ha)	1000-grain Weight (g)
80 mm	Non-inoculation	88bcd	21.04b	9.97cde	512.8bc	42.75abcde	2011.5d	9350b	35.75 bc
	PGU16	94.5b	21.5 ab	10.56bcd	545.3ab	45abcd	2013.75 bc	10120.5a	37b
	PGU17	94b	21.43ab	10.78 bc	565.05a	45.25abc	2015.75 a	10165.5a	38.05b
	PGU18	105.5a	22.09ab	12.50 a	580a	47.33a	2016.5 a	10250a	40.77a
	PGU19	93bc	22.39 a	11.44 ab	560a	46.25ab	2014.75 ab	10120a	37.75b
120 mm	Non-inoculation	78efg	16.06 e	8.86 ef	429e	37.06defg	2008 ef	7912.5c	31de
	PGU16	78.25efg	17.16 d	8.87 ef	484.03cd	38cdefg	2010.66 d	8137.5c	32.16d
	PGU17	81.62fg	18.53 c	9.23 def	466.2de	39.37cdefg	2011.10 d	8165 c	32.44d
	PGU18	85fg	18.98 c	9.36 ef	489.1cd	40.91abcdef	2012 cd	8244.75c	33cd
	PGU19	79g	18.02 cd	9 ef	460.1de	39.07bcdefg	2010.72 d	8150.25c	32.11d
160 mm	Non-inoculation	70g	12 g	7.84f	311.03f	32.06g	2006.17 f	6212.5d	26f
	PGU16	71g	12.48fg	8.08f	330.39f	34.02fg	2007.14 ef	6456.25d	27.02f
	PGU17	73fg	12.78 fg	8.3 f	339.19f	35efg	2008.27 e	6587.5d	27.24f
	PGU18	75fg	13.43 f	8.45 f	345f	36.06efg	2008.72 e	6787.5d	28.29ef
	PGU19	71.12g	12.70 fg	8.23f	333.48f	35.02efg	2007.52 ef	6457.25d	27.14f

میانگین‌هایی که در هر ستون و برای هر عامل که دارای حروف مشابه می‌باشند بر پایه آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means, in each column and for each factor, followed with similar letter(s) are not significantly different at the %5 probability level- using Least Significant Differences Test

طول سنبله

نتایج تجزیه واریانس طول سنبله نشان داد که رژیم‌های آبیاری و کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر طول سنبله در سطح یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی از طول سنبله کاسته شد و در دور آبیاری ۱۶۰ میلی‌متر به کمترین میزان خود (۸/۱۸) رسید و روند مشابهی نیز در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در

مقایسه با تلقیح بذر با باکتری مشاهده گردید (جدول ۵). مقایسه میانگین‌ها به روش LSD نشان داد که در تیمار ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A تلقیح با باکتری-های PGU18 و PGU19 بیشترین طول سنبله را دارا بود. طول سنبله از اجزای مهم دخیل در عملکرد است، به‌طوری‌که سنبله‌های بلندتر دارای تعداد سنبلچه‌های بیشتر و درنتیجه تعداد دانه بیشتری هستند. نتایج این پژوهش با تحقیق Sadat *et al* (2010) مطابقت داشت. این محققین نیز در مطالعات خود در مورد اثر باکتری‌های محرک رشد بر گندم، به اثر محرک رشدی این باکتری‌ها بر طول سنبله گندم پی بردند. به نظر می‌رسد که این میکروارگانیسم‌ها با تولید هورمون‌های بیشتر مانند جیبرلین و اکسین نقش مهمی در افزایش طول سنبله دارند. محققان گزارش کردند که کاربرد کودهای زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش ارتفاع و طول سنبله در گیاه گندم شد (Pang and Letey, 2009). محققان طی مطالعه‌ای گزارش کردند که صفات ارتفاع بوته و وزن هزار دانه در شرایط مطلوب رطوبتی و صفات طول سنبله، تعداد سنبلچه در سنبله و وزن هزار دانه را در شرایط تنش خشکی، به‌عنوان صفات اثرگذار بر عملکرد دانه می‌باشند (Hosseinzade *et al*, 2009).

تعداد دانه در سنبله

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات آبیاری و باکتری‌های محرک رشد و اثر آن‌ها بر تعداد دانه در سنبله معنی‌دار بود نتایج آزمایش بیانگر آن بود که اثر باکتری-های محرک رشد بر تعداد دانه در سنبله تأثیر معنی‌داری داشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد دانه در سنبله در تیمار ۸۰ میلی‌متر تبخیر و تلقیح با باکتری PGU18 (۴۷/۳۳) و کمترین در تیمار ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر و عدم کاربرد باکتری (۳۲/۰۶) مشاهده شد. محققان اعلام نمودند که تعداد دانه در سنبله در مرحله گرده‌افشانی با تنش خشکی کاهش یافت (Gupta et al, 2001). با افزایش فراهمی قابلیت انحلال عناصر نامحلول توسط باکتری‌های محرک رشد، تعداد دانه در سنبله و نیز وزن دانه‌ها افزایش می‌یابد (Noormohammadi *et al*. 1997). محققین گزارش کردند که کودهای زیستی سبب طولانی شدن دوره پر شدن دانه در گندم و درنتیجه افزایش تعداد دانه در سنبله می‌شود (Al-Karaki et al, 2004).

تعداد سنبله در واحد سطح

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای آبیاری و باکتری و نیز اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر تعداد سنبله در واحد سطح معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری و اعمال باکتری بر این صفت نشان داد که با افزایش شدت تنش تعداد سنبله در واحد سطح کاهش یافت، ولی با این افزایش تنش، کاربرد باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با عدم کاربرد آن‌ها به‌طور معنی‌داری در سطوح ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A سبب افزایش تعداد سنبله در واحد سطح شد و در تیمار ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A کاربرد باکتری‌ها نسبت با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. به‌طوری‌که می‌توان بیشترین تعداد سنبله در واحد سطح به تعداد ۵۸۰ را در تیمار آبیاری ۸۰ میلی‌متر تبخیر با کاربرد باکتری PGU18 و کمترین به تعداد ۳۱۱/۰۳ را در تیمار آبیاری ۱۶۰ میلی-متر تبخیر با عدم کاربرد باکتری مشاهده کرد. محققان طی آزمایشی گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش تعداد سنبله در مترمربع و میزان گلدهی در شرایط تنش خشکی شدند آنان هم‌چنین این اثرات مثبت کاربرد باکتری‌های محرک رشد را به افزایش جذب آب و مواد غذایی به‌واسطه توسعه بیشتر ریشه‌ها و همچنین انجام فرآیند نیتروژن و فسفر نسبت دادند Pakdal *et al*, (2011). محققان پیشنهاد دادند که جهت افزایش عملکرد در شرایط خشکی ابتدا باید تعداد سنبله در واحد سطح را افزایش داد (Nourmand *et al*. 2001).

عملکرد بیولوژیک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی و باکتری بر عملکرد بیولوژیک معنی‌دار بود ولی اثر متقابل آن‌ها بر این صفت غیر معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی عملکرد بیولوژیک کاهش یافت و با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت (جدول ۵). تنش خشکی باعث کاهش عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی (بیوماس گیاهی) در گیاهان زراعی ازجمله

گندم می‌شود (Panneerselvam *et al.* 2007). در شرایط تنش خشکی، پیری زودرس اندام‌های فتوسنتز کننده و هم‌چنین کاهش فتوسنتز گیاه باعث کاهش زیست‌توده و عملکرد بیولوژیکی می‌شود (Pireivatlou *et al*, 2010).

وزن هزار دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی آبیاری و باکتری بر صفت وزن هزار دانه معنی‌دار بود و اثرات متقابل آن‌ها بر این صفت معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی خشکی و باکتری نشان داد که با افزایش تنش خشکی وزن هزار دانه کاهش یافت هم‌چنین جدایه‌های موردبررسی در این پژوهش توانستند وزن هزار دانه را افزایش دهند ولی این افزایش در تمامی این جدایه‌ها یکسان نبوده ولی در یک گروه آماری قرار گرفتند و تیمار تلقیح شده با جدایه PGU18 بیشترین وزن هزار دانه را دارا بود و با تیمار عدم کاربرد باکتری اختلاف معنی‌داری داشت. گزارش‌شده است با تلقیح بذر با ریز جانداران حل‌کننده فسفات، وزن دانه در گندم افزایش‌یافته است (Zaidi and Khan. 2005). Idris (۲۰۰۳) نیز اثر مثبت کودهای زیستی را بر وزن هزار دانه گندم تأیید کرده است.

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده آبیاری و باکتری بر روی عملکرد دانه در سطح یک درصد معنی‌دار است. همان‌گونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول ۵) مشاهده می‌شود، با افزایش تنش خشکی عملکرد دانه کاهش یافت و از طرفی تلقیح گندم با جدایه‌های مورداستفاده باعث تعدیل اثر تنش خشکی گردیده و عملکرد دانه را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داده است. نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در همه سطوح تنش خشکی باکتری‌ها باعث افزایش عملکرد دانه نسبت با شاهد شدند و این اختلاف در همه سطوح تنش معنی‌دار بود (جدول ۶). به همین دلیل آبیاری و باکتری‌ها به‌واسطه اثر بر اجزای عملکرد، نهایتاً بر عملکرد دانه هم تأثیرگذار بوده‌اند. Jarak و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که تلقیح ترکیبی گیاه ذرت با باکتری‌های P. *fluorescens* ، *Bacillus* و *Azotobacter chroococcum* باعث افزایش معنی‌دار عملکرد گیاه شد. تنش‌هایی که سرعت رشد گندم را در مراحل ساقه‌دهی و خوشه‌دهی کاهش می‌دهند، منجر به کاهش بیشتر عملکرد دانه می‌شوند ((Fredrick *et al*. 2011). محققین گزارش کردند که باکتری‌های حاوی آنزیم ACC دآمیناز عملکرد دانه گندم را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. آن‌ها تمامی این اثرات را به کاهش سطح اتیلن در گیاه در اثر تلقیح با باکتری واجد ACC دآمیناز نسبت دادند و اعلام نمودند که فعالیت آنزیم در جدایه‌های مختلف متفاوت است (Wagar *et al*, 2004).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش خشکی همه اجزای عملکرد را به‌صورت معنی‌داری کاهش داد، یافته‌های تحقیق نشان‌دهنده آثار مطلوب باکتری‌های محرک رشد بر صفات زراعی و عملکردی گندم رقم الموت به‌ویژه تحت شرایط تنش خشکی بود. در این راستا استفاده از باکتری‌های محرک رشد در بهینه‌سازی مصرف کودهای شیمیایی جهت نیل به کشاورزی پایدار حائز اهمیت بوده و ضمن افزایش عملکرد و تأکید بر کاهش اثرات منفی زیست‌محیطی کودهای شیمیایی، می‌تواند جایگزین مناسبی برای آن‌ها باشد؛ از طرف دیگر، انتخاب ارقام گندم مقاوم به خشکی از مواردی است که در کشاورزی می‌بایستی موردتوجه واقع شود. سودوموناس-های فلورسنت محرک رشد گیاه و متحمل به خشکی نیز بازده گندم را افزایش می‌دهند. این تکنولوژی، ارزان و ساده بوده و به‌راحتی در دسترس می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان یک مدیریت راهبردی برای کشاورزانی که با محیط‌های ناسازگار مواجه می‌باشند، مدنظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

از ریاست محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه و همچنین ریاست محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی که به اجرای این پژوهش کمک کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

Reference

Al-Karaki, G., McMichael, B. Z. A. K. J., and Zak, J. 2004. Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. Mycorrhiza, 14(4), 263-269.

Abedi, T., Pakniyat, H., 2010. Antioxidantenzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape *(Brassica napus* L.*)*. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. 46 (1), 27–34.

Astaraei, A. R. and Ivani, R. 2008. Effect of organic sources as foliar spray and root media on nutrition of cowpea plant. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences 3: 352-356.

Cox, W. J. and Jolliff, G. D. 2007. Growth and yield of durum wheat under soil water deficits.

Agronomy Journal, 78: 226-230.

East, R. 2013. Microbiome: Soil science comes to life. Nature 50: S18-9.

El-Behairy, U. A., Sorlini, C., Cherif, A. 2012. A drought resistance promoting microbiome is selected by root system under desert farming. Public library of Science, 7: 1-14.

Emtiazi, G. H. 2007. Soil microbiology. Mani Publication, Iran. pp: 79-107. (In Persian).

Esitken, A., Hilal, Y., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Tyran, M. and Gunes, A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. Scientia Horticulturae, 124: 62-66.

Fredrick, J. R., Camp, C. and R. Bauer. 2011**.** Crop ecology, production and management: Drought-stress effects on branch and main stem seed yield and yield components of determinate soybean. Crop Science, 41: 759-763.

Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free – living bacteria. Canadian Journal of Microbiology.41: 109 –117.

Food and Agriculture Organization. 2014. http://www.fao.org/faostat.

Gupta, N.K., Gupta, S., and.Kumar**,** A. 2001. Effect of water stress on physiological attribute and their relationship with growth and yield of wheat cultivars and different stages. Agronomy and Crop Science, 186(1): 55-62.

Hasnain, S, and Sabri, A.N. 2005. Growth stimulation of *Triticum aestvum* seedlings under Cr-stress by nonrhizospheric Pseudomonas strains. In: Abstract the Book of 7 Int. Symp. On Nitrogen Fixation with Non legumes. Faisalabad, Pakistan, pp.36.

Hosseinzade A, Khezri Afravi M, Meri ST, Peygambari SA. 2009. Evaluation Durum wheat different lines in stress and non-stress water conditions. Iranian of Crop Science, 3: (40) 161- 169.

Idris, M. 2003. Effect of integrated use of mineral, organic N and Azotobacter on the yield, yield components and N-nutrition of wheat (*Triticum aestivum*). Pakistan Journal of Biological Sciences, 6(6): 539-543.

Jarak, M., Mrkovački, N., Bjelić, D., Jošić, D., Hajnal-Jafari, T. and Stamenov, D. 2012. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on maize in greenhouse andfield trial. African Journal of Microbiology Research, 6 (27): 5683-5690.

Kasim, W. A., Osman, M. E., Omar, M. N., Abd El-Daim, I. A., Abd El-Daim, I. A., Bejai, S. and Meijer, J. 2013. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth- Promoting Bacteria. Journal of Plant Growth Regulation, 32 (1): 122–130.

Kim, Y. C., Glick, B. R., Bashan, Y., & Ryu, C. M. 2012. Enhancement of plant drought tolerance by microbes. In *Plant responses to drought stress* (pp. 383-413). Springer, Berlin, Heidelberg.

Marasco, R., Rolli, E., Ettoumi, B., Vigani, G., Mapelli, F., Borin, S and Zocchi, G. 2012. A drought resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming. Public library of Science, 7(10), e48479.

Noormohammadi, Gh., Siadat, A. and Kashani, A. 1997. Cereal cultivation. Shahid Chamran University of Ahvaz Press, Ahvaz, Iran. 446 p. (In Persian).

Nourmand, F., Rostami, M.A., Ghannadha, M. R. 2001. A study of morpho-physiological traits of bread wheat (*Triticum aestivum* L.), relationship with grain yield under normal and drought stress conditions. Iranian Journal Agricultural Science. 32, 785-794. (In Persian).

Pakdal, M. Maleki, AS Nourmohammadi, Gh. Fazel, Sh. 2011. Effect of Azotobacter and Pseudomonas bacteria on yield and yield components of bread wheat under normal conditions and drought stress. Journal of Agricultural Research, 3 (11): 107-121. (In Persian).

Pang, X. P. and Letey, J. 2009. Organic farming: Challenge of timing nitrogen availability to crop nitrogen reqirements. Soil Science Society of American Journal 64: 247-253.

Panneerselvam, R., Jaleel, C.A., Somasundaram, R., Sridharan, R. and Gomathinayagam, M. 2007**.** Carbohydrate metabolism in *Dioscorea esculenta* (Lour.) Burk. Tubers and *Curcuma longa* L. rhizomes during two phases of dormancy, Colloids Surfaces B Biointerfaces 59 (1): 59- 66.

Pireivatlou, A. S., Masjedlou, B. D., & Aliyev, R. T. 2010. Evaluation of yield potential and stress adaptive trait in wheat genotypes under post anthesis drought stress conditions. African Journal of Agricultural Research, 5(20), 2829-2836.

Rasoli sadighiany, M H, khavazi, K. Rahimian, H. Melkotti, M J. Asadi rahmani, H. 2006. Evaluation of the inherent potential of Pseudomonas fluorescent in the rhizosphere of wheat. Journal of Water and Soil Science. (20): 134-143. (In Persian).

Safa, M., Samarasinghe, S., Mohssen, M. 2011. A field study of energy consumption in wheat production in Canterbury, New Zealand. Energy Conversion and Management, 52(7), 2526-2532.

Sadat, A., Savaghebi, F.G.R. Rejali, F. Farahbakhsh, M. Khavazi, K and Shirmardi, M. 2010. Effects of some *Arbuscular Mycorrhiza*l Fungi and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on the growth and yield indices of two wheat varieties in a saline soil. Journal of Water and Soil. 24(1): 53-62.

Salardini, As, a. 1987. Soil Fertility - University of Tehran. (In Persian).

Sifola, M. I. and Barbieri, G. 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil under different levels of nitrogen in the field. Scientic Horticulturae, 108: 408-413.

Singh, R., R.K, Behl. K.P., Singh, P. Jain and N. Narula. 2004. Performance and gene effects for wheat yield under inoculation of arbuscular mycorrhiza fungi and *Azotobacter chroococcum*. Haryana Agricultural University. Hisar, India. Plant and Soil Environment, 50: 409-415.

Verma, P., Saxena, R. and Tomar, R. S. 2016. Rhizobacteria: A Promising Tool for Drought Tolerance in Crop Plants. International Journal of Pharma and Biosciences, 116-125.

Wagar,A.,B.Shahroona, Z. A. Zahir andM.Arshad. 2004. Inoculation with Acc deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat. Pakistan Journal of Agricultural sciences, 41: 119-124.

Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C. M. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends Plant Science, 14: 1–4.

Zahran, H. H. 1999. *Rhizobium*-Legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 63 (4): 968-989.

Zaidi, A. and M. S. Khan. 2005. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on growth, yield, and nutrient uptake of wheat. Journal of Plant Nutrition, 28: 2079–2092.

Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) applying on yield and yield components of Almute wheat under drought stress condition

Dariush Safari *[1]

1. M. Sc. of Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of the Persian Gulf, Bushehr, Iran

Contact: dariush.s1987@gmail.com

Received: 2019/ 01/ 26 **Accepted:** 2019/ 03/ 16

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of application of growth stimulating bacteria on yield and yield components of wheat, Alamut cultivar under drought stress conditions in a research farm of Razi University of Kermanshah in the period of 2018-2017. Experimental design of this research was factorial based on randomized complete blocks design with four replications. First factor included of Irrigation at three levels (based on 80, 120 and 160 mm evaporation from class A evaporation pan) and second factor included of growth promoting bacteria in four levels (PGU19, PGU18, PGU17, PGU16) with a control (no bacteria). 20 isolates were studied in terms of the important characteristics of plant growth promoter and drought tolerance in laboratory conditions. Four strains which were superior to others based on growth-promoting properties and drought tolerance were selected. At planting time, seeds were inoculated with suspension of selected Pseudomonas strains (108 CFU/ml). The results of variance analysis showed that the main effects of all factors on the studied traits were significant and the interaction effects of bacteria and irrigation were significant on plant height, number of spikes and number of seeds per spike. With increasing drought stress, yield and yield components decreased. Different bacterial isolates increased all traits compared to control at all levels of stress, but after 80 mm evaporation from class A, bacterial application had no significant effect on mentioned traits.

Key words: *Fluorescent Pseudomonads, Moisture Stress, Alamute, yield*