Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology

https://sbj.areeo.ac.ir/

Research article

Effect of biopriming with plant growth-promoting bacteria on seed germination indices of wheat under salinity stress

Ahmad Asgharzadeh*[1], Kobra Saghafi[2] and Bahman Khoshru[3*]

1- Associate Professor of Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj 31785-311, Iran. a_asgharzadeh_2000@yahoo.com
2- Researcher of Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Karaj 31785-311, Iran.,Organization (AREEO) kobra_saghafi@yahoo.com
3- Postdoctoral Researcher, Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Karaj 31785-311, Iran.,Extension Organization (AREEO) bahmankhoshru@yahoo.com

Article Info

Received:2025-02-01
Accepted: 2025-05-13

Keywords: Combined inoculation, growth promotion, seedling vigor, Pseudomonas, synergy
Corresponding author's email: a_asgharzadeh_2000@yahoo.com & bahmankhoshru@yahoo.com
DOI: 10.22092/SBJ.2025.368422.276

Extended Abstract

Background and Objectives: Soil salinity is a major challenge for global agriculture, especially in arid and semi-arid regions, threatening crop yields and food security. Wheat (Triticum aestivum L.), one of the world's most important staple crops, is particularly sensitive to salinity stress, which hampers seed germination, seedling establishment, and subsequent growth and productivity. The detrimental effects of salinity include reduced germination rates, stunted root and shoot growth, disrupted nutrient uptake, and decreased photosynthetic efficiency. However, plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) present an eco-friendly solution to mitigate these adverse effects. PGPR enhance plant growth through mechanisms such as nitrogen fixation, phytohormones production, ethylene reduction, improved nutrient acquisition (e.g., phosphorus solubilization), and systemic resistance induction. This study aimed to explore the potential of seed bio-priming with selected PGPR strains to enhance germination and seedling growth of the salt-tolerant wheat cultivar 'Kavir' under different salinity levels. The objectives included assessing the effects of single and combined (consortium) inoculations of *Azospirillum* (As), *Azotobacter* (Az), and *Pseudomonas* (Ps) on key seedling growth parameters and identifying the most effective bacterial combinations for improving salt tolerance in the 'Kavir' cultivar.

Materials and Methods: A factorial experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications at the Soil Biology and Biotechnology Research Department of the Soil and Water Research Institute of Iran. The experiment consisted of two factors: salinity levels (control: 0.35 dS/m (tap water), 6, and 14 dS/m) and seed bio-priming treatments. The bacterial treatments included three isolates: *Pseudomonas fluorescens* Strain 169 (Ps), *Azotobacter chroococcum* Strain 5 (Az), and *Azospirillum brasilense* Strain OF (As), applied as single, dual (As+Az, As+Ps, Az+Ps), and triple (Az+As+Ps) inoculations, along with a non-inoculated control. The experiment was carried out in 72 Petri dishes containing sterile filter paper moistened with the respective saline solutions. Seeds of 'Kavir' wheat were surface-sterilized and inoculated with the bacterial treatments before being placed in the Petri dishes. The Petri dishes were incubated under controlled conditions: a temperature of 25 ± 2°C, a 16-hour light/8-hour dark photoperiod, and 70–80% relative humidity. Measured traits included germination percentage and rate (calculated using Maguire's formula), root and shoot length (mm), seedling water content (%), seedling vigor index (calculated as (Germination % × Seedling Length (cm)), and root-to-shoot ratio. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), and means were compared using Duncan's multiple range test (DMRT) at the 5% probability level ($P \leq 0.05$). Data analysis was performed using SAS software version 9.1. Prior to conducting mean comparisons, the normal distribution of the data was assessed and confirmed.

Results: The results showed that the main effects of salinity and bacteria were significant at the 1% probability level ($p<0.01$), and their interaction effect on germination percentage, germination rate, root length, shoot length, and seedling vigor index was significant at the 5% probability level ($p<0.05$). The interaction effect of salinity and bacteria on shoot fresh weight was not significant ($p>0.05$). Increasing salinity led to a significant decrease in all indices. For example, in the control condition (without salinity), the seedling vigor index in the control treatment was 20342, which decreased to 7296 (approximately 64% reduction) with increasing salinity to 14 dS/m. However, bacterial treatments had a positive effect on all traits, and combined (consortium) treatments showed a significant improvement in the indices compared to single inoculations. For instance, in the control condition, the Az+As+Ps combined treatment increased the seedling vigor index to 31670.6 (approximately 56% increase compared to the control). At 14 dS/m salinity, the As+Az combined treatment also increased the seedling vigor index to 12757.3 (approximately 75% increase compared to the control of the same salinity level). Regarding root length, in the control condition, the As+Az treatment showed approximately a 36% increase (to 186 mm) compared to the control (137 mm). At 14 dS/m salinity, the same treatment showed approximately a 66% increase (to 106 mm) compared to the control (64 mm). Regarding germination percentage, in the control condition, the Az+Ps treatment showed approximately a 14% increase (to 96%) compared to the control (84%), and at 14 dS/m salinity, the As+Az, Az+As+Ps, and Ps treatments similarly showed approximately a 31% increase (to 67%) compared to the control (51%).

Conclusion: The findings of this study revealed that salinity stress significantly impairs seed germination and seedling growth in the salt-tolerant wheat cultivar 'Kavir,' leading to a reduction in germination percentage and rate, as well as root and shoot length. However, seed bio-priming with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), particularly combined treatments, effectively mitigated the adverse effects of salinity and improved key parameters associated with seedling establishment and growth. The impact of PGPR varied across different salinity levels, indicating that the optimal bacterial combination changes depending on the intensity of stress. In general, triple combinations (e.g., Az+As+Ps under non-saline and mild salinity conditions) and dual combinations (e.g., As+Az or As+Ps under severe salinity) demonstrated superior performance in enhancing seedling growth. This highlights the dependency of PGPR efficacy on salinity levels, emphasizing that no single bacterial combination can be universally recommended for all conditions. Therefore, selecting the appropriate bacterial combination should consider soil salinity levels and environmental conditions. Another significant finding is that 'Kavir,' recognized as a salt-tolerant wheat cultivar, showed further enhancement in its inherent salt tolerance through the use of PGPR. This underscores the potential of PGPR as a tool to boost the resilience of even salt-tolerant genotypes, providing additional protection and improved growth under saline conditions.

Cite this article:Asgharzadeh, A., Saghafi, K., Khoshru,B.,2025. Effect of biopriming with plant growth-promoting bacteria on seed germination indices of wheat under salinity stress. Soil Biology, 13 (1),1-17.

DOI: 10.22092/SBJ.2025.368422.276
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصلنامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

https://sbj.areeo.ac.ir/

مقاله پژوهشی

تأثیر پیش‌تیمار زیستی با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گندم رقم کویر در شرایط تنش شوری

احمد اصغرزاده*[۱]، کبری ثقفی[۲] و بهمن خوشرو *[۳]

۱- دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

۲- محقق موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. kobra_saghafi@yahoo.com

۳- محقق پسادکترا، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. bahmankhoshru@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۳ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۲۳

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار زیستی بذر گندم رقم کویر با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) بر جوانه‌زنی و شاخص‌های رشد گیاهچه رقم متحمل به شوری کویر در شرایط تنش شوری، پژوهشی آزمایشگاهی در بخش تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب انجام شد. این پژوهش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار اجرا گردید. سطوح تنش شوری (شاهد: آب شهر با شوری ۰/۳۵، ۶ و ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر) به عنوان فاکتور اول و سطوح پیش‌تیمار زیستی بذر با سه جدایه باکتریایی از جنس‌های *Azospirillum brasilense* Strain OF (As) ،*Azotobacter chroococcum* Strain 5 (Az) و *Pseudomonas fluorescens* Strain 169 (Ps) (به صورت تلقیح تکی، ترکیبی دو یا سه‌تایی و شاهد بدون تلقیح) به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند. آزمایش در ۷۲ واحد آزمایشی (پتری) روی گندم رقم کویر و تحت شرایط کاملاً کنترل‌شده صورت پذیرفت. صفات اندازه‌گیری‌شده شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، درصد آب گیاهچه و شاخص بنیه گیاهچه بودند. نتایج نشان داد اثرات اصلی شوری و باکتری و اثر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود ($p<0.01$). با افزایش شوری از ۰/۳۵ به ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، شاخص بنیه گیاهچه در تیمار شاهد (بدون تلقیح) به میزان ۶۴ درصد کاهش یافت. با این حال، تیمار ترکیبی سه‌تایی Az+As+Ps در شرایط بدون شوری، شاخص بنیه گیاهچه را تا ۵۶ درصد افزایش داد. در شوری ۱۴ دسی‌زیمنس، تیمار ترکیبی دوتایی As+Az توانست شاخص بنیه را تا ۷۵ درصد نسبت به شاهد همان سطح شوری افزایش دهد. همچنین، طول ریشه‌چه در شرایط شاهد بدون شوری برای تیمار As+Az حدود ۳۶ درصد افزایش یافت و در شوری ۱۴ دسی‌زیمنس، همین تیمار افزایشی ۶۶ درصدی نشان داد. درصد جوانه‌زنی نیز در شوری ۱۴ دسی‌زیمنس برای تیمارهایAs+Az ، Az+As+Psو Ps حدود ۳۱ درصد بهبود یافت.

کلیدواژه: تلقیح ترکیبی، محرک رشد، بنیه گیاهچه، *سودوموناس*، هم‌افزایی.

استناد: اصغرزاده، ک.، ثقفی، ک.، خوشرو، ب.، ۱۴۰۴. تأثیر پیش‌تیمار زیستی با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گندم رقم کویر در شرایط تنش شوری. مقاله پژوهشی، نشریه زیست شناسی خاک ، (۱)۱۳، ۱-۱۷

مقدمه

تنش شوری به عنوان یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های تولید محصولات کشاورزی، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان مانند ایران، شناخته می‌شود (Munns and Tester, 2008; Rengasamy, 2016). این تنش با ایجاد عدم تعادل اسمزی و یونی و سمیت، فرآیندهای حیاتی گیاه از جمله جذب آب، رشد و عملکرد را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد (Xiong et al., 2024; Seleiman et al., 2020). ایران با وسعت حدود ۳۴ میلیون هکتار اراضی شور (FAO, 2021) و با چالش‌های فزاینده ناشی از تغییرات اقلیمی و کمبود منابع آب، نیازمند راهکارهای پایدار برای افزایش تولید گندم، به‌عنوان محصولی استراتژیک، در این شرایط نامساعد است (Shahsavand Hassani et al., 2021; Mokarian et al., 2022).

در راستای دستیابی به کشاورزی پایدار و کاهش وابستگی به نهاده‌های شیمیایی پرهزینه و زیان‌بار، استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR[1]) به‌عنوان یک راهکار زیستی مؤثر در مدیریت حاصلخیزی خاک و افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی، ازجمله شوری، موردتوجه قرارگرفته است (Glick, 2012; Backer et al., 2018; Fàtima et al., 2020). پیش‌تیمار زیستی بذر (Bio-priming) با PGPRها، به‌عنوان یک روش ساده، مؤثر و کم‌هزینه، راهکاری امیدبخش برای بهبود جوانه‌زنی و استقرار اولیه گیاهچه در شرایط تنش، به‌ویژه در مراحل حساس ابتدایی رشد، محسوب می‌شود (Shaffique et al., 2023).

باکتری‌های PGPR از طریق مکانیسم‌های متعددی می‌توانند تحمل گیاهان را به شوری افزایش داده و رشد آن‌ها را بهبود بخشند (Khoshru et al., 2025b). این مکانیسم‌ها شامل تولید هورمون‌های گیاهی (مانند اکسین)، تولید آنزیم ACC دآمیناز برای کاهش سطح اتیلن استرس، افزایش دسترسی به عناصر غذایی (مانند فسفر و آهن) از طریق انحلال ترکیبات نامحلول و تولید سیدروفور، و القای مقاومت سیستمیک در گیاه می‌باشند (Khoshru et al., 2025a; Fallah Nosratabad and Khoshru, 2024; Khosravi et al, 2024; Khoshru et al., 2020; Rouphael and Colla, 2020; Glick, 2014; Nadeem et al., 2014; Vessey, 2003). مطالعات متعددی به بررسی اثرات پیش‌تیمار بذر با PGPRها بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گندم تحت تنش شوری پرداخته‌اند. برای مثال، گزارش‌شده است که تلقیح بذر گندم با سویه‌های خاصی از *Azospirillum*، *Azotobacter*، *Pseudomonas* و *Bacillus* می‌تواند با تعدیل اثرات منفی شوری، درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و بنیه گیاهچه را بهبود بخشد (Bashan Nascimento et al., 2018; Nadeem et al., 2016; Bashan and de-Bashan, 2010). این اثرات مثبت اغلب به توانایی باکتری‌ها در تولید فاکتورهای محرک رشد و یا افزایش تحمل گیاه به تنش شوری نسبت داده‌شده است.

باوجود پیشرفت‌های اخیر، خلاهای تحقیقاتی مهمی در زمینه کاربرد PGPRها برای بهبود جوانه‌زنی گندم تحت تنش شوری وجود دارد. اولاً، بیشتر پژوهش‌ها بر روی تلقیح تکی باکتری‌ها تمرکز داشته و مطالعات در زمینه استفاده از کنسرسیوم‌ها (ترکیب چند جدایه باکتریایی) از طریق پیش‌تیمار بذر، که پتانسیل هم‌افزایی و هم‌پوشانی مکانیسم‌های مختلف PGPR را دارا می‌باشند، به‌ویژه در شرایط تنش شوری، محدود است. انتظار می‌رود که کنسرسیوم‌های باکتریایی به دلیل تنوع مکانیسم‌های عمل، اثربخشی بیشتری نسبت به تلقیح تکی داشته باشند. ثانیاً، تحقیقات در زمینه پاسخ ارقام خاص و متحمل به شوری گندم ایران، مانند رقم کویر، به پیش‌تیمار با PGPRها، به‌ویژه کنسرسیوم‌های باکتریایی، بسیار اندک است. رقم

[1] *Plant growth–promoting rhizobacteria*

کویر به دلیل سازگاری با شرایط مناطق خشک و نیمه‌خشک و کشت گسترده در اراضی شور، نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر برای بهبود پتانسیل تولید در شرایط تنش است (Ravari et al., 2017). ثالثاً، نیاز به درک عمیق‌تر از مکانیسم‌های عمل کنسرسیوم‌های باکتریایی در سطوح اولیه رشد گیاهچه، به‌ویژه با تمرکز بر شاخص‌های کلیدی مانند بنیه گیاهچه که نشان‌دهنده پتانسیل استقرار گیاه است، وجود دارد.

با توجه به لزوم افزایش پایداری تولید گندم در اراضی شور ایران و پتانسیل بالای پیش‌تیمار زیستی با PGPRها، پژوهش حاضر با هدف پرداختن به خلاهای تحقیقاتی فوق طراحی گردید. این مطالعه با رویکردی نوآورانه، اثر پیش‌تیمار بذر گندم رقم کویر را با جنس‌های مهم باکتری‌های PGPR (*Azospirillum*، *Azotobacter* و *Pseudomonas*) به صورت تلقیح منفرد و کنسرسیوم سه‌گانه، بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه در شرایط سطوح مختلف تنش شوری بررسی می‌نماید. این تحقیق، ضمن تکمیل دانش موجود در زمینه اثرات PGPRها بر گندم تحت شوری، به‌طور خاص بر پتانسیل کنسرسیوم‌های باکتریایی در بهبود تحمل به شوری رقم کویر گندم در مراحل اولیه رشد تمرکز دارد و با بررسی شاخص بنیه گیاهچه، اطلاعات ارزشمندی در خصوص مکانیسم‌های احتمالی هم‌افزایی در این مرحله حیاتی فراهم می‌آورد. نتایج این پژوهش می‌تواند مبنای علمی برای توسعه کودهای زیستی اختصاصی و راهکارهای بومی‌سازی شده برای مدیریت تنش شوری در مناطق گندم‌خیز ایران باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۹در آزمایشگاه تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور در شهر کرج استان البرز انجام شد.

مواد گیاهی

بذور مورداستفاده در این پژوهش از گندم نان رقم کویر، از نوع بذرهای اصلاح‌شده دارای گواهی[۲]، تهیه‌شده از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر ایران واقع در کرج تأمین گردید. بذور مورداستفاده مربوط به تولید سال جدید (سال انجام تحقیق) بودند. این رقم، که به دلیل سازگاری مناسب با شرایط کم‌آبی و تحمل نسبی به شوری خاک، در مناطق وسیعی از ایران کشت می‌شود، به‌عنوان نمونه‌ای از ارقام متحمل به تنش شوری انتخاب گردید. پیش از آغاز آزمایشات، بذور به‌منظور حصول اطمینان از یکنواختی و حذف هرگونه بذر آسیب‌دیده، شکسته یا دارای نشانه‌های بیماری، موردبررسی دقیق قرار گرفتند.

تیمارهای آزمایشی

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل دو عاملی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل اول شامل سطوح مختلف تنش شوری ناشی از نمک کلرید سدیم (NaCl)در سه سطح بود: شاهد (آب شهر با هدایت الکتریکی ۰/۳۵ دسی‌زیمنس بر متر)، شوری متوسط (۶ دسی‌زیمنس بر متر)، و شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر). عامل دوم این آزمایش، پیش‌تیمار زیستی بذر با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) بود که شامل شش سطح تلقیح بود: بدون تلقیح (شاهد)، تلقیح با *Azospirillum brasilense* Strain OF (As)، تلقیح با *Azotobacter chroococcum* Strain 5 (Az)، تلقیح با *Pseudomonas fluorescens* Strain 169 (Ps)، ترکیب دوگانه (As+Az، As+Ps، Az+Ps)، و ترکیب سه‌گانه (Az+As+Ps). به‌منظور تهیه محلول‌های شوری، ابتدا محلول مادر با غلظت بالا تهیه و سپس با استفاده از آب مقطر، رقیق‌سازی انجام و غلظت‌های موردنظر حاصل گردید. صحت غلظت‌های تهیه‌شده با استفاده از دستگاه

[۲] Certified Improved Seeds

هدایت‌سنج[۳] کالیبره شده، به‌طور دقیق اندازه‌گیری و کنترل شد (Richards, 1954). سویه‌های باکتریایی مورداستفاده در این پژوهش، شامل از بانک میکروبی بخش تحقیقات بیولوژی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردیدند. بر اساس اطلاعات ارائه‌شده توسط این بانک میکروبی، هر سه باکتری از خاک‌های شور مناطق مختلف ایران جداسازی شده‌اند.

تهیه مایه تلقیح باکتریایی

به‌منظور آماده‌سازی بذور گندم کویر برای آزمایش، ابتدا مایه‌تلقیح‌های باکتریایی شامل *A. chroococcum* Strain 5، *A. brasilense* Strain OF و *P. fluorescens* Strain 169 تهیه گردید. فرایند آماده‌سازی سوسپانسیون به این صورت انجام شد که باکتری‌ها در محیط کشت مشخص (محیط کشت NFB[۴] برای *A. chroococcum* Strain 5 و برای کشت باکتری *A. brasilense* Strain OF از محیط کشت مالات استفاده گردید. باکتری *P. fluorescens* Strain 169 نیز در محیط کشت کینگ B کشت داده شد) در شرایط آزمایشگاهی مناسب کشت داده شدند. پس از دستیابی به مرحله رشد لگاریتمی، غلظت سوسپانسیون‌های باکتریایی با استفاده از روش شمارش کلنی (CFU[۵]/mL) تعیین شد. این کار با انجام رقت‌سازی‌های سریالی و کشت روی محیط جامد انجام گرفت و نتایج به‌منظور تنظیم جمعیت مطلوب بررسی شدند (Madigan et al., 2018). جمعیت مورداستفاده برای هر باکتری در جدول ۱ ارائه‌شده است.

جدول ۱- نوع و جمعیت باکتری‌های مورداستفاده در آزمایش

	جمعیت باکتری (CFU/g)		
نوع باکتری	*Azotobacter chroococcum* Strain 5	*Azospirillum brasilense* Strain OF	*Pseudomonas fluorescens* Strain 169
فاز آزمایشگاهی	۷/۴×۱۰^۸	۴/۴×۱۰^۸	۵/۵×۱۰^۸

آماده‌سازی بذر و تلقیح با باکتری

به‌منظور انجام آزمایش جوانه‌زنی گندم کویر و جلوگیری از هرگونه آلودگی میکروبی، ابتدا تمامی ظروف (پتری‌ها) و کاغذ صافی‌های مورداستفاده (واتمن شماره ۱) به‌عنوان محیط کشت، تحت شرایط استریلیزاسیون با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. سطوح کاری و ابزارهای مورداستفاده نیز با محلول الکل ٪۷۰ گندزدایی شدند. بذور گندم کویر قبل از تلقیح، طی یک فرایند دو مرحله‌ای ضدعفونی سطحی شدند: ابتدا به مدت یک دقیقه در الکل ٪۷۰ و سپس به مدت پنج دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ٪۱/۵ غوطه‌ور شدند و پس از اتمام فرایند ضدعفونی، بذور به‌منظور حذف کامل بقایای هیپوکلریت سدیم، ده مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند(Bashan et al., 2014). سپس، تعداد ۲۵ بذر از بذور استریل شده به هرپتری منتقل و با تیمارهای باکتریایی (مطابق با اطلاعات ارائه‌شده در جدول ۱) به روش غوطه‌وری به مدت ۳۰ دقیقه تلقیح شدند. به‌منظور تلقیح، از سوسپانسیون‌های باکتریایی با غلظت تنظیم شده در چگالی نوری ۰/۸ در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده گردید. برای تلقیح ۱۰ گرم بذر گندم، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی به کار رفت. در تیمار شاهد، بذور صرفاً با آب مقطر استریل تیمار شدند و هیچگونه پیش‌تیمار زیستی اعمال نگردید. شایان ذکر است که در این پژوهش، از هیچ‌گونه ماده چسباننده (adjuvant) به‌منظور افزایش

[۳] EC meter
[۴] N-Free Broth
[۵] Colony forming unit

چسبندگی باکتری‌ها به بذر استفاده نشد. پس از انجام پیش‌تیمار زیستی، بذور به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط (۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد سلسیوس) و در شرایط سایه خشک شدند تا رطوبت اضافی آن‌ها از بین برود.

شرایط اعمال شوری

برای ایجاد شرایط کنترل‌شده جهت جوانه‌زنی بذور گندم کویر، در هر پتری ۱۵ میلی‌لیتر از محلول‌های شوری با غلظت‌های تعیین‌شده (شامل تیمار شاهد با آب شهر با هدایت الکتریکی ۰/۳۵ دسی‌زیمنس بر متر و سطوح شوری ۶ و ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر) اضافه گردید. برای جلوگیری از تبخیر و تغییر در غلظت محلول‌ها، درب پتری‌ها با پارافیلم به‌طور کامل بسته شد. پتری‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی در داخل دستگاه ژرمیناتور (مدل TAT ، تولید شرکت پویا صنعت رشنو) قرار داده شدند. شرایط محیطی دستگاه شامل دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵۰ درصد و محیط کاملاً تاریک تنظیم گردید. در طول دوره آزمایش، وضعیت پتری‌ها به‌صورت دوره‌ای (هر ۱۲ ساعت یک‌بار) بررسی شد و برای حفظ رطوبت بهینه کاغذ صافی‌ها، در صورت نیاز مقدار معینی آب مقطر استریل به آن‌ها افزوده می‌شد (ISTA, 2016; Bewley et al., 2013).

جوانه‌زنی و اندازه‌گیری صفات

برای ارزیابی جوانه‌زنی بذور، مشاهدات به‌صورت روزانه و در ساعت مشخص (۹ صبح) به مدت ۱۰ روز متوالی انجام شد. به‌منظور جلوگیری از تجمع املاح و تأثیر آن بر نتایج آزمایش، کاغذ صافی‌های موجود در پتری‌ها قبل از هر نوبت آبیاری با محلول‌های شوری تازه تعویض می‌شدند. معیار جوانه‌زنی بذر، ظهور ریشه‌چه‌ای با طول ۲ تا ۳ میلی‌متر در نظر گرفته شد (Ranal, and Santana, 2006). تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر پتری به‌صورت روزانه شمارش شده و در فرم‌های مخصوص ثبت می‌گردید. این فرایند شمارش تا زمانی ادامه داشت که به مدت سه روز پی‌درپی، هیچ تغییری در تعداد بذور جوانه‌زده مشاهده نشود. پس از گذشت ۱۰ روز از شروع آزمایش، درصد جوانه‌زنی بذور محاسبه گردید. طول ساقه‌چه بذور با استفاده از خط‌کش میلی‌متری با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شد. همچنین طول گیاهچه از نوک ریشه‌چه تا انتهای ساقه‌چه با کولیس با دقت ۰/۱ میلی‌متر تعیین گردید (Bewley et al., 2013).

محاسبه شاخص‌های جوانه‌زنی

به منظور تعیین کمی شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی بذور گندم، از روابط ریاضی زیر بهره گرفته شد:

درصد جوانه‌زنی (GP): این شاخص به وسیله رابطه ۱ محاسبه گردید:

$$GP = (\sum Ni / N) \times ۱۰۰$$ رابطه(۱)

در این رابطه، Ni نمایانگر تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز و N نشان‌دهنده تعداد کل بذرهای کشت شده در هر پتری می‌باشد (Maguire, 1962).

سرعت جوانه‌زنی (GS): برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی، از رابطه ۲ استفاده شد:

$$GS = (a/۱) + ((b-a)/۲) + ((c-b)/۳) + ((d-c)/۴) + \ldots + ((n-n-۱)/N)$$ رابطه(۲)

در این رابطه، GS معرف سرعت جوانه‌زنی است و حروف a، b، c، d، ...، n به ترتیب نشان‌دهنده تعداد بذرهای جوانه‌زده پس از گذشت ۱، ۲، ۳، ۴، ...، N روز از آغاز آبگیری بذور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس می‌باشند (Hauggaard-Nielsen & Jensen, 2001).

شاخص بنیه گیاهچه (Vigor Index - VI): با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$VI = GP (\%) \times L$$

رابطه(۳)

که در آن GP درصد جوانه‌زنی و L طول گیاهچه (بر حسب میلی‌لیتر) می‌باشد (Bewley et al., 2013).

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش ، از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ استفاده گردید. برای

مقایسه میانگین تیمارها و تعیین تفاوت‌های معنی‌دار بین آن‌ها، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال مربوطه به‌کار گرفته شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش، اثر سطوح مختلف تنش شوری ناشی از NaCl و همچنین تأثیر پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه گندم کویر مورد بررسی قرار گرفت. به منظور ارزیابی این اثرات، شاخص‌های مختلفی از جمله درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، درصد آب گیاهچه و شاخص بنیه گیاهچه اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل شدند. جدول ۲ نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در مرحله جوانه‌زنی در رقم کویر را ارائه می‌دهد.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در مرحله جوانه‌زنی در رقم کویر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	درصد آب گیاهچه	شاخص‌بنیه گیاهچه
باکتری	۷	۲۰۳**	۰/۳۴**	۹۰۵**	۱۱۹۵/۷**	۰/۰۳۷۹**	۶۲۴۸۳۷۲۷**
شوری	۲	۳۹۹۹**	۲۸/۷۳**	۲۴۰۷۸**	۱۲۰۶۹/۳**	۰/۰۲۶۸**	۱۲۱۰۲۲۰۲۹۱**
شوری* باکتری	۱۴	۶۴/۵۸*	۰/۰۴**	۱۲۸*	۱۱۸/۹۵*	۰/۰۰۳۴**	۷۲۵۸۵۴۲**
خطا	۴۸	۱۹/۸۲	۰/۰۱	۱۵/۸	۴۱/۴۴	۰/۰۰۰۹۳	۳۱۲۵۹۵۸
ضریب تغییرات		۷/۵۴	۵/۹	۴/۲۸	۳/۱۰	۷/۸۲	۱۳/۸۷

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪ احتمال آماری، ns معنی دار نیست.

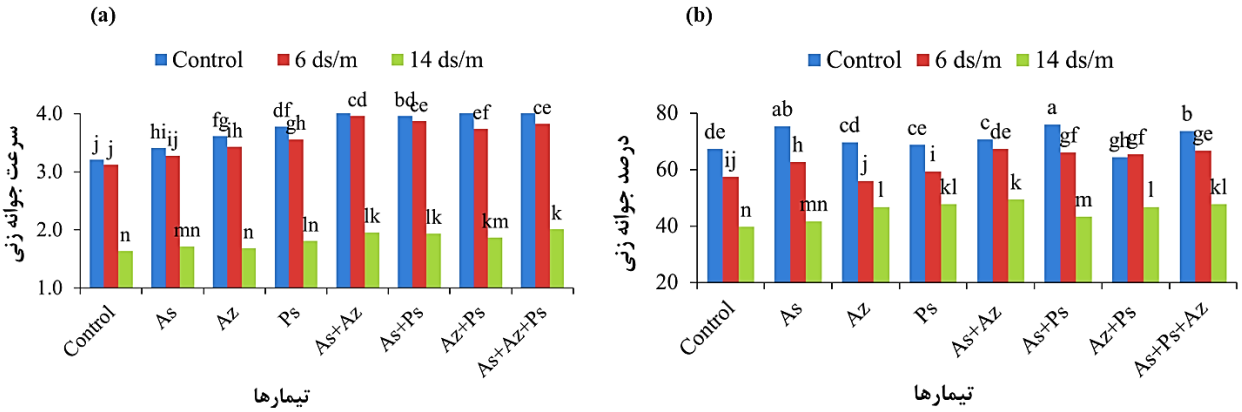
سرعت جوانه زنی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، همانطور که در جدول ۲ قابل مشاهده است، حاکی از اثر معنی‌دار تنش شوری، تیمار باکتریایی و اثر متقابل این دو بر سرعت جوانه‌زنی گندم بود($p<0.01$).در شرایط شاهد (بدون تنش شوری)، سرعت جوانه‌زنی در تیمار بدون تلقیح (شاهد صفر) ۳/۲۱ بود. تلقیح با باکتری *A. brasilense* Strain OF (As) به طور معنی‌داری سرعت جوانه‌زنی را به ۳/۴۱ افزایش داد. تلقیح با *A. chroococcum* Strain 5 (Az) و *P. fluorescens* Strain 169 (Ps) نیز سرعت جوانه‌زنی را افزایش داده و به ترتیب مقادیر ۳/۶۱ و ۳/۷۸ را نشان دادند. در این شرایط، تیمار ترکیبی سه‌گانه (Az+As+Ps) با سرعت جوانه‌زنی ۴/۱۸، بیشترین تأثیر را در تسریع جوانه‌زنی داشت. با افزایش سطح شوری به ۶ دسی‌زیمنس بر متر، سرعت جوانه‌زنی در تیمار شاهد به ۳/۱۲ کاهش یافت. در این سطح شوری، تلقیح با As، Az و Ps به ترتیب سرعت جوانه‌زنی را به ۳/۲۸، ۳/۴۶ و ۳/۵۶ افزایش دادند. تیمار ترکیبی As+Az با سرعت جوانه‌زنی ۳/۹۶، بیشترین تأثیر را در تسریع جوانه‌زنی در این سطح شوری نشان داد. در شرایط تنش شوری شدید با غلظت ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، سرعت جوانه‌زنی در تیمار شاهد به ۱/۶۲ کاهش یافت. با این حال، تلقیح باAs ، Az و Ps همچنان تأثیر مثبتی داشتند و سرعت جوانه‌زنی را به ترتیب به ۱/۶۹، ۱/۷۲ و ۱/۶۴ افزایش دادند. در این سطح شوری، تیمار ترکیبی As+Ps با سرعت جوانه‌زنی ۱/۷۸، بیشترین تأثیر را در تسریع جوانه‌زنی نشان داد (شکل ۱-a).

درصد جوانه‌زنی

بر اساس تجزیه واریانس انجام شده (جدول ۲)، اثرات اصلی شوری و تلقیح باکتریایی و همچنین اثر برهم‌کنش این دو عامل، به طور معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی تاثیرگذار بود ($p<0.05$). در شرایط شاهد (بدون تنش شوری)، بالاترین درصد جوانه‌زنی (۷۶٪) در تیمار *A. brasilense* Strain OF و *P. fluorescens* Strain 169 (As+Ps)مشاهده شد که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این دو باکتری در بهبود جوانه‌زنی در شرایط بهینه است. در این شرایط، تیمار شاهد بدون تلقیح ۶۷/۳۳٪ جوانه‌زنی داشت و تلقیح با *A. brasilense* Strain OF به تنهایی

نیز منجر به افزایش آن به ۷۵/۳۵٪ شد. با افزایش سطح شوری به ۶ دسی‌زیمنس بر متر، درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد به ۵۷/۴۲٪ کاهش یافت، اما تیمار سه‌گانه Az+As+Psبا حفظ درصد جوانه‌زنی در سطح ۶۶/۶۷٪، عملکرد مناسبی نشان داد. در این سطح شوری، تلقیح با باکتری‌های *A. brasilense* Strain OF، *A. chroococcum* Strain 5 و *P. fluorescens* Strain 169 به تنهایی نیز به ترتیب درصد جوانه‌زنی را به ۶۲/۶۷٪، ۵۶٪ و ۵۹/۳۴٪ افزایش دادند. در شرایط تنش شوری شدید با غلظت ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، تأثیر بازدارنده شوری به وضوح دیده شد و درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد به ۳۹/۶۷٪ کاهش یافت. با این حال، حتی در این شرایط سخت، تیمار ترکیبی Az+As+Ps توانست درصد جوانه‌زنی را تا ۴۷/۶۷٪ افزایش دهد و تیمار *A. brasilense* Strain OF و *A. chroococcum* Strain 5 (As+Az)نیز به همین میزان جوانه‌زنی داشت (شکل ۱-b).



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف شوری و پیش‌تیمار باکتریایی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گندم رقم کویر: (a) سرعت جوانه‌زنی و (b) درصد جوانه‌زنی. تیمارها شامل: شاهد (بدون تلقیح باکتری و بدون تنش شوری)، تلقیح منفرد با باکتری‌های *Azotobacter chroococcum* Strain 5 (Az)، *Azospirillum brasilense* Strain OF (As) و *Pseudomonas fluorescens* Strain 169 (Ps)، و تیمارهای ترکیبی دوتایی (As+Az، As+Ps، Az+Ps) و سه‌تایی(Az+As+Ps). سطوح شوری اعمال شده شامل: شاهد (بدون شوری، ۰ دسی‌زیمنس بر متر)، شوری متوسط (۶ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر). حروف کوچک متفاوت بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال $p<0/05$ می‌باشد.

نتایج نشان‌دهنده تأثیر معنادار و مثبت تلقیح با PGPRبر درصد و سرعت جوانه‌زنی گندم رقم کویر در شرایط تنش شوری است. تیمارهای ترکیبی مانند Az+As+Psو As+Az بیشترین تأثیر را در بهبود جوانه‌زنی در تمامی سطوح شوری داشتند، که می‌تواند به اثرات هم‌افزایی این باکتری‌ها در افزایش دسترسی به مواد مغذی، تولید هورمون‌های گیاهی (مانند اکسین) و کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از شوری نسبت داده شود (Egamberdiyeva, 2007). مکانیزم‌های احتمالی دخیل می‌تواند شامل افزایش حلالیت فسفر توسط *P. fluorescens* Strain 169 و تثبیت نیتروژن توسط *A. brasilense* Strain OF و *A. chroococcum* Strain 5 است که موجب تقویت سیستم ریشه و افزایش قابلیت جذب آب و مواد معدنی می‌شود (Bashan et al., 2014). در شرایط شوری بالا (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر)، کاهش شدید درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار شاهد، ناشی از اثرات مخرب تجمع یون‌های نمکی بر مکانیسم‌های حیاتی بذر است (Zhu, 2001). در این شرایط، PGPRها به‌واسطه کاهش سمیت یونی، بهبود تعادل اسمزی و تحریک تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، توانستند عملکرد جوانه‌زنی را بهبود بخشند (Mollestad et al., 2017). تحقیقات مشابه نیز نقش مثبت PGPR در شرایط شوری را تأیید کرده‌اند (Hassan et al., 2017)؛ برای مثال، مطالعه‌ای توسط Waghunde و همکاران (2020) نشان

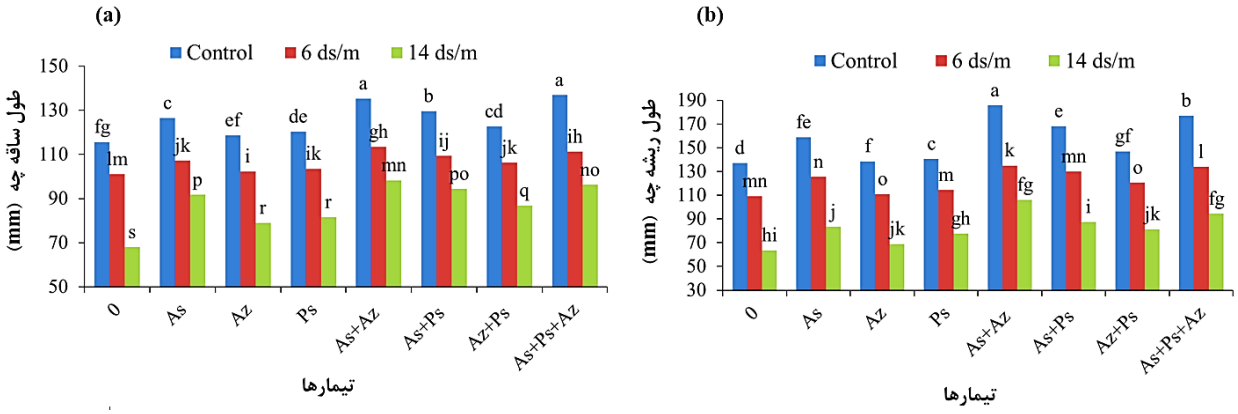
داد که تلقیح با *سودوموناس* در گندم باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش اثرات منفی تجمع یون سدیم و کلر می‌شود.

طول ساقه‌چه

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که طول ساقه‌چه به طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات اصلی تنش شوری ($p<0.01$) و تلقیح باکتریایی ($p<0.01$) و همچنین اثر متقابل این دو ($p<0.05$) قرار گرفت. در شرایط شاهد (بدون تنش شوری)، طول ساقه‌چه در تیمار شاهد بدون تلقیح ۱۱۰ میلی‌متر بود. تلقیح با باکتری‌های *A. brasilense* Strain OF (As) ،*A. chroococcum* Strain 5 (Az) و *P. fluorescens* Strain 169(Ps) به ترتیب طول ساقه‌چه را به ۱۳۸، ۱۴۰ و ۱۳۰ میلی‌متر افزایش داد. در این شرایط، تیمار ترکیبی سه گانه (Az+As+Ps) با ۱۵۹ میلی‌متر، بیشترین طول ساقه‌چه را نشان داد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت و به ویژه هم‌افزایی این ترکیب باکتریایی در بهبود رشد ساقه‌چه در شرایط بهینه است. با افزایش شوری به ۶ دسی‌زیمنس بر متر، طول ساقه‌چه در تیمار شاهد به ۱۰۴ میلی‌متر کاهش یافت. در این سطح شوری، تلقیح با As بیشترین تأثیر را در بین تیمارهای تک باکتریایی داشت و طول ساقه‌چه را به ۱۴۲ میلی‌متر رساند، در حالی که تیمار سه گانه Az+As+Ps نیز عملکرد مشابهی (۱۴۱ میلی‌متر) نشان داد. سایر تیمارهای ترکیبی نیز طول ساقه‌چه‌ای در محدوده ۱۲۴ تا ۱۲۸ میلی‌متر ایجاد کردند. در شرایط تنش شوری شدید با غلظت ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، تأثیر بازدارنده شوری بر رشد ساقه‌چه مشهودتر بود و طول ساقه‌چه در تیمار شاهد به ۷۹ میلی‌متر کاهش یافت. با این وجود، تلقیح با باکتری‌ها، به ویژه تیمارهای ترکیبی As+Az، Az+Ps و Az+As+Ps ، توانست طول ساقه‌چه را تا ۱۰۳ میلی‌متر افزایش دهد و اثرات منفی شوری را تا حدی جبران کند. تلقیح با باکتری‌های منفرد As ، Az و Ps نیز در این سطح شوری به ترتیب طول ساقه‌چه را به ۹۷، ۹۴ و ۹۶ میلی‌متر افزایش دادند (شکل ۲-a).

طول ریشه‌چه

مطابق با نتایج جدول ۲، اثر تنش شوری، تیمار باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها بر طول ریشه‌چه در سطح معنی داری ($p<0.01$) قرار داشت. در شرایط شاهد (بدون تنش شوری)، طول ریشه‌چه در تیمار شاهد بدون تلقیح ۱۳۷ میلی‌متر بود. در این شرایط، تلقیح با باکتری‌های *A. brasilense* Strain OF (As) ،*A. chroococcum* Strain 5 (Az) و *P. fluorescens* Strain 169(Ps) به ترتیب طول ریشه‌چه را به ۱۵۹، ۱۳۹ و ۱۴۱ میلی‌متر افزایش دادند. تیمار ترکیبی As+Az با ۱۸۶ میلی‌متر، بیشترین طول ریشه‌چه را در شرایط بدون تنش شوری نشان داد که حاکی از اثر مثبت و هم‌افزایی این دو باکتری است. با افزایش سطح شوری به ۶ دسی‌زیمنس بر متر، طول ریشه‌چه در تیمار شاهد به ۱۰۹ میلی‌متر کاهش یافت. در این سطح شوری نیز تیمار As+Az با طول ریشه‌چه ۱۳۵ میلی‌متر، بیشترین تأثیر را در افزایش طول ریشه‌چه نشان داد، اگرچه تلقیح با As به تنهایی نیز تأثیر قابل توجهی داشت و طول ریشه‌چه را به ۱۲۵ میلی‌متر رساند. سایر تیمارهای ترکیبی نیز طول ریشه‌چه‌ای در محدوده ۱۲۱ تا ۱۳۴ میلی‌متر ایجاد کردند. در شرایط تنش شوری شدید با غلظت ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، کاهش طول ریشه‌چه در تیمار شاهد به ۶۴ میلی‌متر به وضوح مشاهده شد. با این وجود، تیمار ترکیبی As+Az همچنان با ۱۰۶ میلی‌متر، بیشترین تأثیر را در افزایش طول ریشه‌چه در این شرایط سخت نشان داد و توانست اثرات منفی شوری را تا حدی جبران کند. تلقیح با باکتری‌های منفرد As ، Az و Ps نیز در این سطح شوری به ترتیب طول ریشه‌چه را به ۸۳، ۶۹ و ۷۸ میلی‌متر افزایش دادند. این نتایج نشان می‌دهند که پیش‌تیمار بذر با باکتری‌ها، به ویژه تیمار ترکیبی As+Az ، می‌تواند تا حدی اثرات منفی شوری بر طول ریشه‌چه بذور گندم کویر را کاهش دهد، اما میزان این تأثیر وابسته به شدت شوری است (شکل ۲-b).



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف شوری و پیش‌تیمار باکتریایی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گندم رقم کویر: (a) طول ساقه‌چه و (b) طول ریشه‌چه. تیمارها شامل: شاهد (بدون تلقیح باکتری و بدون تنش شوری)، تلقیح منفرد با باکتری‌های *Azotobacter chroococcum* Strain 5 (Az)، *Azospirillum brasilense* Strain OF (As) و *Pseudomonas fluorescens* Strain 169 (Ps)، و تیمارهای ترکیبی دوتایی (As+Az، As+Ps، Az+Ps) و سه‌تایی(Az+As+Ps). سطوح شوری اعمال شده شامل: شاهد (بدون شوری، ۰ دسی‌زیمنس بر متر)، شوری متوسط (۶ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر). حروف کوچک متفاوت بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال p<۰/۰۵ می‌باشد.

نتایج نشان می‌دهد که تلقیح با PGPR تأثیر مثبتی بر طول ساقه‌چه و ریشه‌چه گندم رقم کویر در شرایط شوری دارد. تیمارهای ترکیبی، به ویژه As+Az و Az+As+Ps، بیشترین تأثیر را در افزایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه نشان دادند. این اثرات را می‌توان به مکانیزم‌های هم‌افزایی میانPGPR ها نسبت داد که شامل تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، بهبود جذب مواد مغذی و تقویت مقاومت سیستمیک گیاه می‌شود (Saghafi et al., 2014). به طور خاص *A. brasilense* نقش کلیدی در بهبود رشد طولی ریشه از طریق ترشح اکسین دارد که باعث تحریک تقسیم سلولی و طویل شدن سلول‌های ریشه می‌شود (Ha-Tran et al., 2021). در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر)، کاهش رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه در تیمار شاهد به دلیل اثرات بازدارنده تجمع نمک‌ها بر تعادل اسمزی، جذب آب، و فعالیت‌های آنزیمی قابل انتظار بود. با این حال، PGPRها، به ویژه ترکیبAs+Az، با کاهش سمیت یونی، احتمالاً با بهبود دسترسی گیاه به آب و مواد مغذی، توانستند اثرات منفی شوری را جبران کنند (Nawaz et al., 2020). پژوهش مشابهی توسط Desoky و همکاران (2020) تأیید کرده است کهPGPR ها می‌توانند رشد ریشه و ساقه‌چه را در شرایط شوری با کاهش آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو بهبود بخشند. تفاوت در عملکرد تیمارهای مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در مکانیزم‌های تخصصی هر باکتری باشد؛ برای مثال، *P. fluorescens* Strain 169 احتمالاً با تولید سیدروفورها باعث افزایش دسترسی گیاه به آهن شده و در رشد ساقه‌چه مؤثر واقع شده است (Egamberdieva et al., 2015)، در حالی که *آزوسپیریلوم* از طریق تولید اکسین و افزایش تعادل هورمونی رشد ریشه را بهبود می‌بخشد (Gureeva and Gureev, 2023; Degon et al., 2023).

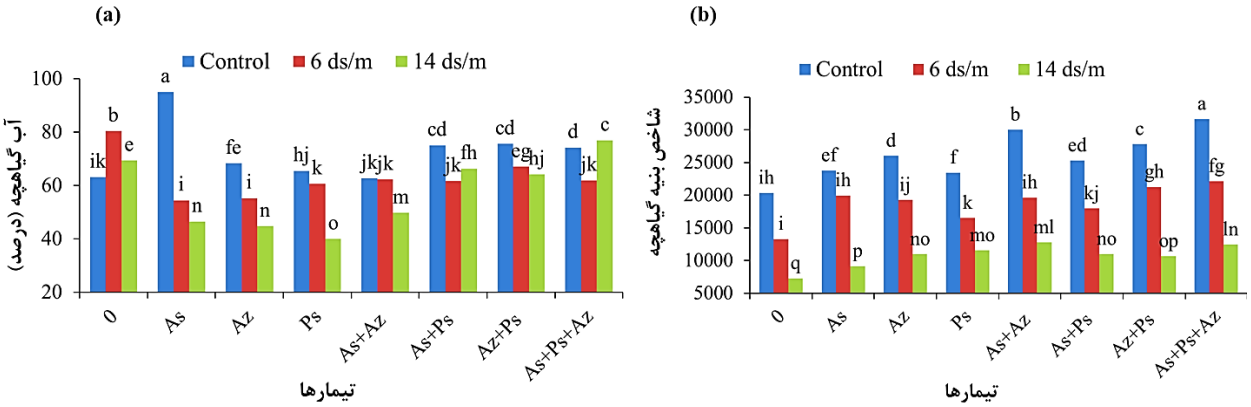
درصد آب گیاهچه

بررسی نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) مشخص نمود که درصد آب گیاهچه به طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات اصلی شوری ($p<0.01$) و باکتری ($p<0.01$) و همچنین اثر متقابل آن‌ها ($p<0.05$) قرار دارد. در شرایط شاهد (بدون تنش شوری)، درصد آب گیاهچه در تیمار شاهد بدون تلقیح ۶۳/۱۰ درصد بود. در این شرایط، تلقیح با *A. brasilense* Strain OF (As) به طور چشمگیری این درصد را به ۹۵/۰۲ افزایش داد، در حالی که سایر تیمارهای تک و ترکیبی نیز (به جز As+Az که کاهشی

اندک داشت)، افزایش درصد آب گیاهچه را نسبت به شاهد نشان دادند. با افزایش شوری به ۶ دسی‌زیمنس بر متر، درصد آب گیاهچه در تیمار شاهد به ۸۰/۴ درصد افزایش یافت، اما نکته قابل توجه این است که تمامی تیمارهای تلقیح شده در این سطح شوری، کاهش درصد آب گیاهچه را نسبت به شاهد همان سطح شوری نشان دادند، هرچند تیمار ترکیبی Az+Ps با ۶۶/۹۹ درصد، کمترین کاهش را در بین تیمارهای تلقیح شده داشت. این نشان می‌دهد که در این سطح شوری، اثر منفی خود شوری بر میزان آب گیاهچه غالب بوده و تلقیح نتوانسته به طور کامل آن را جبران کند. در شرایط تنش شوری شدید با غلظت ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، کاهش درصد آب گیاهچه در تیمار شاهد به ۶۹/۳۶ درصد مشهودتر بود. در این شرایط، تلقیح با باکتری‌های منفردAs، Az و Ps کاهش شدیدتری را در درصد آب گیاهچه نشان دادند، در حالی که تیمار ترکیبی Az+As+Psبا ۷۶/۹۲ درصد، نه تنها از سایر تیمارهای تلقیح شده، بلکه از تیمار شاهد همان سطح شوری نیز فراتر رفت و بیشترین درصد آب گیاهچه را در این شرایط سخت فراهم کرد (شکل ۳-a).

شاخص بنیه گیاهچه

با استناد به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر معنی‌دار تنش شوری، تلقیح باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص بنیه گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ تایید شد ($p<0.01$). در شرایط شاهد (بدون تنش شوری)، شاخص بنیه گیاهچه در تیمار شاهد بدون تلقیح ۲۰۳۴۲ بود. در این شرایط، تمامی تیمارهای باکتریایی، چه تک و چه ترکیبی، باعث افزایش شاخص بنیه گیاهچه نسبت به شاهد شدند و تیمار ترکیبی سه گانه (Az+As+Ps) با ۳۱۶۷۰/۶ بیشترین تأثیر را نشان داد. با افزایش سطح شوری به ۶ دسی‌زیمنس بر متر، شاخص بنیه گیاهچه در تیمار شاهد به ۱۳۳۱۲ کاهش یافت. با این وجود، تمامی تیمارهای باکتریایی همچنان باعث افزایش شاخص بنیه گیاهچه نسبت به شاهد همان سطح شوری شدند و تیمار ترکیبی سه گانه (Az+As+Ps)با شاخص ۲۲۱۴۴ بیشترین تأثیر را در این سطح شوری نشان داد. در شرایط تنش شوری شدید با غلظت ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، کاهش شاخص بنیه گیاهچه در تیمار شاهد به ۷۲۹۶ مشهودتر بود. با این حال، تمامی تیمارهای باکتریایی در این شرایط نیز باعث افزایش شاخص بنیه گیاهچه نسبت به شاهد همان سطح شوری شدند و تیمار ترکیبی As+Az با ۱۲۷۵۷/۳ بیشترین تأثیر را نشان داد (شکل ۳-b).



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف شوری و پیش‌تیمار باکتریایی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گندم رقم کویر: (a) درصد آب گیاهچه و (b) شاخص بینه گیاهچه. تیمارها شامل: شاهد (بدون تلقیح باکتری و بدون تنش شوری)، تلقیح منفرد با باکتری‌های Azotobacter chroococcum Strain 5 (Az)، Azospirillum brasilense Strain OF (As) و Pseudomonas fluorescens Strain 169 (Ps)، و تیمارهای ترکیبی دوتایی (As+Az، As+Ps، Az+Ps) و سه‌تایی(Az+As+Ps). سطوح شوری اعمال شده شامل: شاهد (بدون شوری، ۰ دسی‌زیمنس بر متر)، شوری متوسط (۶ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر). حروف کوچک متفاوت بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال p<۰/۰۵ می‌باشد.

در شرایط تنش شوری، کاهش درصد آب گیاهچه در تیمار شاهد نشان‌دهنده اثر منفی تجمع یون‌های نمکی بر تعادل اسمزی و کاهش ظرفیت حفظ آب در گیاه است (Zhou et al., 2024). این اثر مخرب شوری می‌تواند به تخریب ساختار غشای سلولی، کاهش جذب آب و کاهش فعالیت آنزیم‌های حیاتی نسبت داده شود. با این حال، تلقیح باPGPRها، به‌ویژه در تیمار ترکیبیAz+As+Ps، توانستند درصد آب گیاهچه را حتی در سطوح شوری شدید به‌طور معناداری افزایش دهد. این بهبود را می‌توان به مکانیسم‌های چندگانهPGPR ها نسبت داد. از جمله این مکانیسم‌ها، تحریک تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین است که رشد و توسعه ریشه را بهبود می‌بخشد و جذب آب و مواد مغذی را افزایش می‌دهد (Degon et al., 2023). همچنین، PGPRها با تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (EPS[۶])به حفظ رطوبت خاک کمک کرده و از تبخیر و هدررفت آب جلوگیری می‌کنند (Nivetha et al., 2021). افزون بر این، کاهش سمیت یونی و تنظیم تعادل یونی در ناحیه ریشه توسطPGPR ها باعث بهبود تعادل اسمزی گیاه می‌شود (Zhou et al., 2024). مطالعاتی مانند Arora و همکاران (2020) نشان داده‌اند کهPGPR ها با کاهش پتانسیل اسمزی و افزایش کارایی جذب مواد مغذی، ظرفیت حفظ آب گیاه را در شرایط شوری بهبود می‌بخشند. این مکانیسم‌ها به‌ویژه در تیمار ترکیبی Az+As+Ps به‌دلیل هم‌افزایی بین *P. fluorescens* Strain 169، *A. brasilense* Strain OF و *A. chroococcum* Strain 5، عملکرد مؤثرتری داشته است. مطالعات مشابه دیگری نیز این یافته‌ها را تأیید کرده‌اند. به‌عنوان مثال، Bashan و همکاران (2014) نشان دادند که تلقیح باPGPRها می‌تواند تعادل هورمونی و فیزیولوژیکی گیاه را تنظیم کند و مقاومت آن را در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش دهد. همچنین Nivetha و همکاران (2021) گزارش کردند که PGPRها با تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه، آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش داده و به حفظ ظرفیت نگهداری آب در سلول‌ها کمک می‌کنند.

شاخص بنیه گیاهچه که ترکیبی از درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه است، در شرایط بدون تنش شوری با تلقیح تیمارهای باکتریایی، به ویژه ترکیبAz+As+Ps ، افزایش چشمگیری نشان داد. این موضوع نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این ترکیب در بهبود پارامترهای رشدی است. تحت تنش شوری، کاهش شاخص بنیه در تیمار شاهد ناشی از اختلال در جذب آب و مواد معدنی و آسیب‌های اکسیداتیو بود. امابا PGPR با کاهش تنش اکسیداتیو از طریق مکانیزم‌هایی مانند تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز توانستند این کاهش را جبران کنند (Neshat et al., 2022). در شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر)، تیمار As+Az با بالاترین شاخص بنیه، احتمالاً به دلیل ترکیب اثرات *A. brasilense* Strain OF در بهبود رشد ریشه و *A. chroococcum* Strain 5 در افزایش جذب مواد مغذی، بیشترین تأثیر را داشت. پژوهش مشابهی توسط Kohler و همکاران (2019) نشان داد کهPGPR ها می‌توانند با بهبود جذب پتاسیم و کاهش تجمع یون‌های سمی مانند سدیم، مقاومت گیاه به شوری را افزایش دهند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری اثرات منفی قابل توجهی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم کویر دارد و به کاهش شاخص‌هایی مانند درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه منجر می‌شود. با این حال، پیش‌تیمار بذر با PGPR، به‌ویژه تیمارهای ترکیبی، توانست به طور مؤثری اثرات منفی شوری را کاهش داده و پارامترهای مرتبط با استقرار و رشد گیاهچه را بهبود بخشد. تأثیر این باکتری‌ها در سطوح مختلف شوری متفاوت بود، به‌طوری‌که کنسرسیوم بهینه باکتریایی بر اساس شدت تنش

[۶] Extracellular polymeric substances

تغییر کرد. به‌طور کلی، کنسرسیوم‌های سه‌گانه (مانند Az+As+Psدر شرایط بدون تنش و شوری ملایم) و کنسرسیوم‌های دوگانه (مانند As+Az یا As+Ps در شوری شدید) عملکرد بهتری در بهبود رشد گیاهچه نشان دادند که نشان می‌دهد کارایی PGPR به شدت به سطح شوری وابسته است و نمی‌توان یک ترکیب باکتریایی ثابت را به عنوان بهترین گزینه برای تمامی شرایط معرفی کرد. بنابراین، انتخاب ترکیب مناسب باید با در نظر گرفتن سطح شوری خاک و شرایط محیطی صورت گیرد. نکته مهم دیگر این است که رقم گندم کویر به عنوان یک رقم مقاوم به شوری شناخته می‌شود، اما نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند مقاومت ذاتی این رقم را نیز به طور چشمگیری افزایش دهد. این یافته نشان می‌دهد که حتی در ارقام مقاوم، PGPRها می‌توانند به عنوان یک ابزار مؤثر در افزایش تحمل به تنش شوری و بهبود عملکرد گیاه عمل کنند. این پژوهش همچنین بیانگر آن است که استفاده از PGPRها می‌تواند به کشاورزان در مناطق شور کمک کند تا با کاهش اثرات منفی شوری، استقرار و رشد اولیه گیاهچه ارقام مختلف گندم را بهبود بخشیده و عملکرد نهایی محصول را افزایش دهند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه بخش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب انجام گردیده است که بدین وسیله از کارشناسان محترم این مجموعه سپاسگزاری می‌شود.

انتشار

Refrences

1. Arora, N.K., Fatima, T., Mishra, J., Mishra, I., Verma, S., Verma, R., Verma, M., Bhattacharya, A., Verma, P., Mishra, P. and Bharti, C., 2020. Halo-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for improving productivity and remediation of saline soils. Journal of Advanced Research, 26, pp.69-82. https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.07.003
2. Backer, R., Rokem, J.S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S. and Smith, D.L., 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. Frontiers in Plant Science, 9, p.1473. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473
3. Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J. P. 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998-2013). Plant and Soil, 378(1), 1-33. https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x
4. Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W., & Nonogaki, H. 2013. Seeds: Physiology of development, germination, and dormancy (3rd ed.). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4
5. Degon Z, Dixon S, Rahmatallah Y, Galloway M, Gulutzo S, Price H, Cook J, Glazko G, and Mukherjee A. 2023. Azospirillum brasilense Strain OF improves rice growth under salt stress by regulating the expression of key genes involved in salt stress response, abscisic acid signaling, and nutrient transport, among others. Frontiers in agronomy. 4;5:1216503. https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1216503
6. Desoky, E.S.M., Saad, A.M., El-Saadony, M.T., Merwad, A.R.M. and Rady, M.M., 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria: Potential improvement in antioxidant defense system and suppression of oxidative stress for alleviating salinity stress in Triticum aestivum (L.) plants. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 30, p.101878. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101878
7. Dolati, S., Elmāyi, M., Barani Motlagh, M., and Nouri Radduji, A. M. 2012. Isolation and Identification of Azotobacter Isolates and Measurement of their Plant Growth Promoting Factors. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 2(2), 121-135.
8. Egamberdieva, D., Jabborova, D. and Hashem, A., 2015. Pseudomonas induces salinity tolerance in cotton (Gossypium hirsutum) and resistance to Fusarium root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. Saudi journal of biological sciences, 22(6), pp.773-779. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.019
9. Fallah Nosratabad, A. and Khoshru, B., 2024. Potentials and challenges of biofertilizers in sustainable agriculture. Journal of Sol Biology, 12(1), pp.19-63. (In Persian), https://doi.org/10.22092/sbj.2024.366090.265.
10. FAO, 2021. The State of Food and Agriculture 2021. Making agrifood systems more resilient to shocks and stresses. Rome.
11. Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica. https://doi.org/10.6064/2012/963401
12. Gureeva, M.V. and Gureev, A.P., 2023. Molecular mechanisms determining the role of bacteria from the genus Azospirillum in plant adaptation to damaging environmental factors. International Journal of Molecular Sciences, 24(11), p.9122. https://doi.org/10.3390/ijms24119122
13. Ha-Tran, D.M., Nguyen, T.T.M., Hung, S.H., Huang, E. and Huang, C.C., 2021. Roles of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in stimulating salinity stress defense in plants: A review. International Journal of Molecular Sciences, 22(6), p.3154. https://doi.org/10.3390/ijms22063154
14. Hauggaard-Nielsen, H., and Jensen, E. S. 2001. A review of the effect of legumes in cropping systems on seedling emergence and plant growth. Field Crops Research,

71(1), 1-10. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00128-0.

15. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A., Khosravi, H., Asgharzadeh, A. and Faridian, L., 2025a. Enhancing agricultural productivity using PGPR and nanoparticles: mechanisms, challenges, and future directions. Journal of Sol Biology, 12(2), pp.279-313. (In Persian), 10.22092/sbj.2025.368425.277.
16. Khoshru, B., Fallah Nosratabad, A., Mahjenabadi, V.A.J., Knežević, M., Hinojosa, A.C., Fadiji, A.E., Enagbonma, B.J., Qaderi, S., Patel, M., Baktash, E.M. and Dawood, M.F.A.M., 2025b. Multidimensional role of Pseudomonas: from biofertilizers to bioremediation and soil ecology to sustainable agriculture. Journal of Plant Nutrition, 48(6), pp.1016-1042. https://doi.org/10.1080/01904167.2024.2416078
17. Khoshru, B., Mitra, D., Khoshmanzar, E., Myo, E.M., Uniyal, N., Mahakur, B., Mohapatra, P.K.D., Panneerselvam, P., Boutaj, H., Alizadeh, M. and Cely, M.V.T., 2020. Current scenario and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria: an economic valuable resource for the agriculture revival under stressful conditions. Journal of Plant Nutrition, 43(20), pp.3062-3092. https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1799004
18. Khosravi, H., Khoshru, B., Nosratabad, A.F. and Mitra, D., 2024. Exploring the landscape of biofertilizers containing plant growth-promoting rhizobacteria in Iran: Progress and research prospects. Current Research in Microbial Sciences, p.100268. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100268
19. Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. 2018. Brock Biology of Microorganisms (15th ed.). Pearson Education.
20. Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, 2(2), 176-177. https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x
21. Mokarian, K., Maali-Amiri, R., Peighambari, A., Tabatabai, S.M.T. and Daneshmand, F., 2022. Physiological responses and expression pattern of SOS genes of bread wheat to salt stress. Iranian Journal of Field Crop Science, 53(4), pp.275-289.
22. Mollestad, H. H., Andersen, J. M., & Fagerli, C. 2017. PGPR-induced improvement of plant growth under saline stress: A review of current literature. Soil Biology and Biochemistry, 111, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.04.002
23. Munns, R. and Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59, pp.651-681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
24. Nawaz, A., Shahbaz, M., Asadullah, Imran, A., Marghoob, M.U., Imtiaz, M. and Mubeen, F., 2020. Potential of salt tolerant PGPR in growth and yield augmentation of wheat (Triticum aestivum L.) under saline conditions. Frontiers in Microbiology, 11, p.2019. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02019
25. Neshat, M., Abbasi, A., Hosseinzadeh, A., Sarikhani, M. R., Dadashi Chavan, D., & Rasoulnia, A. 2022. Plant growth promoting bacteria (PGPR) induce antioxidant tolerance against salinity stress through biochemical and physiological mechanisms. Physiology and Molecular Biology of Plants, 28(2), 347-361. https://doi.org/10.1007/s12298-022-01128-0
26. Nivetha, N., Lavanya, A.K., Vikram, K.V., Asha, A.D., Sruthi, K.S., Bandeppa, S., Annapurna, K. and Paul, S., 2021. PGPR-mediated regulation of antioxidants: Prospects for abiotic stress management in plants. Antioxidants in plant-microbe interaction, pp.471-497. https://doi.org/10.1007/978-981-16-1350-0_23
27. Ravari, S.Z., Dehghani, H. and Naghavi, H., 2017. Study of genetic control of salinity tolerance in bread wheat cv. Kavir-using generation mean analysis. Crop Breeding Journal, 7(2), pp.57-66.
28. Rengasamy, P., 2016. Soil processes affecting salt accumulation in irrigated soils. Agricultural Water Management, 163, pp.9-17.
29. Richards, L. A. 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils.

United States Department of Agriculture Handbook 60. Washington, D.C.: USDA. https://doi.org/10.1097/00010694-195408000-00012

30. Rouphael, Y. and Colla, G., 2020. Toward a sustainable agriculture through plant biostimulants: from experimental data to practical field application. Agronomy, 10(6), p.848. https://doi.org/10.3390/agronomy10101461
31. Saghafi, K., Ahmadi, J., Asgharzadeh, A., & Esmaeili-Zadeh, A. 2013. Investigating the effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on growth indices of wheat under salinity stress. Soil Biology Journal, 1(1), 47-59. https://doi.org/10.22092/sbj.2013.120920.
32. Seleiman, M.F., Aslam, M.T., Alhammad, B.A., Hassan, M.U., Maqbool, R., Chattha, M.U., Khan, I., Gitari, H.I., Uslu, O.S., Roy, R. and Battaglia, M.L., 2022. Salinity stress in wheat: effects, mechanisms and management strategies. Phyton (0031-9457), 91(4). https://doi.org/10.32604/phyton.2022.017365
33. Shaffique, S., Imran, M., Kang, S.M., Khan, M.A., Asaf, S., Kim, W.C. and Lee, I.J., 2023. Seed Bio-priming of wheat with a novel bacterial strain to modulate drought stress in Daegu, South Korea. Frontiers in Plant Science, 14, p.1118941. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1118941
34. Shahabi, M., Panjeke, N., Asadi Rahmani, H., and Salari, M. 2019. Isolation and Identification of Azospirillum Bacteria from Wheat and Maize Rhizosphere and Determination of Some of Their Plant Growth Promoting Traits. Journal of Soil Biology, 7(2), 135-149.
35. Shahsavand Hassani, H., Roudbari, Z., Mohammadi-Nejad, G. and Esmaeilzadeh-Moghaddam, M., 2021. Study the morphophysiological responses of promising Iranian new and natural trans chromsomal secondary tritipyrum cereal lines to Salinity conditions in Iran. Iranian Journal of Field Crop Science, 52(1), pp.75-86.
36. Venâncio, C., Pereira, R. and Lopes, I., 2020. The influence of salinization on seed germination and plant growth under mono and polyculture. Environmental Pollution, 260, p.113993. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.113993
37. Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255(1), pp.571-586. https://doi.org/10.1023/A:1026037216893
38. Waghunde, R.R. and Sabalpara, A.N., 2021. Impact of pseudomonas spp. on plant growth, lytic enzymes and secondary metabolites production. Frontiers in Agronomy, 3, p.752196. https://doi.org/10.3389/fagro.2021.752196
39. Xiong, M., Xu, J., Zhou, Z., Peng, B., Shen, Y., Shen, H., Xu, X., Li, C., Deng, L. and Feng, G., 2024. Salinity inhibits seed germination and embryo growth by reducing starch mobilization efficiency in barley. Plant Direct, 8(2), p.e564. https://doi.org/10.1002/pld3.564
40. Zhou, H., Shi, H., Yang, Y., Feng, X., Chen, X., Xiao, F., Lin, H. and Guo, Y., 2024. Insights into plant salt stress signaling and tolerance. Journal of Genetics and Genomics, 51(1), pp.16-34.https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.08.007
41. Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. Trends in Plant Science, 6(2), 66-71. https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01838-0