

The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from Dryland Farming on Available Phosphorus and Some Physiological and Growth Traits of Wheat under Water-Deficit Stress

EBRAHIM SHIRMOHAMMADI¹, HOSSEIN ALI ALIKHANI^{*1}, AHMAD ALI POURBABAEE¹, HASSAN ETESAMI¹

1. Department of Soli Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering & Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

(Received: Oct. 14, 2019- Revised: Dec. 7, 2019- Accepted: Dec. 30, 2019)

ABSTRACT

Drought, salinity and essential plant nutrient stresses especially phosphorus (P) are the most important challenges for wheat production in dryland farming of Iran. The objective of this study was to investigate the effect of three plant growth promoting bacteria strains on soil available-P, as well as some of the physiological and growth traits of wheat under water-deficit stress. For this purpose, a pot experiment was carried out as factorial arrangement with three factors including: water deficit stress at two levels, application of P-fertilizer at six levels and strains of plant growth promoting bacteria at four levels, based on completely randomized design (CRD) with three replications within 125 days. The results show at the water deficit stress of 55% field capacity (FC) and without P-fertilizer application, bacterial treatment of *Staphylococcus succinus* compared to control increased available-P, P-uptake of root and grain by 2.4, 4.9 and 2.7 times respectively. At moisture treatment of 80% FC and without P-fertilizer application, treatments of *Bacillus pumilus*, *B. safensis* and *S. succinus* compared to control, increased available-P by 1.6, 1.6 and 1.6 times; P-uptake of root by 3.1, 3.1 and 2.9 times; P-uptake of grain by 2.2, 2.4 and 2.2 times, respectively. Maximum dry weight of root, shoot and grain (5.3, 18.2 and 4.6 g pot⁻¹, respectively) were obtained at the maximum level of P-fertilizer treatment (F4). At the water deficit stress of 55% FC, bacterial treatment of *S. succinus* compared to control increased prolin, root dry weight, grain dry weight and P-uptake of shoot up to 8, 31.9, 20.4 and 25.5 percent, respectively. Generally, the use of *Staphylococcus succinus* strain R12N2 seems to be appropriate for increasing wheat production in dryland farming.

Keywords: Phosphate solubilizing bacteria, Rock phosphate, yield, Phosphorus uptake, Chlorophyll, Proline

تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه جداسازی شده از دیم‌زارها بر فسفر قابل جذب و برخی از صفات فیزیولوژیک و رشدی گیاه گندم در تنش کم‌آبی

ابراهیم شیرمحمدی^۱، حسینعلی علیخانی^{۱*}، احمدعلی پوربابائی^۱، حسن اعتصامی^۱

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۲۲ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۹/۱۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۱۰/۹)

چکیده

تنش‌های کم‌آبی، شوری و عدم تغذیه بهینه عناصر غذایی به‌خصوص فسفر از جمله چالش‌های مهم برای تولید گندم در دیم‌زارهای ایران می‌باشد. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سه سویه باکتری محرک رشد گیاه بر فسفر قابل دسترس خاک و نیز برخی از صفات فیزیولوژیک و رشدی گیاه گندم انجام شد. برای این منظور آزمایش گلدانی به‌صورت فاکتوریل سه عامله شامل تنش کم‌آبی در دو سطح، مصرف کود فسفره در ۶ سطح و سویه‌های باکتریایی محرک رشد گیاه در ۴ سطح و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در مدت ۱۲۵ روز اجرا شد. نتایج نشان داد که در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد ظرفیت زراعی (FC) و بدون استفاده از کود فسفره، تیمار باکتری *Staphylococcus succinus* نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ۲/۴، ۴/۹، ۲/۷ برابری فسفر قابل دسترس، جذب فسفر ریشه و دانه شد. در تیمار رطوبتی ۸۰ درصد FC و بدون استفاده از کود فسفره، تیمارهای *S. succinus*، *Bacillus safensis* و *B. pumilus* نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ۱/۶، ۱/۶ و ۱/۶ برابری فسفر قابل دسترس، ۳/۱، ۳/۱ و ۲/۹ برابری جذب فسفر ریشه و ۲/۴، ۲/۲، ۲/۲ برابری جذب فسفر دانه شد. بیشترین میزان وزن خشک ریشه، اندام هوایی و دانه به‌ترتیب با مقادیر ۵/۳، ۱۸/۲ و ۴/۶ گرم بر گلدان در تیمار حداکثری کود فسفره (F4) به‌دست آمد. در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC، تیمار باکتری *S. succinus* نسبت به شاهد به‌ترتیب ۸، ۳۱/۹، ۲۰/۴ و ۲۵/۵ درصد میزان پروتئین، وزن خشک ریشه، وزن خشک دانه و جذب فسفر اندام هوایی گیاه را افزایش داد. در کل استفاده از *S. succinus* strain R12N2 برای افزایش تولید گندم در دیم‌زارها مناسب به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های حل‌کننده فسفات، خاک فسفات، عملکرد، جذب فسفر، کلروفیل، پروتئین.

مقدمه

برای تأمین غذای مورد نیاز جمعیت در حال رشد جهان، تولید محصول باید افزایش یابد. گیاهان زراعی نقش عمده‌ای در تأمین غذا و انرژی بشر دارند. در بین گیاهان زراعی گندم مهم‌ترین منبع غذایی برای مصرف انسانی می‌باشد. همچنین در سال زراعی ۲۰۱۸-۲۰۱۹ گندم با سطح زیر کشت تقریبی ۲۲۰/۳۴ میلیون هکتار و عملکرد محصول ۷۷۷/۴۹ میلیون تن (به‌طور متوسط ۳۵۳۰ کیلوگرم در هکتار)، از نظر تولید محصول‌های دانه‌ای در رتبه دوم جهانی بعد از ذرت قرار دارد (USDA, 2019). در ایران نیز گندم به لحاظ راه‌بردی مهم‌ترین محصول زراعی کشور می‌باشد. در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵، از ۱۰۹۹۵۲۵۷ هکتار اراضی زیر کشت در ایران ۵۴۳۷۸۰۴ هکتار به کشت گندم اختصاص داشت که بیش از ۶۲ درصد آن نیز به‌صورت دیم کشت شده می‌باشد. همچنین متوسط عملکرد آن در شرایط آبی و دیم به‌ترتیب ۴۳۴۳

و ۱۰۳۷ کیلوگرم در هکتار بوده است (Ahmadi et al., 2018). با توجه به آمار ذکر شده عملکرد گندم دیم در مقایسه با گندم آبی بسیار پایین است و میانگین کل نیز کمتر از متوسط تولید جهانی گندم دیم می‌باشد؛ البته با مدیریت صحیح و مناسب می‌توان تولید گندم در کشت دیم را افزایش داد.

با توجه به قرار داشتن 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 رفع کمبود عناصر ضروری مخصوصاً فسفر است. تنش کم‌آبی از طریق تنش‌های ثانویه (اسمزی و اکسیداتیو) و با ایجاد اختلال در سوخت‌وساز سلول و تحت تأثیر قرار دادن بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی منجر به کاهش رشد و نمو گیاهان می‌شوند (Kaushal and Wani, 2016; Vurukonda et al., 2016; Jeshni et al., 2017) فسفر دومین عنصر ضروری پرمصرف برای رشد و

ساکاریدها، ترکیبات آلی فرار، برخی هورمون‌ها (سالیسیلیک اسید، سیتوکینین، جیبرلیک اسید و به‌ویژه اکسین‌های ایندولی همچون ایندول-۳-استیک اسید)، تجمع اسمولیت‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه، و به‌طور کلی‌تر تنظیم بیان ژن‌های واکنش به تنش و تغییر مورفولوژی ریشه است (Vurukonda *et al.*, 2016). علاوه بر اثرات مثبت PGPR در افزایش مقاومت و تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی گزارش‌های متعددی نیز مبنی بر نقش محرک رشدی و تغذیه‌ای این میکروارگانیسم‌ها (مخصوصاً فسفر) برای گیاهان وجود دارد. در این راستا گزارش شده که مایه‌کوبی گندم با PGPR همراه با تیمار سنگ فسفات باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه، اندام هوایی، عملکرد دانه، و جذب فسفر ریشه، اندام هوایی و دانه شد. همچنین مایه‌کوبی این باکتری‌ها باعث کاهش pH و افزایش فسفر قابل دسترس، فسفات‌های اسیدی و قلیایی، فیتازها و دهیدروژنازهای خاک نیز شد (Kaur and Reddy, 2015). Saleemi *et al.*, 2017 بیان نمودند که PGPR با افزایش انحلال فسفر، تولید هورمون‌های گیاهی و جلوگیری از پاتوژن‌ها باعث بهبود رشد گیاهان گندم مایه‌کوبی شده با این میکروارگانیسم‌ها شد. در پژوهشی دیگر مایه‌کوبی گندم با PGPR همراه با تیمارهای مدیریت کودی باعث بهبود شاخص‌های رشد و افزایش تولید دانه گندم شد و مقدار فسفر دانه و بقایای گیاه نیز افزایش یافت (Inwati *et al.*, 2018). (Kadmiri *et al.*, 2018). گزارش کردند که بعضی از PGPR در شوری‌های زیاد نیز قادر به تولید اکسین و انحلال فسفر می‌باشند و مایه‌کوبی گندم با این ریزسازواره‌ها باعث افزایش پرولین، پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز و بهبود شاخص‌های رشد گیاه شد. با توجه به اثرات مفید ذکر شده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سه سویه PGPR (جداسازی و خالص‌سازی شده از دیم‌زارهای استان قزوین و زنجان) بر فسفر قابل دسترس خاک و نیز برخی از صفات فیزیولوژیک و رشدی گندم در شرایط تنش کم‌آبی، طراحی و اجرا شد، تا برترین سویه (ها) برای انجام آزمایشات تکمیلی در مزارع دیم گندم (در راستای هدف نهایی تولید کود زیستی مناسب دیم‌زارهای گندم) انتخاب شوند.

مواد و روش

جداسازی، خالص‌سازی، اندازه‌گیری توان تحمل به تنش و ویژگی‌های محرک رشد گیاهی جدایه‌ها تعداد ۸۰ نمونه خاک غیرریزوسفری و ریزوسفری گندم به‌صورت تصادفی در زمان گلدهی (خارج شدن بساک از غلاف خوشه) از ۴۰ نقطه از دیم‌زارهای غرب استان قزوین و شرق استان زنجان انتخاب و در یخچال سیار به آزمایشگاه بیولوژی و بیوتکنولوژی

نمو گیاهان می‌باشد. همچنین این عنصر نقش مهمی در رشد ریشه گیاهان دارد و مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های غیرزیستی افزایش می‌دهد (Ahmed *et al.*, 2018). البته قابلیت دسترسی فسفر خاک برای گیاه به فاکتورهای فیزیکی خاک (بافت، رطوبت، دما، تهویه و فشردگی)، فاکتورهای شیمیایی خاک (pH، مینرالوژی، مواد آلی و برهم‌کنش با دیگر عناصر غذایی)، فاکتورهای زیستی خاک (فعالیت و ترشحات ریشه گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک)، فاکتورهای گیاهی (وارسته و سن گیاه، توسعه و پخشیدگی ریشه گیاه) و فاکتورهای کود فسفره (مقدار، طریقه کاربرد، قابلیت انحلال در آب، فرمول شیمیایی و شکل فیزیکی کود) بستگی دارد (Sultenfuss and Doyle, 1999; Alori *et al.*, 2017; Blaise *et al.*, 2018; Canarini *et al.*, 2019). همچنین (McBeath *et al.*, 2012) بیان نمودند که بین میزان رطوبت خاک و تغذیه فسفر برای گیاهان یک رابطه هم‌افزایی وجود دارد. زیرا هر چه از رطوبت اشباع به سمت رطوبت‌های کمتر پیش می‌رویم جریان رطوبت به‌صورت مایع کاهش می‌یابد و فقط محدود به یکسری منافذ خیلی ریزتر می‌شود و در نتیجه انتشار فسفر محدودتر می‌گردد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تغذیه گیاه گندم با فسفر اغلب باعث افزایش مقاومت آن در برابر تنش کم‌آبی شده و شاخص‌های کمی و کیفی گیاه مانند ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن خشک ریشه، اندام هوایی و دانه، و جذب فسفر اندام هوایی و دانه را بهبود می‌بخشد (Rodriguez and Goudriaan, 1995; Rodriguez *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2018). بنابراین تغذیه مناسب گیاهان گندم کشت شده در دیم‌زارها با فسفر علاوه بر کمک به رشد و نمو بهتر گیاهان، آن‌ها را در مقابل تنش‌های غیرزیستی مخصوصاً تنش کم‌آبی مقاوم‌تر خواهد کرد. استفاده از پتانسیل ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) نیز می‌تواند راهکاری دیگر برای افزایش تولید گندم در دیم‌زارهای کشور باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که جنس‌های مختلفی از PGPR می‌توانند در تنش‌های شوری و کم‌آبی به گیاهان کمک کنند که از جمله این میکروارگانیسم‌ها جنس‌های *Bacillus* و *Staphylococcus* هستند. این جنس‌ها به‌راحتی می‌توانند تنش‌های شوری و کم‌آبی شدید را تحمل کنند و با مکانیسم‌های متعدد باعث کاهش اثرات این تنش‌ها شده و سبب افزایش مقاومت گیاهان شوند؛ که در نهایت باعث افزایش رشد و نمو گیاهان می‌گردند (Upadhyay *et al.*, 2011; Akram *et al.*, 2019; Razzaghi *et al.*, 2016). به‌طور کلی مکانیسم‌های غالب در افزایش مقاومت گیاهان به تنش کم‌آبی توسط PGPR شامل تولید متابولیت‌هایی چون: ۱- آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دامیناز (ACC-d)، اگزوپلی

ساعت گرماگذاری (در ۲۸ درجه سلسیوس با ۱۲۰ دور بر دقیقه) در طول موج ۶۰۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه-گیری شد (Sandhya, 2009). برای بررسی توان انحلال فسفات‌ها به‌صورت کمی، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ارلن-های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر اسپربر مایع با منابع تری کلسیم فسفات (۲/۵ گرم بر لیتر) و خاک فسفات (۸/۲۱ گرم بر لیتر که معادل ۲/۵ گرم بر لیتر تری کلسیم فسفات) تلقیح شد. پس از پنج روز گرماگذاری (در ۲۸ درجه سلسیوس با ۱۲۰ دور بر دقیقه) فسفر محلول در مایع صاف رویی به روش آمونیوم وانادات مولیبدات (روش زرد) اندازه‌گیری شد (Sarikhani et al., 2016). برای آزمون کمی تولید IAA، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت DF^۲ مایع حاوی ال-تریپتوفان تلقیح شد و بعد از ۷۲ ساعت گرماگذاری (در ۲۸ درجه سلسیوس با ۱۲۰ دور بر دقیقه) با استفاده از معرف سالکوفسکی میزان تولید IAA به روش رنگ‌سنجی با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (Patten and Glick, 2002). همچنین آزمون جوانه‌زنی بذور گندم مایه‌کوبی شده با جدایه‌ها (Salem et al., 2018; Rai et al., 2018)، و آزمون‌های کیفی برای بررسی توان تولید آنزیم ACC-d بر روی محیط کشت DF آگار حاوی ACC (Penrose and Glick, 2003)، سیانید هیدروژن (HCN) بر روی محیط کشت NB حاوی گلایسین و آگار (Lorck, 1948) و سیدروفور بر روی محیط کشت CAS-آگار (Schwyn and Neilands, 1987) برای هر ۴۰ جدایه انجام شد و در نهایت سه جدایه انتخاب شدند و شناسایی مولکولی به روش توالی‌یابی ژن رمز کننده 16S rRNA انجام شد (Awais et al., 2017) و در سایت NCBI ثبت گردید؛ که نتایج آزمون‌های انجام شده برای این جدایه‌ها در جدول (۱) آورده شده است.

خاک گروه علوم و مهندسی خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شد. سپس سری‌های رقت‌های ۱۰ برابری از نمونه‌های خاک با سرم فیزیولوژیک تهیه شد و با استفاده از روش کشت سطحی^۱ بر روی محیط کشت اسپربر آگار (Sperber, 1958)، کلنی‌هایی که هاله شفاف ایجاد کردند جداسازی شدند و با دست‌یابی به تک‌کلنی به‌وسیله روش کشت خطی^۲ بر روی محیط کشت اسپربر آگار، جدایه‌های حل‌کننده فسفات خالص‌سازی گردیدند (Awais et al., 2017). برای تهیه سوسپانسیون باکتری با جمعیت یکسان جهت انجام آزمایش‌های مقاومت به تنش و محرک رشد گیاهی، پس از رشد باکتری‌ها درون محیط کشت نوترینت برات (NB)، با بهره‌گیری از روش مک‌فارلند جمعیت باکتری با مقداری سرم فیزیولوژیک استریل در حد 5×10^8 CFU/ml تنظیم گردید (Moreira et al., 2019). آزمون نیمه‌کمی توان انحلال فسفات‌های نامحلول (قطر هاله شفاف بر قطر کلنی (HD/CD)) برای ۵۷۰ جدایه حل‌کننده فسفات به‌صورت لکه‌گذاری با سمپلر (۵ میکرولیتر) بر روی محیط کشت اسپربر آگار انجام شد (Sperber, 1958). تعداد ۴۰ کلنی که شاخص HD/CD آن‌ها بیشتر از ۱/۵ (در مدت ۷ روز) بود برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شدند. با تلقیح ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون جدایه‌ها به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت NB. حاوی غلظت‌های مختلف PEG6000 که معادل پتانسیل‌های اسمزی -۲/۱۷، -۷/۱۷، -۱۲/۱۷، -۱۷/۱۷ و -۲۲/۱۷ بار بودند آزمون تحمل به تنش کم‌آبی (Michel and Kaufmann, 1973)، و حاوی ۰/۵، ۲، ۴ و ۸ درصد نمک سدیم کلراید بودند آزمون تحمل به تنش شوری (Upadhyay et al., 2011)، انجام شد. چگالی نوری (OD) جدایه‌ها که شاخصی از میزان رشد باکتری (توان تحمل جدایه‌های باکتری به تنش‌های کم‌آبی و شوری) است، بعد از ۴۸

جدول ۱. توان تحمل به تنش‌های کم‌آبی، شوری و ویژگی‌های محرک رشد گیاهی جدایه‌های برتر حل‌کننده فسفات

تیمار	نام علمی و شماره دسترسی باکتری‌ها در سایت NCBI	تحمل به کم‌آبی (bar)	تحمل به شوری (%NaCl)	حلالیت تری کلسیم فسفات (mg l ⁻¹)	حلالیت خاک فسفات (mg l ⁻¹)	تولید IAA (mg l ⁻¹)	تولید آنزیم ACC-d	تولید سیدروفور HCN	جوانه زنی بذور فور (%)
B1	<i>Bacillus pumilus</i> strain W72 (MF689055)	۱۷/۱۷-	۴	۵۸	۳۷	-	-	-	۹۴
B2	<i>B. safensis</i> strain W73 (MF689056)	۲۲/۱۷-	۸	۱۰۱	۶۹	۲/۳	-	-	۹۳
B3	<i>Staphylococcus succinus</i> strain R12N2 (MK629237)	۲۲/۱۷-	۸	۲۲۰	۱۳۱	-	-	-	۸۳

* درصد بذور جوانه زده در تیمار شاهد (بدون مایه‌کوبی با باکتری) ۸۱ درصد بود.

جغرافیایی "49°26'25.0" طول شرقی از گرینویچ "35°52'26.0" عرض شمالی از استوا و ارتفاع ۱۵۳۴ متر (واقع در دیم‌زارهای استان قزوین)، از عمق ۳۰-۰ سانتیمتر نمونه برداری شد. پس از

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک استفاده شده در کشت گلدانی خاک مورد استفاده در این آزمایش از مختصات

دسترس، آهن، منگنز، روی و مس قابل دسترس، کربنات کلسیم، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) (Page et al., 1982)، جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات به روش^۱ SPC^۱ (Sperber, 1958)، اندازه‌گیری شد و نتایج آن در جدول (۲) بیان گردید.

عبور نمونه خاک از الک ۲ میلی‌متری، خصوصیات خاک شامل بافت خاک، درصد رطوبت‌های اشباع خاک (SP)، ظرفیت زراعی (FC) و نقطه پژمردگی دائم (PWP) (Klute, 1986)، قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک (ECe)، pH گل اشباع، ماده آلی، نیتروژن کل، فسفر کل، فسفر قابل دسترس، پتاسیم قابل

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

بافت خاک	درصد اشباع (SP)	ظرفیت مزرعه ای (FC)	نقطه پژمردگی دائم (PWP)	قابلیت هدایت الکتریکی (EC)	pH و اکسایش خاک	کربن آلی (OC)	ماده آلی (OM)	کربنات کلسیم	ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC)	نیتروژن کل	فسفر کل	فسفر قابل دسترس	پتاسیم قابل دسترس	آهن قابل دسترس	منگنز قابل دسترس	مس قابل دسترس	روی قابل دسترس	جمعیت PSB
	(%)	(%)		dS m ⁻¹		(%)	(%)		cmol _c kg ⁻¹			(mg kg ⁻¹)						CFU g ⁻¹
	۳۸/۹	۱۵/۸	۷/۱	۶/۹۵	۸/۲۲	۰/۷۳	۱/۲۶	۱۲/۲	۱۵	۰/۰۷	۳۰۳/۸	۲/۳۱	۲۴۵	۲/۵	۳/۱	۰/۳	۰/۷	۲۸۰

۳/۵ کیلوگرم از خاک عبور داده شده از الک ۴ میلی‌متری بر طبق طرح آزمایشی با اعمال تیمارهای کود فسفره در گلدان‌هایی با حجم ۳ لیتر پر شدند. قبل از کاشت گیاه میزان کود مورد نیاز بر اساس آزمون خاک محاسبه و تمام کود پتاسه (۵/۳۲ میلی‌گرم پتاسیم بر کیلوگرم خاک معادل ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم)، کود روی (۲/۲۶ میلی‌گرم روی بر کیلوگرم خاک معادل ۴۰ کیلوگرم در هکتار سولفات روی)، کود فسفره (از منابع سوپر فسفات تریپل و خاک فسفات بر اساس تیمارهای طرح آزمایشی) و نیز ۳۰ درصد نیتروژن (۱۲/۳۸ میلی‌گرم نیتروژن بر کیلوگرم خاک معادل ۱۰۵ کیلوگرم در هکتار اوره) قبل از کشت با خاک مخلوط گردید. همچنین ۱۲/۳۸ و ۱۶/۵۱ میلی‌گرم نیتروژن بر کیلوگرم خاک معادل ۱۰۵ و ۱۴۰ کیلوگرم در هکتار اوره همراه با آهن (۰/۱ میلی‌گرم کلات آهن بر کیلوگرم خاک معادل ۶/۵ کیلوگرم در هکتار سکوسترین آهن ۱۳۸) به ترتیب بعد از تنک کردن و انتهای پنجه‌دهی به صورت محلول در آب به تمام گلدان‌ها اضافه شد (Malekutey and Gheybi, 1997).

آماده‌سازی 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. بذورهای سالم و هم‌اندازه جداسازی و به مدت

طرح و تیمارهای آزمایش

آزمایش به صورت فاکتوریل (سه عامله) و در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با سه تکرار انجام شد. عامل تنش کم‌آبی در دو سطح شامل ۸۰ و ۵۵ درصد ظرفیت زراعی (W55 و W80)؛ عامل باکتری در چهار سطح شامل B0 (بدون مایه‌کوبی با باکتری) و مایه‌کوبی با سویه‌های *Bacillus pumilus* strain W72 (B1)، *Staphylococcus* (B3) و *B. safensis* strain W73 (B2) عامل مصرف کود فسفر در شش سطح شامل شاهد یا بدون کود فسفر (F0)، خاک فسفات (F1)، خاک فسفات + ۲/۶۲ میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک (۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل) (F2)، خاک فسفات + ۵/۲۴ میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل) (F3)، خاک فسفات + ۷/۸۶ میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل) (F4)، و ۷/۸۶ میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل) (F5)، در سه تکرار جمعاً ۱۴۴ واحد آزمایشی (گلدان) بود. در تیمارهای کودی دارای «خاک فسفات»، میزان ۷/۸۶ میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک (۵۰ کیلوگرم در هکتار خاک فسفات) استفاده شد. همچنین خاک فسفات استفاده شده در این پژوهش دارای ۱۳/۸ درصد P2O5 یا ۶/۱۳ درصد P بود.

بوسیله اسپکتروفتومتر مدل Shimadzo japan-UV 3100 قرائت و با توجه به منحنی استاندارد، میزان آن بر حسب میلی گرم بر وزن تازه برگ محاسبه گردید (Bates et al., 1973). در پایان دوره ۱۲۵ روزه رشد گیاهان، خوشه‌ها، اندام هوایی و ریشه‌ها به صورت جداگانه برداشت گردید و پس از خشک شدن در آن (در دمای ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت) وزن خشک ریشه، اندام هوایی و دانه با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شد. پس از تعیین غلظت فسفر ریشه، اندام هوایی، و دانه با روش رنگ‌سنجی (فسفو وانادو مولیبدات-روش زرد)، میزان جذب فسفر (P-uptake) از حاصل ضرب وزن خشک در غلظت فسفر، برای هر بخش از گیاه محاسبه شد (Ozturk, 2005). همچنین فسفر قابل استفاده در خاک نیز به روش السن اندازه گیری شد (Page et al., 1982).

آنالیز آماری داده‌ها

تجزیه آماری با نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون توکی (HSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند. رسم نمودارها و جداول نیز به ترتیب با نرم‌افزارهای Excel و Word انجام گرفت.

یافته‌ها

فسفر قابل دسترس

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش سه‌گانه باکتری، تنش کم‌آبی و کود فسفره بر فسفر قابل دسترس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با توجه به شکل (۱)، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فسفر قابل دسترس به ترتیب مربوط به ترکیب تیمارهای W80 B1 F4 و W55 B0 F0 با مقادیر ۲۴ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم خاک بود. در هر یک از ترکیب تیمارهای باکتری و کود فسفره، سطح رطوبتی W80 نسبت به W55 باعث افزایش فسفر قابل دسترس شد. در تیمار W55، در هر یک از سطوح کود فسفره، تیمار باکتری B3 نسبت به B1، B0 و B2 به‌طور معنی‌داری این صفت را افزایش داد. به‌طوری که در تیمار بدون کود فسفره (F0)، تیمار باکتری B3 نسبت به B1، B0 و B2 به ترتیب باعث افزایش ۲/۴، ۲/۱ و ۲ برابری فسفر قابل دسترس شد. در تیمار حداکثر کود فسفره (F4) نیز تیمار باکتری B3 نسبت به B1، B0 و B2 به ترتیب باعث افزایش ۱/۴، ۱/۴ و ۱/۵ برابری این صفت گردید. همچنین ترکیب تیماری W55 B3 F0 که دارای ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم فسفر قابل دسترس بود نسبت به ترکیب تیمارهای F4 (B0، B1 و B2) W55 از نظر این صفت

۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد غوطه‌ور شدند و با سرم فیزیولوژیک (۰/۸۵ درصد نمک سدیم کلراید) استریل شستشو شدند؛ سپس به مدت ۳ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد غوطه‌ور گردیدند و با سرم فیزیولوژیک استریل ۸ بار شستشو شدند (Salem et al., 2018).

آماده‌سازی زادمایه و مایه کوبی بذور

برای تولید زادمایه، پس از رشد کافی باکتری‌ها درون محیط کشت NB، با استفاده از روش مک فارلند جمعیت باکتری در تمامی سوسپانسیون‌ها تخمین زده شد. سپس سوسپانسیون‌های 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 (CMC) استریل در حد 5×10^8 CFU/ml تنظیم گردید. در ادامه به ازای هر ۱۰۰ بذر استریل سطحی شده، ۴۰ میلی لیتر از زادمایه باکتری‌ها و شاهد 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 (Oksinska et al., 2011; Salem et al., 2018).

کاشت گیاه و اعمال تنش کم‌آبی

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 کم‌آبی شدید (طبق جدول ۲، رطوبت ۵۵ درصد (FC) نزدیک به رطوبت نقطه پژمردگی دائم (PWP) بود) به صورت وزنی اعمال شد (Rodriguez and Goudriaan, 1995) و تا برداشت محصول ادامه یافت. همچنین در طول دوره ۱۲۵ روزه آزمایش، گلدان‌ها در گلخانه (گروه علوم و مهندسی خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در شهر کرج) با درجه حرارت روز $25 \pm 2^\circ\text{C}$ و شب $20 \pm 2^\circ\text{C}$ و طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت با متوسط شدت نور ۲۳۰۰۰ لوکس نگهداری شدند (Ova et al., 2015).

برداشت محصول و اندازه‌گیری صفات در خاک و گیاه

شاخص کلروفیل برگ پرچم ۹۰ روز پس از کشت با استفاده از دستگاه Minolta-SPAD-504 Japan اندازه‌گیری شد. میزان پرولین استخراج شده از برگ پرچم در طول موج ۵۲۰ نانومتر

کود فسفره این نسبت ۱/۱ بود که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری نداشت. به طور کلی در تیمارهای W55 و W80 با افزایش میزان کود فسفره، کارایی باکتریها از نظر افزایش مقدار فسفر قابل دسترس، کاهش یافت.

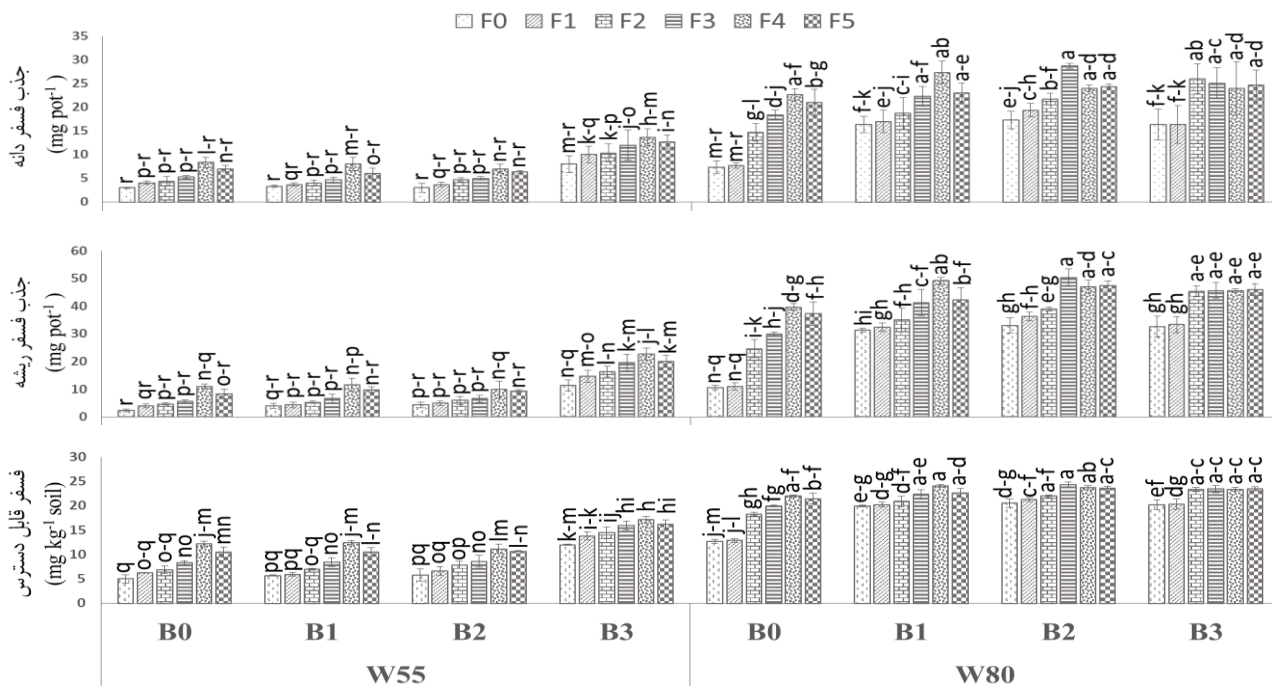
اختلاف معنی داری نداشت. در سطح رطوبتی W80 تیمار باکتری- های B1، B2 و B3 نسبت به B0 در هر یک از سطوح F0، F1، F2 و F3، این صفت را افزایش دادند. به طوری که در تیمار F0 هر یک از ترکیب تیمارهای (B1، B2 و B3) W80 نسبت به B0 W80 فسفر قابل دسترس را ۱/۶ برابر افزایش دادند. ولی در سطح F4

جدول ۳. تجزیه واریانس اثرات تیمارها بر صفات اندازه گیری شده

Source	B	W	F	B×W	B×F	W×F	B×W×F	خطا	CV%	
	۲df	۱	۵	۳	۱۵	۵	۱۵	۹۶		
میانگین مربعات (MS)	DV									
	AvP	**۱۹۴/۰۲	**۴۴۷۶/۵۰	**۱۱۵/۶۴	**۸۹/۴۵	**۴/۸۷	**۴/۳۲	**۲/۶۶	۰/۵۱	۴/۵۸
	ChI	**۳/۱۳	**۳۰۶/۶۰	**۰/۷۲	**۱/۴۰	ns./۱۱	ns./۱۰	ns./۰۵	۰/۱۱	۰/۶۱
	Pro	**۱۹۴/۱۰	**۲۳۴۳۴/۵۰	**۱۲/۵۰	**۵۱۶/۷۰	ns/۱۴۰	ns/۱۴۰	ns./۰۵	۱/۷۰	۱/۳۸
	RDW	**۷/۰۷	**۶۴۱/۴۴	**۱/۸۵	**۱/۴۲	ns./۲۰	ns./۰۷	ns./۰۸	۰/۲۳	۹/۵۷
	SDW	**۲۷/۸۰	**۳۹۸۱/۶۱	**۶/۴۲	**۲۱/۳۵	ns/۱۱۷	ns./۷۰	ns./۳۸	۲/۴۰	۸/۸۲
	GDW	**۱/۶۴	**۳۳۶/۴۲	**۳/۳۰	**۲/۱۵	ns./۳۳	ns./۴۰	ns./۳۲	۰/۳۴	۱۳/۴۷
	RPU	**۱۱۵۲/۱۰	**۲۷۴۷۳/۱۰	**۷۱۰/۰۰	**۴۵۹/۵۰	**۲۶/۲۰	**۱۵۵/۹۰	**۲۵/۶۰	۴/۹۰	۹/۶۱
	SPU	**۱۰۰/۶۰	**۳۶۷۰/۳۴	**۷۰/۲۱	**۵۶/۹۰	ns/۱۳۲	**۱۸/۳۲	ns/۱۲۱	۱/۱۵	۸/۶۱
	GPU	**۲۴۱/۴۴	**۶۶۴۲/۲۵	**۲۲۵/۵۸	**۱۲۴/۴۷	**۱۰/۴۸	**۵۳/۲۲	**۷/۹۵	۳/۸۹	۱۴/۷۴

زادمايه باکتریایی (B)، محتوی آب خاک (W)، کودهای فسفره (F) متغیرهای وابسته (DV)، فسفر قابل دسترس (AvP)، شاخص کلروفیل (ChI)، پرولین (Pro)، وزن خشک ریشه (RDW)، وزن خشک اندام هوایی (SDW)، وزن خشک دانه (GDW)، جذب فسفر ریشه (RPU)، جذب فسفر اندام هوایی (SPU)، جذب فسفر دانه (GPU).

*، ** و ns به ترتیب نشان دهنده معنی داری در $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ و غیر معنی داری $p < 0.05$



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای باکتری، تنش کم آبی و کود فسفره بر فسفر قابل دسترس، جذب فسفر ریشه و دانه

F0، F1، F2، F3، F4 و F5 به ترتیب نشان دهنده شاهد (بدون کود فسفره)، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۲/۶۲ از منبع سوپر فسفات تریپل، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۵/۲۴ از منبع سوپر فسفات تریپل، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۷/۸۶ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل، و ۷/۸۶ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل است. W55 و W80 به ترتیب تیمارهای رطوبتی ۰.۵۵٪ و ۰.۸۰٪ ظرفیت زراعی (FC)، و B0، B1، B2، B3 و B0 به ترتیب مایه کوبی گندم با *S. succinus* strain R12N2، *B. safensis* strain W73، *B. pumilus* strain W72 و شاهد (بدون مایه کوبی باکتری) می باشد. میانگینهای \pm انحراف معیار (SD) با حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در $p < 0.05$ بر اساس آزمون توکی است.

شاخص کلروفیل

دادند (جدول ۴). در تیمار رطوبتی W80، تیمارهای B1، B2 و B3 نسبت به B0 به ترتیب باعث افزایش ۱/۷، ۱/۸ و ۱/۹ درصدی شاخص کلروفیل برگ پرچم شدند؛ ولی در تیمار رطوبتی W55، تیمارهای B1، B2 و B3 نسبت به B0 اختلاف معنی داری از نظر این شاخص نداشتند. بیشترین و کمترین شاخص کلروفیل برگ پرچم با مقادیر ۵۵/۵۵ و ۵۲/۲۰ به ترتیب مربوط به ترکیب تیمارهای W80 B3 و W55 B0 بود (جدول ۵).

با توجه به جدول (۳)، اثر اصلی باکتری، تنش کم آبی و کود فسفره، و برهم کنش دو گانه باکتری و تنش کم آبی بر شاخص کلروفیل برگ پرچم در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. تیمارهای کودی F0، F2، F3، F4 و F5 به ترتیب با میزان کلروفیل ۵۳/۸۵، ۵۳/۹۱، ۵۳/۹۹ و ۵۳/۸۹ نسبت به F0 با میزان شاخص کلروفیل ۵۳/۵۵ به طور معنی داری این صفت را افزایش

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات اصلی کود فسفره بر برخی صفات فیزیولوژیک و رشد گیاه گندم

تیمارهای کود فسفره	شاخص کلروفیل	پروکلین (µg g ⁻¹ fw)	وزن خشک ریشه (g pot ⁻¹)	وزن خشک اندام هوایی (g pot ⁻¹)	وزن خشک دانه (g pot ⁻¹)
F0	۵۳/۵۵ ± ۱/۵۱ c	۹۴/۶۳ ± ۱۳/۳۷ c	۴/۵۹ ± ۲/۲۸ c	۱۶/۷۷ ± ۵/۶۶ b	۳/۷۶ ± ۱/۶۲ b
F1	۵۳/۶۳ ± ۱/۴۶ bc	۹۵/۱۷ ± ۱۳/۷۰ bc	۴/۶۸ ± ۲/۱۷ bc	۱۷/۱۳ ± ۵/۳۴ ab	۳/۹۸ ± ۱/۵۰ b
F2	۵۳/۸۵ ± ۱/۶۱ ab	۹۵/۹۶ ± ۱۳/۵۱ ab	۵/۰۸ ± ۲/۳۲ ab	۱۷/۷۰ ± ۵/۷۶ ab	۴/۴۹ ± ۱/۷۷ a
F3	۵۳/۹۱ ± ۱/۶۰ a	۹۶/۰۸ ± ۱۳/۶۱ ab	۵/۱۳ ± ۲/۲۷ a	۱۷/۸۳ ± ۵/۷۸ ab	۴/۶۲ ± ۱/۸۱ a
F4	۵۳/۹۹ ± ۱/۵۹ a	۹۶/۵۸ ± ۱۳/۹۸ a	۵/۲۷ ± ۲/۲۲ a	۱۸/۱۶ ± ۵/۶۴ a	۴/۶۴ ± ۱/۷۳ a
F5	۵۳/۸۹ ± ۱/۵۵ ab	۹۶/۱۳ ± ۱۳/۸۰ ab	۵/۱۴ ± ۲/۱۹ a	۱۷/۸۱ ± ۵/۶۳ ab	۴/۵۱ ± ۱/۶۶ a

F0، F1، F2، F3، F4 و F5 به ترتیب نشان دهنده شاهد (بدون کود فسفره)، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۲/۶۲ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۵/۲۴ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۷/۸۶ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل، و ۷/۸۶ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل می باشد. میانگین های ± انحراف معیار (SD) با حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در p < 0.05 بر اساس آزمون توکی است.

جدول ۵. مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای تنش کم آبی و باکتری بر برخی صفات فیزیولوژیک و رشدی گیاه گندم

تنش کم آبی	تیمار باکتری	شاخص کلروفیل	پروکلین (µg g ⁻¹ fw)	وزن خشک ریشه (g pot ⁻¹)	وزن خشک اندام هوایی (g pot ⁻¹)	وزن خشک دانه (g pot ⁻¹)	جذب فسفر اندام هوایی (mg pot ⁻¹)
W55	B0	۵۲/۲۰ ± ۰/۳۷ c	۱۰۷/۵۰ ± ۱/۷۷ b	۲/۳۱ ± ۰/۴۵ e	۱۲/۱۳ ± ۱/۴۰ c	۲/۶۲ ± ۰/۴۵ d	۶/۸۳ ± ۱/۱۷ e
	B1	۵۲/۳۶ ± ۰/۳۲ c	۱۰۵/۳۳ ± ۱/۵۱ c	۲/۹۵ ± ۰/۴۷ cd	۱۲/۲۶ ± ۱/۳۸ c	۲/۶۲ ± ۰/۴۷ d	۶/۷۲ ± ۱/۰۷ e
	B2	۵۲/۳۱ ± ۰/۲۵ c	۱۰۴/۲۸ ± ۱/۲۵ c	۲/۸۴ ± ۰/۴۱ d	۱۲/۳۸ ± ۱/۴۱ c	۲/۶۱ ± ۰/۴۱ d	۶/۸۳ ± ۱/۰۳ e
	B3	۵۲/۵۱ ± ۰/۲۲ c	۱۱۶/۹۴ ± ۱/۸۷ a	۳/۳۹ ± ۰/۵۶ c	۱۲/۴۷ ± ۱/۴۳ c	۳/۲۹ ± ۰/۵۶ c	۹/۱۷ ± ۱/۵۱ d
W80	B0	۵۴/۵۴ ± ۰/۳۸ b	۸۰/۵۶ ± ۱/۰۵ e	۶/۳۴ ± ۰/۷۳ b	۲۰/۴۸ ± ۱/۷۵ b	۵/۴۳ ± ۰/۷۳ b	۱۳/۶۱ ± ۲/۸۷ c
	B1	۵۵/۴۷ ± ۰/۴۳ a	۸۵/۶۷ ± ۰/۶۵ d	۷/۲۹ ± ۰/۷۵ a	۲۳/۴۴ ± ۱/۵۹ a	۵/۹۹ ± ۰/۷۵ ab	۱۷/۶۷ ± ۲/۴۳ b
	B2	۵۵/۴۹ ± ۰/۳۳ a	۸۴/۵۰ ± ۰/۷۵ d	۷/۵۵ ± ۰/۵۷ a	۲۴/۳۰ ± ۱/۲۱ a	۶/۱۸ ± ۰/۵۷ a	۱۹/۶۱ ± ۲/۹۶ a
	B3	۵۵/۵۵ ± ۰/۴۵ a	۸۱/۲۸ ± ۱/۱۱ e	۷/۱۹ ± ۱/۰۷ a	۲۳/۰۸ ± ۱/۴۵ a	۵/۸۵ ± ۱/۰۷ ab	۱۹/۰۶ ± ۲/۶۸ a

W55 و W80 به ترتیب تیمارهای رطوبتی ۵۵٪ و ۸۰٪ ظرفیت زراعی (FC)، و B0، B1، B2، B3 و B0 به ترتیب مایه کوبی گندم با *B. pumilus* strain W72، *B. safensis* strain W73، *S. succinus* strain R12N2 و شاهد (بدون مایه کوبی باکتری) می باشد. میانگین های ± انحراف معیار (SD) با حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در p < 0.05 بر اساس آزمون توکی است.

پروکلین

تیمارهای کودی F0، F2، F3، F4 و F5، و همچنین بین تیمارهای کودی F0 و F1 اختلاف آماری معنی دار وجود نداشت (جدول ۴). همچنین هر یک از تیمارهای باکتری در تیمار رطوبتی W55 نسبت به تیمار W80 به طور معنی داری باعث افزایش این صفت شدند. بیشترین و کمترین میزان پروکلین با مقادیر ۱۱۶/۹ و ۸۰/۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ را داشتند. البته بین

اثر اصلی باکتری، تنش کم آبی و کود فسفره، و برهم کنش دو گانه باکتری و تنش کم آبی بر میزان پروکلین برگ پرچم در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). تیمارهای کودی F4 و F0 به ترتیب با مقادیر ۹۶/۶ و ۹۴/۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ، بیشترین و کمترین میزان پروکلین را داشتند. البته بین

B0 به ترتیب با مقادیر ۶/۲ و ۲/۶ گرم بر گلدان بیشترین و کمترین میزان وزن خشک دانه را داشتند. ترکیب تیمار W80 B2 نسبت به تیمار W80 B0 باعث افزایش ۱۴ درصدی وزن خشک دانه شد؛ و ترکیب تیمار W55 B3 نسبت به ترکیب تیمارهای (B0، B1 و B2) باعث افزایش ۲۵ درصدی وزن خشک دانه شد (جدول ۵).

جذب فسفر ریشه

با توجه به جدول (۳)، برهمکنش سه گانه باکتری، تنش کم آبی و کود فسفره بر جذب فسفر ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. بیشترین و کمترین میزان جذب فسفر ریشه با مقادیر ۵۰ و ۲ میلی گرم بر گلدان به ترتیب مربوط به ترکیب تیمارهای W80 B2 F3 و W55 B0 F0 بود. در تیمار W55، در هر یک از سطوح کود فسفره، تیمار باکتری B3 نسبت به B0، B1 و B2 به طور معنی داری این صفت را افزایش داد. به طوری که در تیمار F0، تیمار باکتری B3 با مقدار ۱۱ میلی گرم بر گلدان جذب فسفر ریشه نسبت به تیمارهای B0، B1 و B2 به ترتیب باعث افزایش ۴/۹، ۲/۸ و ۲/۶ برابری جذب فسفر ریشه شد. در تیمار F4 نیز تیمار باکتری B3 با مقدار ۲۳ میلی گرم بر گلدان جذب فسفر ریشه نسبت به تیمارهای B0، B1 و B2 به ترتیب باعث افزایش ۲/۱، ۱/۹ و ۲/۳ برابری این صفت گردید. همچنین ترکیب تیماری W55 B3 F0 که ۱۱ میلی گرم بر گلدان جذب فسفر ریشه داشت نسبت به ترکیب تیمارهای F4 (B0، B1 و B2) W55 که به ترتیب دارای مقادیر ۱۱، ۱۲ و ۱۰ میلی گرم بر گلدان جذب فسفر ریشه بودند اختلاف معنی داری نداشت. در تیمار رطوبتی W80 نیز تیمار باکتری های B1، B2 و B3 نسبت به B0 در هر یک از سطوح کود فسفره (به استثنای سطوح کودی F4 و F5) این صفت را افزایش دادند. به طوری که در تیمار F0 هر یک از ترکیب تیمارهای (B1، B2 و B3) W80 نسبت به W80 B0 جذب فسفر ریشه را به ترتیب ۲/۹، ۳/۱ و ۳/۱ برابر افزایش دادند و در سطح F3 کود فسفره نیز این نسبت به ترتیب ۱/۴، ۱/۷ و ۱/۵ بود. ترکیب تیمارهای W55 B3 F0 و W55 B3 F1 به ترتیب با مقادیر ۱۱ و ۱۵ میلی گرم بر گلدان نسبت به ترکیب تیمارهای W80 B0 F0 و W80 B0 F1 اختلاف معنی داری از نظر جذب فسفر ریشه نداشتند (شکل ۱).

جذب فسفر اندام هوایی

برهمکنش دو گانه باکتری و تنش کم آبی، و تنش کم آبی و کود فسفره بر جذب فسفر اندام هوایی گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). ترکیب تیمارهای W80 B2 و W55 B1 به ترتیب با مقادیر ۱۹/۶ و ۶/۷ میلی گرم بر گلدان

تیمارهای W55 B3 و W80 B0 بود. ترکیب تیمارهای W55 B0، W55 B1، W55 B2، W55 B3، W80 B1 و W80 B2 نسبت به W80 B0 به ترتیب باعث افزایش ۳۳، ۳۱، ۲۹، ۴۵، ۶ و ۵ درصدی این صفت شدند (جدول ۵).

وزن خشک ریشه

با توجه به جدول (۳)، اثر اصلی باکتری، تنش کم آبی و کود فسفره، و برهمکنش دو گانه باکتری و تنش کم آبی بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. تیمارهای کودی F2، F3، F4 و F5 نسبت به F0 باعث افزایش ۱۱، ۱۲، ۱۵ و ۱۲ درصدی این صفت شدند (جدول ۴). ترکیب تیمارهای W80 B2 و W55 B0 به ترتیب با مقادیر ۷/۶ و ۲/۳ گرم بر گلدان بیشترین و کمترین میزان وزن خشک ریشه را داشتند. ترکیب تیمارهای W80 B0، W80 B1، W80 B2، W80 B3، W55 B1 و W55 B2 و W55 B3 نسبت به W55 B0 به ترتیب باعث افزایش ۲/۸، ۳/۲، ۳/۳، ۳/۱، ۱/۳، ۱/۲ و ۱/۵ برابری وزن خشک ریشه شدند (جدول ۵).

وزن خشک اندام هوایی

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر اصلی باکتری و تنش کم آبی، و برهمکنش دو گانه باکتری و تنش کم آبی بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد؛ اثر اصلی کود فسفره نیز بر این صفت در سطح احتمال پنج درصد معنی دار گردید (جدول ۳). تیمارهای کودی F4 و F0 با مقادیر ۱۸/۲ و ۱۶/۸ گرم بر گلدان بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی را داشتند (جدول ۴). بیشترین و کمترین میزان این صفت با مقادیر ۲۴/۳ و ۱۲/۱ گرم بر گلدان مربوط به ترکیب تیمارهای W80 B2 و W55 B0 بود. در تیمار W80 تیمارهای باکتری B1، B2 و B3 نسبت به B0 به طور معنی داری باعث افزایش این صفت شدند؛ ولی در تیمار W55 بین هیچ یک از تیمارهای باکتری (B0، B1، B2 و B3) از نظر این صفت تفاوت معنی داری وجود نداشت. ترکیب تیمارهای W80 B0، W80 B1، W80 B2، W80 B3 نسبت به W55 B0 باعث افزایش ۱/۷، ۱/۹، ۲ و ۱/۹ برابری وزن خشک اندام هوایی شد (جدول ۵).

وزن خشک دانه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر اصلی باکتری، تنش کم آبی و کود فسفره، و برهمکنش دو گانه باکتری و تنش کم آبی بر وزن خشک دانه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). تیمارهای کودی F2، F3، F4 و F5 نسبت به F0 به ترتیب باعث افزایش ۲۰، ۲۳، ۲۴ و ۲۰ درصدی وزن دانه شدند؛ و نسبت به F1 نیز به ترتیب باعث افزایش ۱۳، ۱۶، ۱۷ و ۱۳ درصدی این صفت گردیدند (جدول ۴). ترکیب تیمارهای W80 B2 و W55

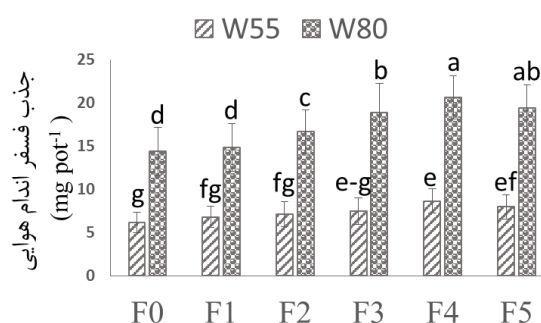
را افزایش داد. همچنین ترکیب تیماری W55 B3 F5 نیز با مقدار ۱۲/۷ میلی گرم بر گلدان نسبت به W55 B1 F5 باعث افزایش معنی دار (۲/۱ برابری) این صفت شد. در تیمار رطوبتی W80 و در سطح F0 کود فسفره تیمار باکتری های B1، B2 و B3 نسبت به B0 به ترتیب باعث افزایش ۲/۲، ۲/۴ و ۲/۲ برابری جذب فسفر دانه و در سطح F1 کود فسفره نیز به ترتیب باعث افزایش ۲/۲، ۲/۵ و ۲/۱ برابری این صفت شدند. ترکیب تیمارهای W80 B2 F2 و W80 B3 F2 به ترتیب با مقادیر ۲۱/۷ و ۲۶ میلی گرم بر گلدان نسبت به W80 B0 F2 با مقدار ۱۴/۷ میلی گرم بر گلدان باعث افزایش معنی دار جذب فسفر دانه شدند. همچنین ترکیب تیمارهای W80 B2 F3 و W80 B3 F3 به ترتیب با مقادیر ۲۸/۷ و ۲۵ میلی گرم بر گلدان نسبت به W80 B0 F3 با مقدار ۱۸/۳، به ترتیب باعث افزایش ۱/۶ و ۱/۴ برابری این صفت شدند (شکل ۱).

بحث

به طور کلی می توان گفت که اعمال تنش شدید کم آبی باعث کاهش غلظت فسفر قابل دسترس و کاهش خصوصیات فیزیولوژیک و رشدی گیاه گندم شد. با توجه به ویژگی های منحصر به فرد آب و نقش آن در واکنش های زیستی و غیر زیستی، با کاهش رطوبت خاک تا حدود نقطه پژمردگی دائم (W55) جذب آب توسط گیاه با مشکل روبرو می شود. در نتیجه گیاه برای تأمین آب مورد نیاز خود، باید انرژی بیشتری صرف کند و یا با مقدار آب کمتر از حد ایده آل فعالیت های خود را انجام دهد؛ که این عوامل باعث سوخت و ساز ناقص یا نامطلوب سلول ها شده و در نهایت فعالیت طبیعی گیاه به هم خورده و رشد کاهش می یابد. همچنین در شرایط تنش کم آبی، با تشکیل ریشه پوش (Huang *et al.*, 1993) به نظر می رسد گندم وارد فاز دفاعی شده و مانع از گسترش ریزوسفر خود شود. با در نظر گرفتن اهمیت ویژه ریزوسفر در تأمین آب، عناصر غذایی و فعالیت میکروارگانیسم ها، همچنین تأثیر ترشحات باکتری ها و ریشه گیاهان در انحلال و قابلیت دسترسی عناصر غذایی (Hunter *et al.*, 2007; Pinton *et al.*, 2014; Alori *et al.*, 2017; Canarini *et al.*, 2019) با کاهش قطر ریزوسفر در اثر تنش رطوبتی فراهمی فسفر قابل دسترس خاک و رشد و نمو گیاه نیز کاهش خواهد یافت.

در شرایط تنش شدید کم آبی، با در نظر گرفتن حد بحرانی فسفر قابل دسترس که برای کشت دیم گندم ۸ میلی گرم بر کیلوگرم خاک تعریف شده است (Malekutey and Gheybi, 1997)، تیمار باکتری *S. succinus* strain R12N2 بدون استفاده از کود فسفره، فسفر قابل دسترس را به میزان ۴ میلی گرم بر

بیشترین و کم ترین میزان جذب فسفر اندام هوایی را داشتند. ترکیب تیمارهای W80 B0، W80 B1، W80 B2، W80 B3 و W55 B3 نسبت به W55 B1 به ترتیب باعث افزایش ۲، ۲/۶، ۲/۹، ۲/۸ و ۱/۴ برابری جذب فسفر اندام هوایی شدند (جدول ۵). ترکیب تیمارهای W80 F4 و W55 F0 به ترتیب با مقادیر ۲۰/۷ و ۶/۲ میلی گرم بر گلدان بیشترین و کمترین جذب فسفر اندام هوایی را داشتند. ترکیب تیمارهای W80 F0، W80 F1، W80 F2، W80 F3، W80 F4، W80 F5 و W55 F4 و W55 F5 نسبت به W55 F0 به ترتیب باعث افزایش معنی دار ۲/۳، ۲/۴، ۲/۷، ۳/۱، ۳/۴، ۳/۱، ۱/۴ و ۱/۳ برابری جذب فسفر اندام هوایی شدند (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای کود فسفره و تنش کم آبی بر جذب فسفر اندام هوایی

F0، F1، F2، F3، F4 و F5 به ترتیب نشان دهنده شاهد (بدون کود فسفره)، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۲/۶۲ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۵/۲۴ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل، ۷/۸۶ mg P/kg از منبع خاک فسفات + ۷/۸۶ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل، و ۷/۸۶ mg P/kg از منبع سوپر فسفات تریپل است. W55 و W80 به ترتیب تیمارهای رطوبتی ۵۵٪ و ۸۰٪ ظرفیت زراعی (FC) می باشد. میانگین های \pm انحراف معیار (SD) با حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در $p < 0.05$ بر اساس آزمون توکی است.

جذب فسفر دانه

برهم کنش سه گانه باکتری، تنش کم آبی و کود فسفره بر جذب فسفر دانه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). ترکیب تیمارهای W80 B2 F3 و W55 (B2 و B0) F0 با مقادیر ۲۸/۷ و ۳ میلی گرم بر گلدان بیشترین و کمترین میزان جذب فسفر دانه را داشتند. در تیمار W55 و سطح کودی F3، تیمار باکتری B3 با مقدار ۱۲ میلی گرم بر گلدان نسبت به B0، B1 و B2 به ترتیب با مقادیر ۵/۳، ۴/۷ و ۵ میلی گرم بر گلدان به طور معنی داری این صفت را افزایش داد. ترکیب تیماری W55 B3 F4 با مقدار ۱۳/۷ میلی گرم بر گلدان نسبت به W55 B2 F4 با مقدار ۷ میلی گرم بر گلدان به طور معنی داری جذب فسفر دانه

شده (البته تا یک حدی) تفاوت معنی داری در برخی از صفات گیاهی مشاهده نمی شود (Jeshni et al., 2017).

در شرایط بدون تنش و تنش کم آبی، اغلب تیمارهای باکتری نسبت به شاهد (بدون مایه کوبی باکتری) فسفر قابل دسترس را افزایش دادند. پژوهش‌ها نیز تأیید کننده این موضوع می باشد که باکتری‌های محرک رشد گیاه با فرایندهای ترشح ترکیبات کمپلکس کننده یا حل کننده مانند اسیدهای آلی (Sharma et al., 2013)، اسیدهای غیر آلی (Stamford et al., 2003) و کیلیت کردن (Rashid et al., 2004)، فسفر قابل دسترس را افزایش می دهند.

غالباً در تیمار رطوبتی مطلوب (W80) هر سه تیمار باکتری، و در تیمار رطوبتی نزدیک به نقطه پژمردگی دائم (W55) نیز تیمار باکتری *S. succinus* strain R12N2 نسبت به شاهد باعث بهبود صفات فیزیولوژیک و رشدی گیاه شد. پژوهش‌ها نیز نشان می دهد که جنس‌های *Bacillus* و مخصوصاً *Staphylococcus* در شرایط تنش و غیرتنش با مکانیسم‌های مختلف می توانند صفات فیزیولوژیک، و در نهایت رشد و نمو گیاهان را بهبود بخشند (Akram et al., 2016; Etesami and Maheshwari, 2018; Razzaghi et al., 2019). مکانیسم‌های غالب در افزایش مقاومت گندم و دیگر گیاهان زراعی به تنش کم آبی توسط PGPR شامل: ۱- تولید فیتوهورمون‌ها (مانند IAA، جیبرلین و غیره) که باعث توسعه سیستم ریشه‌ای شده و از این طریق جذب آب و عناصر غذایی به وسیله گیاه افزایش می یابد، ۲- تولید ACC-d) که با تجزیه اتیلن از تجمع و اثرات تنشی آن جلوگیری می کند، ۳- افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی (مانند فسفر، پتاسیم و غیره)، ۴- تجمع اسمولیت‌ها در گیاهان (مانند افزایش قندهای محلول کل (TSS)، پرولین، گلاسیسین بتائین و غیره)، ۵- هموستازی یون در گیاه مخصوصاً افزایش نسبت پتاسیم به سدیم، ۶- تولید ترکیبات آلی فرار (VOCs) که باعث تنظیم بیان ژن‌های واکنش به تنش، تحریک به تولید گلاسیسین بتائین و بسته شدن روزنه‌ها در گیاهان، ۷- تولید آگزوپلی ساکاریدها که باعث افزایش فراهمی آب و عناصر غذایی برای گیاهان، ۸- تحریک گیاهان به تولید آنتی اکسیدان‌ها که باعث تجزیه و کاهش اثرات منفی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید شده در اثر تنش، و ۹- تحریک سیستم مقاومت به تنش گیاه که باعث تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک متناسب گیاه برای مقابله با تنش‌های محیطی، می شود (Vurukonda et al., 2016; Barnawal et al., 2017; Etesami and Maheshwari, 2018). البته همیشه و در همه شرایط میکروارگانیسم‌هایی که در شرایط درون شیشه‌ای خاصیت محرک رشدی دارند، در بسترهای خاکی باعث بهبود رشد و نمو

کیلوگرم خاک معادل ۱۵/۶ کیلوگرم در هکتار بالاتر از حد بحرانی، افزایش داد. تیمار خاک فسفات نیز نسبت به شاهد (تیمار بدون کود) در اغلب صفات اندازه گیری شده، تفاوت معنی داری ایجاد نکرد؛ ولی تیمار خاک فسفات همراه با تیمار باکتری *S. succinus* strain R12N2 نسبت به شاهد باعث افزایش فسفر قابل دسترس و جذب فسفر گیاه شد. همچنین استفاده از کود سوپر فسفات تریپل (علی‌رغم اینکه میان بعضی از سطوح آن از نظر برخی صفات اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت) نسبت به شاهد باعث افزایش این صفت‌ها شدند؛ با این وجود تأثیر تیمارهای کود سوپر فسفات تریپل نیز همراه با تیمار باکتری *S. succinus* strain R12N2 بر این صفات به مراتب بیشتر بود. پژوهش‌ها نشان می دهد که خاک فسفات می تواند به عنوان منبع فسفر مورد استفاده قرار گیرد ولی کارایی آن به واکنش پذیری آن در خاک بستگی دارد. شواهد زیادی وجود دارد که خاک فسفات در خاک‌هایی با واکنش خنثی تا قلیایی کارایی ندارند ولی در خاک‌های اسیدی می تواند به عنوان کود مناسب مورد استفاده قرار گیرند (Johnston and Syers, 1998). بنابراین با در نظر گرفتن pH و مقدار کربنات کلسیم خاک مورد استفاده در این آزمایش (جدول ۲) به نظر می رسد که استفاده از خاک فسفات کارایی لازم را در تأمین فسفر گیاه نداشته باشد. البته در چنین شرایطی، اغلب پژوهش‌ها نشان می دهد که استفاده از PGPR در آزادسازی فسفر از منابع مختلف و جذب آن بوسیله گیاه نقش بی بدیلی دارد (Kaur and Reddy, 2015; Adnan et al., 2017; Kadmiri et al., 2018) که در این خصوص نقش جنس *Staphylococcus* در پژوهش‌های (Akram et al., 2016) و (Razzaghi et al., 2019) اثبات شده است. همچنین با توجه به جدول (۱)، چون توان انحلال و آزادسازی فسفر از منابع فسفات‌های کم محلول به وسیله سویه *S. succinus* strain R12N2 نسبت به دو سویه دیگر بیشتر است، بنابراین برتری این سویه در افزایش قابلیت دسترسی و تأمین فسفر گیاه توجیه پذیر است. با این حال عوامل زیادی در قابلیت دسترسی فسفر خاک و جذب آن به وسیله گیاه نقش دارند که از جمله آن‌ها می توان به فاکتورهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک، و همچنین فاکتورهای گیاهی و کود فسفره اشاره کرد (Sultenfuss and Doyle, 1999; Alori et al., 2017; Blaise et al., 2018; Canarini et al., 2019). بنابراین برآیند فاکتورهای ذکر شده در این موضوع نقش دارد که پیچیدگی خاصی به چرخه فسفر داده است. به همین دلیل تخمین قابلیت دسترسی فسفر خاک و جذب آن به وسیله گیاه با در نظر گرفتن تعداد معدودی از فاکتورهای اشاره شده احتمالاً اشتباه خواهد بود. از این رو گاهی با افزایش مقدار کود سوپر فسفات تریپل مصرف

تنش کم‌آبی باعث افزایش میزان پرولین برگ پرچم گیاه گندم شد. در تنش شدید کم‌آبی تنها تیمار *S. succinus* نسبت به شاهد باعث افزایش میزان پرولین، وزن دانه و جذب فسفر ریشه گردید. تیمارهای *B. pumilus*، *B. safensis* و *S. succinus* در هر دو سطح رطوبتی، باعث افزایش وزن خشک ریشه شدند. همچنین تیمار *S. succinus* در هر دو سطح رطوبتی، ولی تیمارهای *B. pumilus* و *B. safensis* تنها در سطح بدون تنش رطوبتی، نسبت به شاهد جذب فسفر اندام هوایی را افزایش دادند. در کل برای کشت گندم که احتمال دارد در یک یا چندین مرحله از رشد و نمو خود با تنش کم‌آبی مواجه شود (مانند کشت دیم گندم)، استفاده از تیمار باکتری *S. succinus* strain R12N2 گزینه مناسبی به نظر می‌رسد. چون در شرایط طبیعی دیم‌زارها احتمال دریافت نزولات جوی متفاوت است، به نظر می‌رسد تیمار باکتری *S. succinus* strain R12N2 بتواند تولید دانه گندم را در این شرایط افزایش دهد. با این وجود، استفاده از این باکتری در قالب کود زیستی برای دیم‌زارهای گندم ایران یا سایر نقاط جهان، نیازمند آزمایشات و ارزیابی‌های تکمیلی در مزارع دیم آن کشورها است.

گیاهان نمی‌شود (Delfim et al., 2018). به نظر می‌رسد این موضوع به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی و کارکردی باکتری‌های مختلف باشد و با تغییر شرایط ممکن است هر باکتری رفتارهای متفاوتی از خود نشان دهند.

نتیجه‌گیری

در شرایط تنش شدید کم‌آبی، تیمار *S. succinus* نسبت به شاهد (بدون مایه‌کوبی باکتری) و دو سویه دیگر تیمارهای باکتری *B. pumilus* و *B. safensis*) در هر سطحی از کود فسفره به‌طور معنی‌داری فسفر قابل دسترس و جذب فسفر دانه را افزایش داد. همچنین استفاده از تیمار *S. succinus* بدون استفاده از کود فسفره، فسفر قابل دسترس و جذب فسفر ریشه را تقریباً به اندازه تیمار شاهدی که در آن از سطح حداکثری کود فسفات استفاده شده بود، افزایش داد. علاوه بر این تیمار *S. succinus* بدون استفاده از کود فسفره، فسفر قابل دسترس را به میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک معادل ۱۵/۶ کیلوگرم در هکتار بالاتر از حد بحرانی فسفر افزایش داد. همچنین خاک فسفات زمانی می‌تواند به‌عنوان منبع فسفر مورد استفاده قرار گیرد که همراه با آن تیمار باکتری *S. succinus* نیز استفاده شود. تنش شدید نسبت به عدم

REFERENCES

- Adnan, M., Shah, Z., Fahad, S., Arif, M., Alam, M., Khan, I. A., Mian, I. A., Basir, A., Ullah, H. and Arshad, M. (2017). Phosphate-solubilizing bacteria nullify the antagonistic effect of soil calcification on bioavailability of phosphorus in alkaline soils. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13.
- Ahmed, M., Khan, S., Irfan, M., Aslam, M.A., Shabbir, G. and Ahmad, S. (2018). Effect of Phosphorus on Root Signaling of Wheat under Different Water Regimes. Chapter 1, *Global Wheat Production*, 1-31.
- Ahmadi, K., Ebadzadeh, H. R., Abdshah, H., Kazemian, A. and Rafiey, M. (2018). Agricultural Statistics Vol. I: Crops. 1st ed., Publication of Ministry of Agriculture, Deputy of Planning and Economics, Tehran, Iran. (in Farsi)
- Akram, M. S., Shahid, M., Tariq, M., Azeem, M., Javed, M. T., Saleem, S. and Riaz, S., (2016). Deciphering *Staphylococcus sciuri* SAT-17 mediated anti-oxidative defense mechanisms and growth modulations in salt stressed maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Microbiology*, 7, 1-14.
- Alori, E. T., Glick, B. R. and Babalola, O. O. (2017). Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-8.
- Awais, M., Tariqa, M., Ali, A., Ali, Q., Khan, A., Tabassum, B., Nasir, I. A. and Husnain, T. (2017). Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 312-321.
- 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(4), 502-514.
- Bates, S., Waldern, R. P. and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Blaise, D., Venugopalan, M. V. and Singh, G. (2018). Textbook of Plant Nutrient Management, *Phosphorus Management*, 93-121.
- Canarini, A., Kaiser, C., Merchant, A., Richter, A. and Wanek, W. (2019). Root Exudation of Primary Metabolites: Mechanisms and Their Roles in Plant Responses to Environmental Stimuli. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1-19.
- 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*, 10, 1-15.
- 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.
- Huang, B., North, G. and Nobel P. S. (1993). Soil sheaths, photosynthate distribution to roots and rhizosphere water relations for *Opuntia ficus-indica*. *International Journal of Plant Sciences*, 154(3), 425-431.
- Hunter, P. J., Teakle, G. R. and Bending, G. D. (2014). Root traits and microbial community interactions in relation to phosphorus availability and acquisition, with particular reference to Brassica. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1-18.
- 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.). *Int J Curr Microbiol App Sci*, 7, 2398-2407.
- Jeshni, M. G., Mousavinik, M., Khammari, I. and Rahimi, M. (2017). The changes of yield and essential oil components of German Chamomile (*Matricaria recutita* L.) under application of phosphorus and zinc fertilizers and drought stress conditions. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16, 60–65.
- Johnston, A. E. and Syers, J. K. (1998). Nutrient management for sustainable crop production in Asia. Wallingford, UK, CAB International, 394 pp.
- 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*, 43(7), 3403–3415.
- 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(3), 428–437.
- 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.
- Klute, A. (Ed), (1986). Methods of Soil Analysis. Part 1: Physical and Mineralogical Methods. 2nd ed. Agronomy, ASA and SSSA, Wisconsin, USA: Madison.
- Lorck, H. (1948). Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiol Plant*, 1, 142–146.
- Malekutey, M. J. and Gheybi, M. N. (1997). Determination of the critical level of the nutritional elements in strategic products and the correct recommendation of fertilizer in the country. Agriculture education publication, Karaj. (in Farsi)
- 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(2), 337–348.
- Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51(5), 914–916.
- Moreira, H., Pereira, S. I. A., Marques, A. P. G. C., Rangel, A. O. S. S. and Castro, P. M. L. (2019). Effects of soil sterilization and metal spiking in plant growth promoting rhizobacteria selection for phytotechnology purposes. *Geoderma*, 334, 72–81.
- 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(6), 364-373.
- 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*, 393(2), 147–162.
- Ozturk, L., Eker, S., Torun, B. and Cakmak, I. (2005). Variation in phosphorus efficiency among 73 bread and durum wheat genotypes grown in a phosphorus-deficient calcareous soil. *Plant and Soil*, 269(2), 69-80.
- 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.
- Patten, C. L. and Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 3795–3801.
- Penrose, D. M. and Glick, B. R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol Plants*, 118, 10-15.
- 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.
- Rai, A., Cherif, A., Cruz, C. and Nabti, E. (2018). Extracts from Marine Macroalgae and *Opuntia cus-indica* Cladodes Enhance Halotolerance and Enzymatic Potential of Diazotrophic Rhizobacteria and Their Impact on Wheat Germination under Salt Stress. *Pedosphere*, 28, 241–254.
- Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S. and Latif, F. (2004). Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(2), 187–196.
- 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.
- Rodriguez, D. and Goudriaan, J. 1995. Effects of phosphorus and drought stresses on dry matter and phosphorus allocation in wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 18(11), 2501-2517.

- Rodriguez, D., Goudriaan, J., Oyarzabal, M. and Pomar, M. C. 2008. Phosphorus nutrition and water stress tolerance in wheat plants. *Journal of Plant Nutrition*, 19(1), 29-39.
- Salem, G., Stromberger, M. E., Byrne, P. F., Manter, D. K., El-Fekid, W. and 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.
- 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. *Agri Food Secur*, 6:46.
- Sandhya, V., Ali, S. K. Z., Minakshi, G., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. (2009). Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biology and Fertility of Soils*, 46(1), 17-26.
- Sarikhani, M. R., Khoshru, B. and Oustan, S. (2016). Efficiency of some bacterial strains on potassium release from micas and phosphate solubilization under in-vitro conditions. *Geomicrobiol. J.*, 33, 832-838.
- Schwyn, B. and Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem*, 160, 47-56.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H. and Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus*, 2, 587.
- Sperber, J. I. (1958). The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research*, 9(6), 778 - 781.
- Stamford, N. P., Santos, P. R., Moura, A. M. M. F. and Freitas, A. D. S. (2003). Biofertilizers with natural phosphate, sulphur and *Acidithiobacillus* in a soil with low available-P. *Scientia Agricola*, 60(4), 767-773.
- Sultenfuss, J. H. and Doyle, W. J. (1999). Phosphorus for Agriculture. *Better Crops*, 83, 1-40.
- Upadhyay S. K., Singh, J. S., and Singh, D. P. (2011). Exopolysaccharide-Producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere*, 21(2), 214- 222.
- USDA. (2019). World Agricultural Production. Foreign Agricultural Service. Circular Series WAP, 5-19.
- Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M. S. Z. A. (2016) Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 184, 13-24.