نشریه علمی زیست‌شناسی خاک / جلد ۱۱ / شماره ۲ / ۱۴۰۲/ ۱۶۷-۱۸۲
https://doi.org/10.22092/sbj.2024.356053.225

اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه و گوگرد بر رشد و غلظت عناصر غذایی کم مصرف دانه گندم در خاک‌های شور–سدیمی

مریم جوادزاده، کاظم خاوازی*، نوید قنواتی، علیرضا جعفرنژادی و وحیداله جهاندیده مهجن آبادی

دانشجوی گروه خاک‌شناسی، پردیس علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی؛ **Maryam_javadzadeh@yahoo.com**
استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **khavazik@yahoo.com**
استادیار گروه خاک‌شناسی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی؛ **ghanavati.navid2014@gmail.com**
استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **arjafarnejady@gmail.com**
پژوهشگر مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ **vahid.jahandideh67@gmail.com**

دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲۰ و پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۹

«مقاله پژوهشی»

چکیده

شوری و سدیمی بودن خاک منجر به برهم زدن تعادل عناصر غذایی در خاک و ایجاد محدودیت در رشد گیاه می‌شود. آزمایشی برای ارزیابی کاربرد گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* و باکتری‌های محرک رشد گیاه جداسازی شده از خاک‌های شور و سدیمی بر عملکرد و غلظت عناصر غذایی کم مصرف گندم (رقم چمران) در خاک‌های شور و سدیمی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی، در سه تکرار در گلخانه اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه نوع خاک شور و سدیمی (S1: SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، (S2: SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و (S3: SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1})، چهار سطح از باکتری‌های محرک رشد گیاه (B0: شاهد، *Pseudomonas alcaliphila*، *Rhizobium pusense* و *Bacillus subtilis*) و دو سطح گوگرد همراه با باکتری *Thiobacillus thiooxidans* (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*) بودند. بر اساس توالی‌یابی ژن16S rRNA، باکتریهای محرک رشد برتر به عنوان باکتری‌های*Pseudomonas alcaliphila*، *Bacillus subtilis* و *Rhizobium pusense*، شناسایی شدند. نتایج نشان داد که افزودن گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans* و سایر باکتری‌های محرک رشد در سطوح شوری و سدیمی مختلف منجر به افزایش عملکرد دانه و غلظت عناصر کم مصرف نسبت به شاهد شد. در سطوح شوری و سدیمی S1 و S3، بیشترین عملکرد دانه در گیاهان تلقیح شده با باکتری *R. pusense* (۱۳/۱ و ۸۸/۸ درصد) مشاهده شد. تلفیق باکتری‌های محرک رشد و گوگرد به همراه باکتری *T. thiooxidans* تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه و غلظت عناصر کم‌مصرف در خاک‌های شور و سدیمی نداشت. به طور کلی کاربرد انفرادی باکتری *R. pusense* جداسازی شده از خاک‌های شور و سدیمی و گوگرد به همراه باکتری *T. thiooxidans* نقش بسزایی در بهبود عملکرد و غلظت عناصر کم‌مصرف در گندم در خاک‌های شور و سدیمی دارد.

کلمات کلیدی: باکتری‌های ریزوسفر، تنش شوری و سدیمی، جداسازی باکتری‌ها، گندم، *Thiobacillus thiooxidans*

*-آدرس ایمیل نویسنده مسئول: khavazik@yahoo.com

مقدمه

غلات از جمله گندم یکی از راهبردی‌ترین گیاهان زراعی محسوب می‌شود که در الگوی غذایی بسیاری از کشورهای جهان بوده و در سطح وسیعی از اراضی دنیا کشت می‌شود. شوری خاک از جمله عوامل تنش‌زای محیطی می‌باشد که علاوه بر اختلال و کاهش قابلیت جذب آب توسط ریشه‌ها، گندم را نیز از نظر تغذیه‌ای و فرآیندهای متابولیکی دچار مشکل می‌نماید و بر رشد آن و تولید محصول تأثیر منفی می‌گذارد (هوبر و همکاران، ۲۰۲۰). خاک‌های شور و سدیمی (EC> ۴ دسی زیمنس بر متر، (Exchangeable Sodium Percentage)ESP > ۱۵ و pH <۸/۵) دسته‌ای از خاک‌های مساله‌دار هستند که شوری زیاد در آن‌ها، به‌عنوان یک عامل تنش‌زا برای گیاه عمل نموده و تولید اتیلن را در ریشه گیاه افزایش می‌دهد (ظفر و همکاران، ۲۰۱۸).

افزایش مقاومت گیاهان در خاک‌های شور و سدیمی به‌وسیله روش‌های مقرون به‌صرفه و دوستدار محیط‌زیست می‌تواند گامی مؤثر در استفاده پایدار از این نوع از خاک‌ها در جهت افزایش تولید کشاورزی باشد. در این راستا استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) نقش بسزائی در کاهش اثرات منفی تنش شوری بر گیاهان دارد (زولوتاردریجز و همکاران، ۲۰۱۴). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که باکتری‌های ریزوسفری می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن در گیاهان در هنگام بروز تنش جلوگیری نموده و سبب کاهش اثرات منفی این هورمون در رشد و توسعه اندام‌های گیاهی به‌ویژه ریشه شوند (هامونتس و همکاران، ۲۰۱۸). این باکتری‌ها با تولید آنزیم ACC–دآمیناز (ACC-deaminase)، سبب هیدرولیز پیش ماده تولید اتیلن در گیاه (ACC) به آمونیوم و آلفاکتوبوتیرات و مانع تولید بیش‌از حد اتیلن تنشی در گیاه شده و از کاهش رشد ریشه جلوگیری می‌کنند (وجان و همکاران، ۲۰۱۶).

همچنین باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید اسیدهای معدنی و آلی، تولید سیدروفورها و افزایش فراهمی عناصر کم‌مصرف به‌ویژه آهن به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند (گودا و همکاران، ۲۰۱۸). نتایج یک تحقیق نشان داد که باکتری *Rhizobium pusense* منجر به افزایش غلظت نیتروژن و رشد بهتر ریشه و اندام هوایی و در نتیجه افزایش تحمل ماش سبز در شرایط تنش شوری شد (داس و همکاران، ۲۰۲۱). همچنین تلقیح باکتری *Pseudomonas alcaliphila*، تحمل گیاه برنج به تنش شوری را از طریق القای میکروبیوم ریزوسفر و تغییرات الگوی پروتئوم گیاه افزایش داد (زنگ و همکاران، ۲۰۲۳). نتایج یک مطالعه نشان داد که باکتری‌های محرک رشد گیاهان از جمله *Bacillus safensis* می‌توانند در بهبود شاخص‌های رشد گیاه گندم در شرایط تنش شوری مؤثر باشند (مصلح آرانی و همکاران، ۱۴۰۰). نتایج تأثیر باکتری‌های *Exiguobacterium aurantiacum*، *Pseudomonas fluorescence* و *Bacillus pumilus* به‌تنهایی و در ترکیب بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک دو رقم گندم حساس و مقاوم به شوری، نشانگر برتری *B. pumilus* در افزایش تحمل ارقام گندم با افزایش شوری بود (نواز و همکاران، ۲۰۲۰). باکتری *Bacillus subtilis* نقش مهمی در بهبود عملکرد گندم در شرایط تنش شوری از طریق تثبیت نیتروژن، تولید آمونیاک و سنتز ایندول استیک اسید داشته است (گول و همکاران، ۲۰۲۳).

راندمان بهبود رشد گیاهان در شرایط تنش شور و سدیمی از طریق کاربرد باکتری‌های مولد ACC–دآمیناز به ماندگاری این ریزجانداران در این شرایط بستگی دارد (ورکوندا و همکاران، ۲۰۱۶). تنش شوری در خاک‌های شور–سدیمی، فعالیت‌های حیاتی باکتری‌ها را به‌دلیل کاهش آب قابل استفاده محدود و بقا آنها را تهدید می‌کند (اعتصامی و ماهشواری، ۲۰۱۸). گزارش‌هایی مبنی بر توانایی زنده ماندن و بقای باکتری‌های محرک رشد گیاه تحت شرایط تنش آبی، به‌دلیل تولید اگزوپلی‌ساکاریدها

(EPS[1]) وجود دارد (کومار آرورا و همکاران، ۲۰۱۸). تلقیح همزمان سویا با *Bradyrhizobium japonicum* و *Bacillus subtilis* (دارای توانایی تولید EPS)، اثرات تنش شوری را با محدود کردن جذب سدیم از طریق EPS کاهش داد (هان و لی، ۲۰۰۵).

بسیاری از تحقیقات نشان داده است که مصرف گوگرد و تولید اسیدسولفوریک در نتیجه اکسایش آن، باعث کاهش pH، تأمین سولفات مورد نیاز گیاهان و افزایش قابلیت جذب فسفر و عناصر کم‌مصرف در خاک‌های شور و سدیمی می‌شود (داس و همکاران، ۲۰۱۹؛ یلدیزتکین و کوزو، ۲۰۱۹). احمد و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند کاربرد گوگرد در خاک‌های شور و سدیمی از طریق کاهش درصد سدیم تبادلی خاک منجر به افزایش عملکرد گیاهان زراعی برنج و ذرت شد. به‌دلیل سرعت کند اکسایش گوگرد خاک‌ها، شرط بهره‌گیری از این توان بالقوه گوگرد، حضور باکتری‌های اکسیدکننده این ماده در خاک به‌ویژه جنس *تیوباسیلوس* است (هادی اسدی رحمانی و همکاران، ۲۰۱۸؛ خاوازی و همکاران، ۱۳۹۷).

اگرچه محققان اثر مجزای کاربرد باکتری‌های محرک رشد و گوگرد بر رشد گیاهان در خاک‌های شور و سدیمی را مورد بررسی قرار داده‌اند، اما گزارش‌ها در رابطه با کاربرد همزمان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد بومی با گوگرد بر گندم محدود است؛ بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اثر کاربرد همزمان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (مولد آنزیم ACC-دآمیناز و اگزوپلی‌ساکارید) جداسازی شده از خاک‌های مختلف شور و سدیمی و گوگرد همراه با *تیوباسیلوس* بر عملکرد و غلظت برخی عناصر غذایی کم‌مصرف دانه گندم در خاک‌های شور و سدیمی اجرا گردید.

[1] - Exopolysaccharide

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی باکتری‌ها

ابتدا نمونه‌های تصادفی خاک از ریزوسفر گندم کشت شده در ۱۷ خاک شور و سدیمی در استان خوزستان جمع‌آوری شد. نمونه‌ها تا زمان جداسازی باکتری در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. ده گرم از هر نمونه خاک به ارلن‌های حاوی ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه شیک شدند. در ادامه، آب مقطر تا رقت 10^{-7} به لوله‌های آزمایش اضافه شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-5} تا 10^{-7} از هر محلول نمونه خاک به پلیت‌های حاوی نوترینت آگار اضافه شد. پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۷۲-۴۸ ساعت گرماگذاری شدند. کلنی‌های به‌دست‌آمده با کشت‌های مکرر بر روی محیط نوترینت آگار خالص‌سازی شدند (فلورس-وارگاس و اوهارا، ۲۰۰۶؛ عباسی و همکاران، ۱۳۹۰).

اندازه‌گیری ویژگی‌های محرک رشد گیاه

اندازه‌گیری توان تولید آنزیم ACC-دآمیناز

به‌منظور بررسی توان جدایه‌های مورد مطالعه در استفاده از ACC به‌عنوان تنها منبع نیتروژن که نشان‌دهنده تولید آنزیمACC دآمیناز توسط باکتری است از روش دل-آمیکو و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. در ابتدا ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر جدایه (با جمعیت 10^8 $CFU\ ml^{-1}$[2]) به ۲۰ میلی‌لیتر از سه محیط DF[3] حاوی سه میلی‌مولار ACC، محیط DF حاوی دو گرم در لیتر سولفات آمونیوم (به عنوان شاهد مثبت) و محیط DF فاقد ACCو سولفات آمونیوم (به عنوان شاهد منفی) تلقیح گردید. بعد از گذشت ۴۸ ساعت گرماگذاری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب

[2] - Colony Forming Unit

[3] - Dworkin-Foster

نور در طول موج ۴۰۵ نانومتر برای هر سه محیط قرائت شد. توان تولید آنزیم ACC- دآمیناز بر اساس میزان رشد باکتری در محیط حاوی آنزیم ACCدر مقایسه با رشد آن در محیط‌های شاهد، ارزیابی شد.

اندازه‌گیری میزان تولید سیدروفور

این آزمون با استفاده از روش اصلاح شده الکساندر و زوبرر (۱۹۹۱) انجام شد. برای تهیه این محیط چهار محلول شامل معرف Fe-CAS، محلول بافر، محلول غذایی و کازو آمینو اسید با هم مخلوط شدند. ابتدا جدایه‌ها در محیط کشت نوترینت براث به‌مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند. سپس ۱۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با با جمعیت 10^8 CFU ml^{-1} به‌روش لکه‌گذاری روی پتری‌دیش‌های حاوی محیط CAS کشت داده شد. پتری‌دیش‌های تلقیح شده به مدت ۵ روز در دمای ۳۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. تولید هاله نارنجی رنگ اطراف کلنی بیانگر تولید سیدروفور بود.

اندازه‌گیری میزان تولید اکسین

به‌منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت نوترینت براث کشت و سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط نوترینت براث حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال – تریپتوفان منتقل گردید. بعد از ۴۸ ساعت سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با دو میلی‌لیتر معرف ساکووسکی (۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر $FeCl_3.6H_2O$ نیم مولار) مخلوط شد. مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج ۷۲۷ نانومتر قرائت گردید (بنت و همکاران، ۲۰۰۱). مقدار تولید اکسین توسط هر جدایه از مقایسه جذب نور آن با منحنی استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

اندازه‌گیری توان حل فسفات‌های معدنی در محیط جامد

در این روش ابتدا جدایه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط نوترینت براث کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه‌کمی توان حلالیت فسفر، ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری با جمعیت 10^8 CFU ml^{-1} به روش لکه‌گذاری و با سه تکرار روی پتری‌دیش‌های محیط اسپربر حاوی نمک نامحلول تری‌کلسیم‌فسفات کشت داده شد. پتری-دیش‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت هفت روز نگهداری و هاله شفاف اطراف کلنی به عنوان حلالیت تری‌کلسیم‌فسفات در نظرگرفته شد. نسبت قطر هاله بر قطر کلنی اندازه‌گیری شد (رشید و همکاران، ۲۰۰۴).

تعیین کیفی توان تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط جدایه‌ها

در این روش ابتدا جدایه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط نوترینت براث کشت داده شدند. برای تشخیص کیفی توان تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط جدایه‌ها، ۱۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با جمعیت 10^8 CFU ml^{-1} به روش لکه‌گذاری و با سه تکرار بر روی پتری-دیش‌های حاوی محیط کشت اختصاصی برای تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط باکتری‌ها انتقال یافت. ترکیبات محیط کشت شامل ۵۰ میلی‌لیتر محلول فوق نمکی، ۱۵ میلی‌لیتر بافر فسفات، ۰/۱ گرم عصاره مخمر، ۲۰ گرم ساکاروز و ۱۵ گرم آگار در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود. پتری‌دیش‌های تلقیح شده توسط سوسپانسیون جدایه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری و کلونی‌های موکوئیدی به عنوان جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید در نظرگرفته شد (مشبکی اصفهانی و همکاران، ۱۳۹۶).

شناسایی باکتری‌های برتر

در ابتدا سه جدایه برتر بر اساس ویژگی‌های محرک رشدی گیاه انتخاب شدند. استخراج DNA ژنومی جدایه‌های برتر با روش CTAB انجام شد (سامبروک و راسل، ۲۰۰۱). برای تکثیر ناحیه ژنی 16S rDNA از آغازگرهای عمومی 27F (5′-AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG-3′) و 1492R (5′-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3′) استفاده گردید (جیانگ و همکاران، ۲۰۰۶). تکثیر با استفاده از یک ترموسایکلر در ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۰/۴ میکرولیتر DNA (۵۰ $\mu g\ ml^{-1}$)، ۲/۵ میکرولیتر بافر پی سی آر 10X [۵۰ mM KCL mM، Tris-HCL ۱۰ با pH=۹، NP40 (v/v) ۰/۰۵٪ و Trition X-100 (v/v) ۰/۰۵٪]، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs (۰/۲ mM)، ۰/۵ میکرولیتر از MgCl2 (۵۰ mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ pmol)، ۰/۲ میکرولیتر Taq DNA polymerase (۵ U μl^{-1}) (CinnaGen Co. Ltd. Iran) و ۱۹/۹ میکرولیتر آب مقطر سترون انجام شد. شرایط انجام PCR به‌صورت زیر تنظیم گردید: واسرشست اولیه[۴] در ۹۴ درجه سلسیوس برای ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه واسرشست در ۹۴ درجه سلسیوس برای یک دقیقه، اتصال[۵] در ۵۵ درجه سلسیوس برای یک دقیقه و گسترش[۶] در ۷۲ درجه سلسیوس برای یک دقیقه و در نهایت گسترش نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس برای ۱۰ دقیقه. محصولPCR حاصل از تکثیر 16S rDNA از ژل آگاروز ۱/۲ درصد در بافر1X TBE به مدت یک ساعت عبور داده شد و سپس ژل تحت نور UV نمایان و با استفاده از دستگاه ژل داک Alpha Imager (TM1200) تصویر ژل ثبت گردید. محصول PCR هر یک از جدایه‌ها با استفاده از کیت خالص‌سازی خالص شده و به منظور تعیین توالی به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال گردیدند. پس از دریافت نتایج، توالی نوکلئوتیدی جدایه‌ها توسط نرم‌افزار Vector NTI اصلاح شده و یک توالی کانتیگ برای هر سویه به‌دست آمد. سپس این توالی‌های کانتیگ در پایگاه NCBI با استفاده از Blastn با توالی‌های موجود مقایسه شدند.

تهیه مایه تلقیح‌های میکروبی

پس از شناسایی مولکولی، سه جدایه برتر *Pseudomonas alcaliphila*، *Rhizobium pusense* و *Bacillus subtilis* نامگذاری شدند. جهت تهیه مایه تلقیح، باکتری‌ها به طور جداگانه در محیط کشت نوترینت براث کشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از رشد کافی باکتری‌ها، جمعیت آنها به روش شمارش کلونی و سری رقت تعیین و در حدود $۱۰^۷$ $CFU\ ml^{-1}$ تنظیم شد.

مایه تلقیح باکتری *Thiobacillus thiooxidans* به صورت پودری با حامل پرلیت و حاوی حدود $۱۰^۷$ $CFU\ ml^{-1}$ بود که از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه و به هنگام استفاده با نسبت یک به ۵۰ با گوگرد پودری (مایه‌تلقیح *تیوباسیلوس* به میزان دو درصد گوگرد مصرفی) مخلوط گردید (بشارتی و همکاران، ۱۳۹۴). گوگرد مورد استفاده نیز گوگرد عنصری پودری (اندازه ذرات حدود۱۰۰ مش) با خلوص ۹۸ درصد بود.

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل (سه فاکتور) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل فاکتور اول: سه نوع خاک جمع‌آوری شده از اراضی شور و سدیمی در استان خوزستان (شهرستان ویس) (جدول ۱) با سطوح مختلف شور و سدیمی S1 (SAR=۱۳ و $EC=۸\ ds\ m^{-1}$)، S2 (SAR=۱۵ و $EC=۱۰\ ds\ m^{-1}$) و S3 (SAR=۱۷ و $EC=۱۴\ ds\ m^{-1}$)، فاکتور دوم: شامل چهار سطح از باکتری‌های محرک رشد گیاه (B0: شاهد، *P. alcaliphila*، *R.*

۴- Initial denaturation

۵- Annealing

۶- Extension

pusense و *B. subtilis*) و فاکتور سوم: شامل دو سطح گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans* (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *تیوباسیلوس*) بودند. نتایج خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک‌های مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. کربن آلی خاک با استفاده از روش اکسیداسیون تر (واکلی و بلک، ۱۹۳۴)، فسفر قابل جذب با روش عصاره‌گیری با بی کربنات سدیم ۰/۵ نرمال (اولسن، ۱۹۵۴) و پتاسیم قابل جذب با عصاره‌گیری استات آمونیوم اندازه‌گیری شدند. برای تعیین pH و EC خاک از عصاره اشباع خاک استفاده شد. برای اندازه‌گیری توزیع اندازهٔ ذرات خاک از روش هیدرومتری استفاده شد (جی و بادر، ۱۹۸۶).

غلظت محلول کاتیون‌های Ca^{2+}، Mg^{2+} و Na^{+} با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (سوارز، ۱۹۹۶: هلمکه و اسپارکس، ۱۹۹۶). برای محاسبه نسبت جذب سدیم (SAR) از کاتیون‌های محلول به شرح زیر استفاده شد:

$$SAR = \frac{[Na^{+}]}{\sqrt{[Ca^{2+}] + [Mg^{2+}]/2}} \quad (۱)$$

که در آن Na^{+} سدیم محلول (میلی اکی والان در لیتر)، Ca^{2+} کلسیم محلول (میلی اکی والان در لیتر) و Mg^{2+} منیزیم محلول (میلی اکی والان در لیتر) می‌باشد.

جدول ۱- موقعیت نقاط و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی سه نمونه خاک شور- سدیمی مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای

خاک	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	اسیدیته	EC ($ds\ m^{-1}$)	کربن‌آلی (%)	فسفر	پتاسیم ($mg\ kg^{-1}$)	نسبت جذب سدیم (SAR)	شن	سیلت	رس (%)	بافت
S1	۲۹۹۰۶۷/۷۱	۳۴۸۹۰۵۲/۹۹	۷/۱	۸	۰/۲۲	۲	۱۱۷	۱۳	۲۸	۳۸	۳۴	لومی رسی
S2	۲۹۹۸۶۲/۷۱	۳۴۸۸۵۴۶/۷۱	۷/۴	۱۰	۰/۲۴	۳/۳	۱۰۶	۱۵	۳۴	۳۶	۳۰	لومی رسی
S3	۳۰۰۵۸۴/۵۶	۳۴۸۸۸۷۷/۸۸	۷/۵	۱۴	۰/۲۴	۳/۴	۱۳۸	۱۷	۳۲	۳۰	۳۸	لومی رسی

خاک‌های شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ $ds\ m^{-1}$)، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ $ds\ m^{-1}$) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ $ds\ m^{-1}$)

بذر گندم رقم چمران از ایستگاه بذر و نهال مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان تهیه شد. بذور گندم با استفاده از الکل ۹۶ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به‌مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شدند. سپس به‌منظور حذف هیپوکلریت سدیم باقیمانده در سطح بذور، چندین مرتبه با آب مقطر استریل مورد شستشو قرار گرفتند. بذور در آب آگار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور جوانه‌دار شدند. در هنگام کاشت، هر بذر با مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر مایه تلقیح باکتری مورد نظر آغشته شده و سپس ۲۵ بذر در گلدان‌هایی با قطر ۲۰ سانتیمتر و ارتفاع ۴۰ سانتیمتر حاوی ۲۵ کیلوگرم خاک کشت گردید. گلدان‌ها در گلخانه‌ای با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و پس از دو هفته گیاهچه‌های هر گلدان به ۱۵ گیاه کاهش داده شد. رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی حفظ شد. بدین منظور، درصد رطوبت وزنی گلدان‌ها اندازه‌گیری و هر ۶-۵ روز یک‌بار آبیاری شد. پس از پنج ماه اندام هوایی برداشت و دانه‌ها جدا شدند. سپس دانه‌ها توزین و عملکرد بر حسب گرم در گلدان اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی کلسیم، منیزیم، آهن، مس، روی و منگنز دانه به روش سوزاندن خشک و با استفاده از دستگاه جذب‌اتمی (مدل Perkin elmer ساخت کشور امریکا) (ریان و همکاران، ۲۰۰۱) در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS (ورژن ۹/۴) و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای

آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

باکتری‌های ریزوسفری افزایش دهنده رشد گیاه رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های شور–سدیمی افزایش می‌دهند (اله و بانو، ۲۰۱۹). برای استفاده از این باکتری‌ها، یافتن بهترین جدایه‌های باکتریایی از نظر صفات PGP و جدایه‌هایی که کلنی‌سازی مناسب با گیاهان در خاک‌های شور–سدیمی دارند، بسیار حائز اهمیت است. غربالگری باکتری‌های بومی ریزوسفر خاک‌های شور–سدیمی می‌تواند پایه‌ای قابل اعتماد برای انتخاب PGPR موثر فراهم کند (داموداران و همکاران ۲۰۱۹؛ شرما و همکاران، ۲۰۲۱). برای این منظور، ۳۵۰ جدایه از خاک‌های ریزوسفری جمع آوری شده از مزارع تحت کشت گندم با روش سری رقت جداسازی و خالص‌سازی شدند. برای حصول اطمینان چندین مرحله تکرار شد. از این تعداد ۲۵ جدایه بر اساس آزمون تعیین ACC–دآمیناز و اگزوپلی ساکارید انتخاب گردیدند. پس از انجام اندازه‌گیری ویژگی‌های محرک رشد، سه باکتری برتر انتخاب شدند. ویژگی‌های محرک رشد و نتایج شناسایی باکتری‌های برتر در (جدول ۲) آورده شده است.

جدول ۲- ویژگی‌های محرک رشد گیاه جدایه‌های برتر

نام جدایه	نام جنس و گونه باکتری	حل کنندگی فسفات نا محلول (نسبت قطر هاله به کلنی)	اکسین (میکروگرم در میلی-لیتر)	سیدروفور (نسبت قطر هاله به کلنی)	ACC دآمیناز (نسبت جذب محیط DF + ACC به محیط DF)	اگزوپلی-ساکارید
۵۲۳-۱۰b	*Pseudomonas alcaliphila*	۱/۲۶	۲۴/۲	۲/۱	۲/۷	–
۵۲۶-۸a	*Bacillus subtilis*	۰/۴۹۱	۲۲/۸	-	-	+++
۳۴۵-۱	*Rhizobium pusense*	-	۱۸/۲	۲/۶۳	۲/۶	++

+++: توانایی عالی ++: توانایی خوب +: توانایی ضعیف و –: عدم توانایی برای ویژگی مورد نظر

نتایج تجزیه واریانس اثر شور–سدیمی، باکتری و گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* بر عملکرد و غلظت عناصر دانه گندم در (جدول ۳) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر متقابل تلقیح باکتری و خاک شور و سدیمی بر عملکرد، غلظت عناصر و نسبت کلسیم به منیزیم معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر شوری و سدیمی خاک، باکتری و گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* بر عملکرد و غلظت عناصر دانه گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	آهن	مس	منگنز	روی	کلسیم/منیزیم
گوگرد (T)	۱	۷/۲۸*	۲۲/۷**	۰/۹۱۰*	۴۸/۵*	۱۶/۷ ^{ns}	۰/۰۶۰^{ns}
شوری و سدیمی (S)	۲	۸۷۴ **	۴۲۱**	۰/۷۰۰*	۹۱/۱**	۲۴۰**	۰/۲۳۰*
باکتری (B)	۳	۴/۸۶**	۲۲۲**	۰/۶۲۰*	۴۱/۹**	۱۰/۰**	۰/۴۹۰**
T × S	۲	۰ /۷۱۳*	۶۵/۱*	۰/۴۵۰ ^{ns}	۳۶/۲*	۱۶/۶*	۰/۱۰۰*
S × B	۶	۸/۶۱**	۴۲/۲*	۰/۲۷۰*	۱۶/۵ ^{ns}	۴/۴۰*	۰/۰۹۰*
T × B	۳	۰/۰۰۳ ^{ns}	۶۷/۷*	۰/۱۳۰*	۸/۵*	۳/۷۷*	۰/۰۱۰^{ns}
T × S × B	۶	۰/۰۰۵ ^{ns}	۱۸/۳^{ns}	۰/۱۰۰^{ns}	۲/۵^{ns}	۶/۴۲^{ns}	۰/۰۲۰^{ns}
خطا	۴۶	۱/۱۰	۱۳/۶	۰/۱۸۰	۱۰/۸	۳/۶۵	۰/۰۱۰
CV		۹/۴۹	۹/۱۶	۶/۲۴	۸/۵۸	۱۰/۳	۱۱/۱

^{ns}، ** و *: به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد

در شرایط عدم کاربرد باکتری، با افزایش میزان سطح شوری و سدیمی خاک، غلظت عناصر غذایی و نسبت کلسیم به منیزیم دانه گندم کاهش یافت، به‌طوری‌که افزایش شوری و سدیمی از سطح S1 به S3، منجر به

کاهش غلظت آهن، منگنز، روی و نسبت کلسیم به منیزیم دانه به ترتیب به میزان ۵۹/۱، ۱۸/۴، ۲۲/۴ و ۱۲/۲ درصد شد (جداول ۴ و ۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و سدیمی خاک و باکتری بر غلظت آهن و مس دانه گندم

تیمار	آهن			مس		
	(میلی گرم در کیلوگرم)					
باکتری/خاک شور-سدیمی	S1	S2	S3	S1	S2	S3
B0	۵۲/۱c	۳۷/۲e	۲۱/۳f	۶/۷۳bc	۶/۵۲c	۶/۷۰bc
P. alcaliphila	۵۸/۶b	۳۹/۲de	۲۲/۳f	۷/۱۳ab	۶/۷۷bc	۶/۶۷bc
R. pusense	۶۷/۵a	۴۳/۲d	۲۴/۸f	۷/۵۰a	۷/۰۱abc	۶/۶۵bc
B. subtilis	۵۶/۲bc	۳۹/۰de	۲۲/۳f	۶/۸۳bc	۶/۷۲bc	۶/۷۳bc

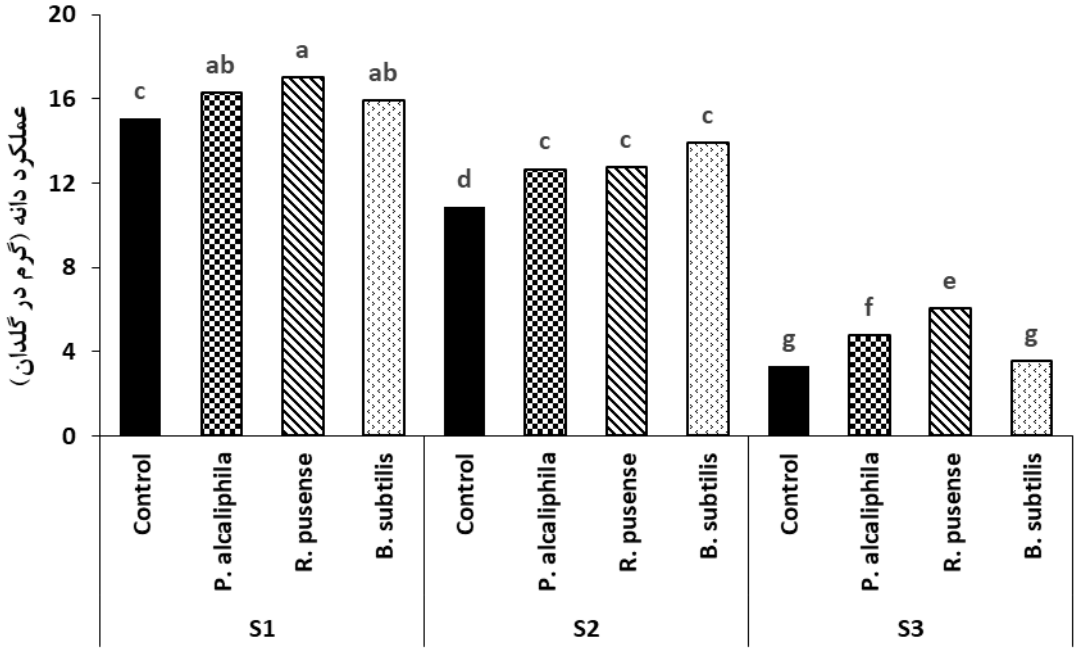
تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}).
برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و سدیمی خاک و باکتری بر غلظت منگنز و روی و نسبت کلسیم به منیزیم دانه گندم

تیمار	منگنز			روی			نسبت کلسیم به منیزیم		
	(میلی گرم در کیلوگرم)								
باکتری/خاک شور-سدیمی	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
B0	۴۰/۷a	۳۷/۰abc	۳۳/۲c	۲۰/۵b	۱۷/۶c	۱۵/۹c	۱/۵۶bcd	۱/۴۵cd	۱/۳۷d
P. alcaliphila	۴۰/۳a	۳۷/۹ab	۳۷/۷ab	۲۴/۴a	۱۸/۲c	۱۶/۲c	۱/۸۲a	۱/۷۲ab	۱/۶۳abc
R. pusense	۴۱/۰a	۳۹/۵a	۴۰/۷a	۲۲/۱b	۱۷/۹c	۱۵/۷c	۱/۵۵bcd	۱/۵۴bcd	۱/۴۸cd
B. subtilis	۳۹/۷a	۳۸/۰ab	۳۴/۶bc	۲۱/۱b	۱۷/۵c	۱۵/۶c	۱/۵۴bcd	۱/۳۶d	۱/۳۵d

تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}). برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

افزایش سطح شور و سدیمی و کاهش غلظت عناصر بر کاهش عملکرد موثر بود. نتایج نشان داد که با افزایش سطح شور و سدیمی خاک، عملکرد دانه به طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری که با افزایش میزان شور و سدیمی به S_2 و S_3 عملکرد به ترتیب ۳۲/۰ و ۷۰/۲ درصد کاهش یافت (شکل ۱). کاهش عملکرد گندم با افزایش شور و سدیمی خاک می‌تواند به‌علت اثر منفی تنش شوری (تنش اسمزی و تنش یونی) بر گیاه باشد. در واقع، شوری خاک به دلیل کاهش پتانسیل آب و جذب بیش از حد یون‌های کلر و سدیم، رشد بیشتر محصولات از جمله گندم را محدود می‌کند (قرابلی و نفدی ۲۰۲۱).



شکل ۱- اثر شوری و سدیمی خاک و باکتری بر عملکرد دانه گندم. تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}). حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها (جداول ۴ و ۵) نشان داد که تلقیح باکتری باعث افزایش غلظت عناصر آهن، مس نسبت به شاهد در دو سطح S2 و S1 و افزایش غلظت منگنز در دو سطح شور و سدیمی S2 و S3 نسبت به شاهد (جدول ۴) شد. تلقیح سویه *R. pusense* در سطح شور و سدیمی S1، اثر بیش تری بر غلظت عناصر آهن، مس و منگنز داشت و سویه *P. alcaliphila* در سطح شور و سدیمی S1، بر غلظت روی نسبت به تیمارهای دیگر مؤثرتر بود. پایین بودن سطح شور و سدیمی (سطح شور و سدیمی S1) در ضمن حضور سویه *R. pusense* که احتمالاً از طریق تولید همزمان ایندول استیک اسید، سیدروفور، آنزیم ACC دآمیناز و اگزوپلی‌ساکاریدها بر تحریک هرچه بیش‌تر رشد گندم مؤثر بوده، منجر به افزایش غلظت عناصر در دانه با این تیمار شده است. تفاوت در آستانه تحمل شوری و تفاوت در قدرت کلنیزاسیون ریشه ضمن داشتن ویژگی‌های محرک رشدی متفاوت می‌تواند عامل ایجاد اختلاف در اثر سویه ها بر غلظت عناصر دانه گندم بوده باشد.

بر اساس نتایج (شکل ۱)، تلقیح با سویه *R. pusense* در سطوح شوری و سدیمی S1 و S3، اثر بیش‌تری بر عملکرد در مقایسه با تیمارهای دیگر نشان داد. سویه *R. pusense*، علاوه بر تولید ایندول استیک اسید و سیدروفور، بر خلاف سویه *P. alcaliphila* (تنها مولد ACC دآمیناز) و سویه *B. subtilis* (تنها مولد اگزوپلی-ساکارید) قادر به تولید همزمان ACC –دآمیناز و اگزوپلی‌ساکارید است. قابلیت این سویه در تولید همزمان ACC–دآمیناز (که خود منجر به کاهش اتیلن تنشی ریشه و تحریک رشد گیاه در خاک شور و سدیمی می‌باشد) و اگزوپلی‌ساکارید (افزایش شانس بقای باکتری در شرایط تنش شوری خاک) احتمالاً توانسته منجر به اثر بیش‌تر این سویه نسبت به سایر سویه‌ها در بهبود عملکرد گندم در خاک شور و سدیمی گردد. سندیا و علی (۲۰۱۵) بیان می‌کنند که تولید EPS یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌هایی است که باعث افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر تنش‌های غیر زنده می‌شود. اگزوپلی‌ساکاریدها ضمن افزایش حجم منافذ خاک و خاکدانه‌سازی، به ترتیب از طریق ایجاد یک لایه رطوبتی در اطراف سلول باکتری و

ریشه گیاه و برقراری پیوند با یون سدیم و کاهش محتوای سدیم خاک، منجر به کاهش اثر منفی تنش شوری بر باکتری‌های محرک رشد و گیاهان و در نهایت بهبود هرچه بیشتر رشد گیاه در این شرایط می‌گردد (نسیم و همکاران، ۲۰۱۸).

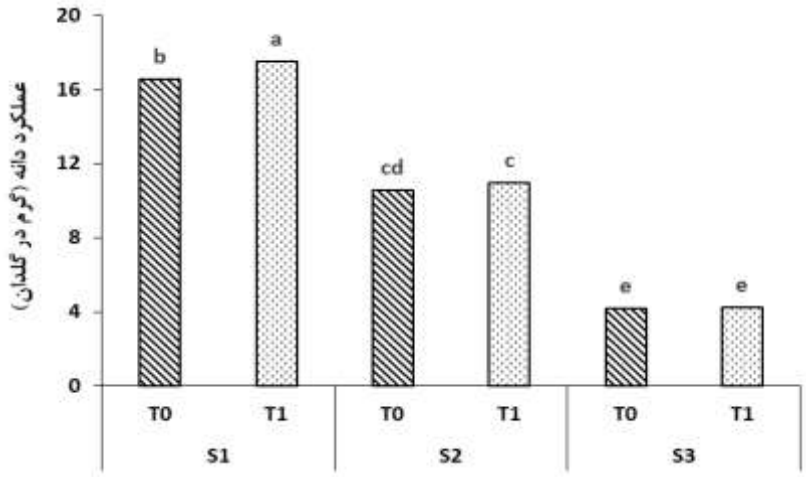
مطالعات بسیاری در خصوص نقش ویژه باکتری‌های ریزوسفری در بهبود عملکرد گیاهان از طریق تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور، ACC –دآمیناز، اگزوپلی‌ساکاریدها و انحلال اشکال کم‌محلول فسفات گزارش شده است (آولی و همکاران، ۲۰۱۸). مکستون و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تلقیح گیاه *Capsicum annuum* با باکتری محرک رشد *Bulkhorderia cepacia* (مولد ACC–دآمیناز، سیدروفور، اگزوپلی-ساکارید و حل‌کننده فسفات) نسبت به شاهد تلقیح نشده، منجر به بهبود رشد در شرایط تنش شوری گردید. علاوه بر تفاوت در ویژگی‌های محرک رشدی سویه‌ها (به‌ویژه توان تولید ACC–دآمیناز و اگزوپلی‌ساکارید) دو عامل تفاوت در آستانه تحمل شوری و قدرت کلنیزاسیون ریشه احتمالاً بر میزان تأثیر سویه‌ها در افزایش غلظت عناصر و عملکرد دانه مؤثر بوده است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثر متقابل گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* و خاک شور و سدیمی بر غلظت عناصر آهن، منگنز و روی و نسبت کلسیم به منیزیم و عملکرد معنی‌دار ($p < 0.01$) بود. کاربرد گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* در سطوح شوری و سدیمی S1 و S2، منجر به افزایش عملکرد، غلظت آهن، مس، منگنز، روی و نسبت کلسیم به منیزیم نسبت به عدم کاربرد گوگرد شد (شکل۲ و جدول ۶). گوگرد نقش مهمی در پایداری و افزایش عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی نظیر گندم دارد. این عنصر از طریق کاهش اثر منفی سدیم تبادلی و بهبود ساختمان خاک، غلظت عناصر غذایی در خاک را افزایش می‌دهد (داس و همکاران، ۲۰۱۹). در سطح شوری و سدیمی S3 کاربرد گوگرد تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های مزبور نداشت. احتمالاً شوری و سدیمی زیاد (سطح S3) باعث کاهش کارایی باکتری‌های *تیوباسیلوس* شده است.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل گوگرد به همراه باکتری تیوباسیلوس و خاک شور و سدیمی بر غلظت عناصر و نسبت منیزیم به کلسیم دانه گندم

تیمار	آهن		مس		منگنز		روی		منیزیم/کلسیم	
	(میلی گرم در کیلوگرم)									
گوگرد/خاک شورسدیمی	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1
S1	۵۴/۴۸b	۶۲/۷۶a	۶/۸۲b	۷/۲۱a	۳۸/۲b	۴۲/۶۵a	۲۰/۶۰b	۲۳/۴۴a	۱/۵۶b	۱/۸۲a
S2	۳۷/۴۰d	۴۱/۹۳c	۶/۵۸b	۶/۹۵ab	۳۷/۸۱b	۳۸/۴۰b	۱۷/۵۹c	۱۷/۹۸c	۱/۴۸bc	۱/۵۲bc
S3	۲۱/۸۳e	۲۳/۵۳e	۶/۷۳b	۶/۶۴b	۳۶/۵۹b	۳۶/۴۷b	۱۶/۰۰d	۱۵/۶۷d	۱/۳۹c	۱/۴۲bc

تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و EC=۸ ds m^{-1})، S2 (SAR=۱۵ و EC=۱۰ ds m^{-1}) و S3 (SAR=۱۷ و EC=۱۴ ds m^{-1}) و تیمارهای گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans*: (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*) برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است



شکل ۲- اثر شور ی و سدیمی خاک و گوگرد بر عملکرد دانه گندم. تیمارهای شوری و سدیمی: S1 (SAR=۱۳ و $EC=۸\ ds\ m^{-1}$)، S2 (SAR=۱۵ و $EC=۱۰\ ds\ m^{-1}$) و S3 (SAR=۱۷ و $EC=۱۴\ ds\ m^{-1}$) و تیمارهای گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans*: (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*). حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

همچنین افزایش غلظت عناصر در گیاه در تیمارهای گوگرد نسبت به شاهد، از طریق اثر مثبت گوگرد در افزایش فعالیت یون کلسیم و کاهش اثر منفی سدیم تبادلی در خاک‌های شور و سدیمی قابل توجیه است (آریا و همکاران،۲۰۱۰). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است، افزایش شور و سدیمی احتمالاً از طریق افزایش جذب کلر در ریشه گیاه و افزایش فعالیت کاتیون‌های کلسیم و منیزیم در خاک موجب افزایش غلظت کلسیم و منیزیم دانه و افزایش نسبت کلسیم به منیزیم می‌شود. افزایش غلظت کلسیم به عنوان یک مکانیسم دفاعی در گیاهان تحت تنش شوری گزارش شده است (مظفری، ۱۳۸۴). افزایش غلظت کلسیم و تشکیل پیوندهای کلسیم در دیواره‌سلولی و غشای سلولی گیاهان به حفظ ثبات و ساختار غشا و دیواره سلولی در شرایط تنش شوری کمک می‌کند (من و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین کاربرد گوگرد در خاک‌های شور و سدیمی از طریق کاهش درصد سدیم تبادلی خاک منجر به افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (مهدی، ۲۰۱۱).

بر اساس نتایج (شکل ۲)، کاربرد گوگرد در سطوح شور و سدیمی S1 و S2 نسبت به عدم کاربرد آن در همان سطوح شور–سدیمی، عملکرد دانه را به طور معنی‌دار به‌ترتیب به میزان ۹/۷۵ و ۷/۱۸ درصد افزایش داد. یک تحقیق نشان داده است که گوگرد نقش مهمی در پایداری و افزایش عملکرد ذرت در خاک‌های شور دارد (منش و همکاران ۲۰۱۳). همچنین استفاده از گوگرد و *تیوباسیلوس* منجر به بهبود عملکرد کلزا (اسدی رحمانی و همکاران ۲۰۱۸) و گندم (خاوازی و همکاران ۲۰۱۸) در خاک‌های آهکی شد. در این مطالعه همچنین استفاده از گوگرد همراه با *T. thiooxidans* منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد دانه گندم در سطوح پایین شوری شد. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که گوگرد از طریق تأثیر بر ساختار بسیاری از آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، کلروفیل و کربوهیدارت‌ها منجر به بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاه دارد (احمد، ۲۰۱۱). مهدی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که کاربرد گوگرد نسبت به شاهد در یک تناوب چهارساله برنج- گندم در خاک شور–سدیمی، مقدار سولفات قابل استفاده خاک را افزایش و نسبت سدیم تبادلی آن را کاهش داد. افزایش مقدار سولفات خاک و کاهش سدیم تبادلی آن منجر به افزایش ۲۱/۹ و ۲۲/۵ درصدی عملکرد به ترتیب دانه برنج و گندم نسبت به شاهد شد.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل باکتری و گوگرد بر غلظت آهن و مس، منگنز و روی معنی‌دار ($p < 0.05$) بود. نتایج مقایسه میانگین اثر

متقابل باکتری و گوگرد بر غلظت عناصر دانه گندم در جدول ۸ ارائه شده است. نتایج نشان داد سویه *R. pusense* در حضور گوگرد، موثرترین سویه در افزایش آهن، مس و منگنز و عملکرد دانه گندم در حضور گوگرد در خاک شور و سدیمی بود (جدول ۷). کاربرد گوگرد و تولید اسید سولفوریک در نتیجه اکسایش آن، از یک طرف باعث کاهش pH و از طرف دیگر با کاهش اثر منفی سدیم تبادلی و بهبود ساختمان خاک، غلظت عناصر تغذیه‌ای در خاک را افزایش داده است (دی و همکاران، ۲۰۱۸؛ یلدیزتکین و کوزو، ۲۰۱۹).

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری- گوگرد بر غلظت عناصر دانه گندم

تیمار	آهن		مس		منگنز		روی	
	(میلی گرم در کیلوگرم)							
باکتری/گوگرد	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1
B0	۳۵/۰۶c	۳۸/۶۶bc	۶/۵۹b	۶/۷۱b	۳۵/۷۱b	۳۸/۲۲b	۱۷/۸۲b	۱۸/۱۰b
P. alcaliphila	۳۹/۱۲b	۴۱/۰۰b	۶/۸۳ab	۶/۸۸ ab	۳۸/۳۱b	۳۸/۹۷ab	۱۸/۶۰b	۲۰/۵۹a
R. pusense	۳۹/۹۲b	۵۰/۴۷a	۶/۸۸ab	۷/۲۶a	۳۸/۸۳ab	۴۱/۹۳a	۱۷/۸۲b	۱۹/۳۰ab
B. subtilis	۳۷/۵۱bc	۴۰/۸۴b	۶/۵۳b	۶/۸۹ ab	۳۷/۲۸b	۳۷/۵۸b	۱۸/۰۱b	۱۸/۱۲b

تیمارهای گوگرد همراه با باکتری *T. thiooxidans*: (T0: عدم کاربرد و T1: کاربرد ۳۱/۴ گرم در گلدان (۱۰ تن در هکتار) گوگرد پودری همراه با باکتری *T. thiooxidans*). برای هر پارامتر حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد است

در عین حال تلقیح با سویه *R. pusense* از طریق کاهش اتیلن تنشی ریشه و تحریک رشد گیاه (ACC–دآمیناز) و حفظ رطوبت در اطراف ریشه و کاهش محتوای سدیم خاک (اگزوپلی‌ساکارید) منجر به بهبود غلظت عناصر تغذیه‌ای در دانه گندم شده است. ورکوندا و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان دادند که کاربرد همزمان گوگرد و باکتری محرک رشد گیاه *Pseudomonas fluorescent* غلظت عناصر تغذیه‌ای را در گیاه ذرت افزایش داد.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد در حالی که افزایش شور و سدیمی خاک بر ویژگی‌های عملکرد و غلظت عناصر گندم اثر منفی داشت، تلقیح سویه *R. pusense* بیش‌ترین اثر مثبت را در افزایش عملکرد دانه و غلظت‌های آهن، مس و منگنز و سویه *B. subtilis* بیشترین اثر را بر غلظت عنصر روی داشت. همچنین کاربرد گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* نقش مهمی در افزایش عملکرد دانه و غلظت عناصر غذایی ایفا کرد. اگرچه تلفیق باکتری‌های محرک رشد و گوگرد به همراه باکتری *تیوباسیلوس* تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های مزبور در خاک‌های شور و سدیمی نداشت. سویه *P. alcaliphila* تنها تولید کننده ACC–دآمیناز و سویه *B. subtilis* تنها تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید است اما سویه *R. pusense* به علت تولید همزمان ACC–دآمیناز (باعث کاهش اتیلن تنشی ریشه و تحریک رشد گیاه در خاک شور–سدیمی) و اگزوپلی‌ساکارید (افزایش شانس بقای باکتری در شرایط تنش شوری خاک) منجر به برتری این سویه نسبت به سایر سویه‌ها در افزایش غلظت عناصر در گیاه گندم در خاک‌های شور و سدیمی شده است. علاوه بر تفاوت در ویژگی‌های محرک رشدی سویه‌ها دو عامل تفاوت در آستانه تحمل شوری احتمالاً بر میزان تأثیر سویه‌ها در افزایش عملکرد دانه مؤثر بوده است. به طور کلی کاربرد انفرادی باکتری *R. pusense* جداسازی شده از خاک‌های شور و سدیمی و گوگرد به همراه باکتری *T. thiooxidans* نقش بسزایی در بهبود عملکرد و غلظت عناصر کم مصرف در گندم در خاک‌های شور و سدیمی دارد.

فهرست منابع

۱. بشارتی ح.، مطلبی‌فرد ر. ۱۳۹۴. ارزیابی تأثیر کاربرد گوگرد و باکتری‌های *تیوباسیلوس* بر برخی خصوصیات شیمیایی خاک و عملکرد کلزا در تناوب گندم- کلزا در دو سال متوالی. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۹: ۱۶۸۸-۱۶۹۸.

۲. خاوازی ک.، جهاندیده مهجن آبادی و.ا.، تقی‌پور ف. ۱۳۹۷. تأثیر کاربرد گوگرد، باکتری *تیوباسیلوس* و فسفر بر عملکرد و جذب عناصر غذایی گندم در یک خاک آهکی. مدیریت خاک و تولید پایدار. ۸: ۲۳-۴۱.

۳. مشبکی اصفهانی ف.، طهمورث‌پور آ.، هودجی م.، عطاآبادی م.، محمدی ا. ۱۳۹۶. جداسازی و شناسایی باکتری‌های مولد اگزو پلی ساکارید بومی خاک‌های شور. زیست‌شناسی خاک. ۵: ۴۸-۳۷.

۴. مصلح آرانی ا.، امینی حاجی‌آبادی ع.، قاسمی س.، راد م.ه.، ۱۴۰۰. تأثیر باکتری‌های محرک رشد جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان شورپسند بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه گندم رقم نارین در شرایط شور. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۱۰: ۱۶۴-۱۴۱.

۵. مظفری و.، ملکوتی م.ج.، خلدبرین ب.، بای بوردی م. ۱۳۸۴. بررسی چند عامل سرخشکیدگی پسته و کنترل آن با تغذیه بهینه. علوم خاک و آب. ۱۹: ۱۵۴-۱۶۴.

6. Abbasi, M.K., Sharif, S., Kazmi, M., Sultan, T., and Aslam, M. 2011. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. Plant Biosyst. 145: 159-168.
7. Ahmed, K., Qadir, Gh., Jami, A., Saqib, A. I. and Qaisar, M. 2017. Comparative reclamation efficiency of gypsum and sulfur for improvement of salt affected. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 23:126-133.
8. Alexander D, Zuberer D. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol Fertil Soils 12:39-45
9. Alexander, D., and Zuberer, D. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol. Fertil. Soils 12: 39-45.
10. Ao-Lei, A., Shu-Qi, N., Qi, Z., Yong-Sheng, L., Jing-Yi, G., Hui-Juan, G., Sheng-Zhou, S. and Jin-Lin, Z. 2018. Induced salt tolerance of perennial ryegrass by a novel bacterium strain from the rhizosphere of a desert shrub *Haloxylon ammodendron*. International Journal of Molecular Sciences, 19 (2): 469.
11. Aria, M.M., Lakzian, A., Haghnia, G.H., Berenji, A.R., Besharati, H. and Fotovat, A. 2010. Effect of *Thiobacillus*, sulfur, and vermicompost on the water-soluble phosphorus of hard rock phosphate. Bioresource Technology, 101:551-554.
12. Asadi Rahmani, H., Khavazi, K., Jahandideh Mahjen Abadi, V.A., Ramezanpour, M.R., Mirzapour, M.H. and Mirzashahi, K. 2018. Effect of *Thiobacillus*, sulfur, and phosphorus on the yield and nutrient uptake of canola and the chemical properties of calcareous soils in Iran. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 49:1671-1683.
13. Bent, E. Tuzan, S. Chanway, C P. Enebak, S, Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria, Canadian Journal of Microbiology, 47, PP. 793-800, 2001.

14. Cottenie, A. 1980. Soil and plant testing as a basic fertilizer recommendation. FAO Soil Bulletin 33/2. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
15. Damodaran T, Mishra VK, Jha SK, Pankaj U, Gupta G, Gopal R. 2019. Identification of rhizosphere bacterial diversity with promising salt tolerance, PGP traits and their exploitation for seed germination enhancement in sodic soil. Agri Res 8:36-43.
16. Das, P., Khan, S., Chaudhary, A.K., AbdulQuadir, M., Thaher, M.I., and Al-Jabri, H. 2019. Potential applications of algae-based bio-fertilizer. p. 41-65. In: Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment. Springer, Cham.
17. Das, R., Pradhan, M., Sahoo, R.K., Mohanty, D. and Kumar, M. 2021. Isolation, identification and role of novel endosymbiotic bacterium *Rhizobium pusence* in root nodule of Green Gram cv. OUM-11-15 (*Vigna radiata* L.) under salinity stress. Legume Research, 44: 1512-1520.
18. Day, S.J., Norton, J.B., Strom, C.F., Kelleners, T.J. and Aboukila, E.F. 2018. Gypsum, langbeinite, sulfur, and compost for reclamation of drastically disturbed calcareous saline–sodic soils. International Journal of Environmental Science and Technology, 16:295-304.
19. Dell-Amico, E., Cavalca, L., and Andreoni, V. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Graminaceae from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. FEMS Microbiol. Ecol. 52: 153–162.
20. Elgharably A, Nafady NA (2021) Inoculation with Arbuscular mycorrhizae, Penicillium funiculosum and Fusarium oxysporum enhanced wheat growth and nutrient uptake in the saline soil. Rhizosphere 18:100345
21. 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.
22. Flores-Vargas, R.D., and O'hara, G.W. 2006. Isolation and characterization of rhizosphere bacteria with potential for biological control of weeds in vineyards. J. Appl. Microbiol. 100: 946-954.
23. Gee, G.W. and Bauder, J.W. 1986. Particle-size analysis. *In* "Methods of soil analysis, Part 1, 2nd edn" (A. Klute, ed.), pp. 383-411. Soil Science Society of America, Madison.
24. Gouda, S., George Kerry, R., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S. and Kumar Patra, J. 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological Research, 26: 131-140.
25. Gul, S., Javed, S., Azeem, M., Aftab, A., Anwaar, N., Mehmood, T. and Zeshan, B. 2023. Application of *Bacillus subtilis* for the alleviation of salinity stress in different cultivars of wheat (*Tritium aestivum* L.). Agronomy: 13:, 437.
26. Hamonts, K., Trivedi, P., Garg, A., Janitz, C., Grinyer, J., Holford, P., Botha, F.C., Anderson, I.C. and Singh, B.K. 2018. Field study reveals core plant microbiota and relative importance of their drivers. Environmental Microbiology, 20:124-140.
27. Han, H.S. and Lee, K.D. 2005. Physiological responses of soybean-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil

conditions. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 1: 216-221.

28. Helmke, P.A. and Sparks, D.L. 1996. Lithium, sodium, potassium, rubidium, and cesium. Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods. 5:551-574.
29. Huber, M.V., Bienvenut, W., Linster, E., Stephan, I., Armbruster, L., Sticht, C., Layer, D. and Lapouge, K. 2020. NatB-mediated n-terminal acetylation affects growth and biotic stress responses. Plant Physiology, 182:792-806.
30. Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, L.R., and Fields, M.W. 2006. Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China. Applied and Environmental Microbiology, 72: 3832-3845.
31. Khavazi, K, Jahandideh Mahjan Abadi, V.A., Taghipoor, F. 2018. Effect of Sulfur, *Thiobacillus* bacteria and phosphorus on the yield and nutrient elements uptake of wheat in calcareous soil. Journal of Soil Management and Sustainable Productio, 8:23-41.
32. Kumar Arora, N., Tahmish, F., Mishra, I., Verma, M. and Mishra, J. 2018. Environmental sustainability: challenges and viable solutions. Environmental Sustainability, 1:309-340.
33. Mahdy, A.M. 2011. Comparative effects of different soil amendments on amelioration of saline-sodic soils. Soil and Water Research, 6:205-216.
34. Mane, A.V., Deshpande, T.V., Wagh, V.B., Karadge, B.A. and Samant, J.S. 2011. A critical review on physiological changes associated with reference to salinity. International Journal of Environmental Sciences, 6:1192-1216.
35. Manesh, A.K., Armin, M. and Moeini, M.J. 2013. The effect of sulfur application on yield and yield components of corn in two different planting methods in saline conditions. International Journal of Plant Production, 4:1474-1478.
36. Maxton, A., Singh, P. and Masih, S.A. 2018. ACC deaminase-producing bacteria mediated drought and salt tolerance in *Capsicum annuum*. Journal of Plant Nutrition, 41:574-583.
37. Naseem, H., Ahsan, M., Shahid, M.A. and Khan, N. 2018. Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. Journal of Basic Microbiology, 58:1009-1022.
38. 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: 457-475.
39. Olsen, S. R. 1954. "Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate," United States Department Of Agriculture; Washington.
40. Rashid, M.S., Khalil, N., Ayub, S., 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, 187-196.
41. Ryan, J., Estefan, G. and Rashid, A. 2001. Soil and plant analysis: laboratory manual. ICARDA, Aleppo.
42. Sambrook, J., and Russell, D.W. 2001. Molecular Cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
43. Sandhya, V., and Ali, S.Z. 2015. The production of exopolysaccharide by Pseudomonas putida GAP-P45 under various abiotic stress conditions and its role in soil aggregation. Microbiology 84:512–519

44. Sharma, A., Dev, K., Sourirajan, A. and Choudhary, M. 2021. Isolation and characterization of salt-tolerant bacteria with plant growth-promoting activities from saline agricultural fields of Haryana, India. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 19:1-10
45. Suarez, D.L. 1996. Beryllium, magnesium, calcium, strontium, and barium. Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods 5:575-601.
46. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 24:1596-1599.
47. Ullah, A., Bano, A. 2019. Role of PGPR in the reclamation and revegetation of saline land. Pakistan Journal of Botany, 51:27–35
48. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. and Nasrulhaq Boyce, A. 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. Molecules, 21:573.
49. Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M. and SkZ, A. 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiological Research, 184: 13-24.
50. Walkley, A., and Black, I.A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science, 37: 29-38.
51. Yıldıztekin, M. and Kuzu, S. 2019. Soil properties and mineral nutrients of clementine mandarine (*Citrus reticulata* Blanco) grown in the Koycegiz region of Mugla province. International Journal of Secondary Metabolite, 6:323-332.
52. Zafar-ul-Hye, M., Nasir, A., Aon, M., Hussain, S., Ahmad, M. and Naz, I. 2018. Seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas syringae* enhanced maize growth in a compacted saline-sodic soil. Phyton, 87: 25-31.
53. Zeng, Q., Man, X., Huang, Z., Zhuang, L., Yang, H. and Sha, Y. 2023. Effects of rice blast biocontrol strain *Pseudomonas alcaliphila* Ej2 on the endophytic microbiome and proteome of rice under salt stress. Frontiers in Microbiology, 14: 1129614.
54. Zulueta-Rodriguez, R., Cordoba-Matson, M.V., Hernandez-Montiel, L.G., Murillo-Amador, B., Rueda-Puente, E. and Lara, L. 2014. Effect of Pseudomonas putida on growth and anthocyanin pigment in two poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) cultivars. The Scientific World Journal, 810192.

Effect of Plant Growth–Promoting Bacteria and Sulfur on growth and Micronutrient Concentration in Wheat Grain in saline-sodic Soils

M. Javadzadeh, K. Khavazi*, N. Ghanavati, A.R Jafarnejadi and V.A. Jahandideh Mahjenabadi

PhD student, Department of Soil Science, Khuzestan Science and Research Branch, Islamic Azad University; E-mail:Maryam_javadzadeh@yahoo.com
Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization; E-mail:Iran;khavazik@yahoo.com
Assistant Professor, Department of Soil Science, Ahvaz Branch, Islamic Azad University; E-mail:ghanavati.navid2014@gmail.com
Assistant Professor, Agricultural and Natural Resources Research and Education center of Khuzestan, Agricultural Research, Education and Extension Organization; E-mail:arjafarnejady@gmail.com
Researcher, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization; E-mail:vahid.jahandideh67@gmail.com

Received: October 12, 2021And Accepted: February 18, 2024

Abstract

Soil salinity and sodicity disrupt the balance of nutrients in the soil and create restrictions on plant growth. An experiment was conducted to evaluate the application of sulfur along with Thiobacillus bacteria and plant growth-promoting bacteria isolated from saline-sodic soils on the performance and concentration of micronutrients in wheat (Chamran cultivar) in saline-sodic soils in a factorial design within a completely randomized design, in three replications in greenhouse condition. The experimental factors included three types of saline-sodic soil (S1: SAR=13 and EC=8 dS m^-1), (S2: SAR=15 and EC=10 dS m^-1), and (S3: SAR=17 and EC=14 dS m^-1), four levels of plant growth-promoting bacteria (B0: control, *Pseudomonas alcaliphila*, *Rhizobium pusense*, and *Bacillus subtilis*) and two levels of sulfur along with *Thiobacillus thiooxidans* bacteria (T0: no application and T1: application of 31.4 grams per pot (10 tons per hectare) of powdered sulfur along with T. *thiooxidans bacteria*). Based on the sequencing of the 16S rRNA gene, the superior plant growth-promoting bacteria were identified as *Pseudomonas alcaliphila*, *Bacillus subtilis*, and *Rhizobium pusense*. The results showed that adding sulfur along with *T. thiooxidans* bacteria and other plant growth-promoting bacteria at different levels of salinity and sodicity led to an increase in grain yield and concentration of micronutrients compared to the control. At the salinity and sodicity levels of S1 and S3, the highest grain yield was observed in plants inoculated with *R. pusense* bacteria (13.1% and 88.8%, respectively). The combination of plant growth-promoting bacteria and sulfur along with *T. thiooxidans* bacteria did not have a significant effect on grain yield and concentration of micronutrients in saline-sodic soils. Overall, the individual application of *R. pusense* bacteria isolated from saline-sodic soils and sulfur along with *T. thiooxidans* bacteria plays a significant role in improving the performance and concentration of micronutrients in wheat in saline-sodic soils.

Keywords: Bacterial isolation, Rhizosphere bacteria, Sodicity and salinity stress, Wheat, *Thiobacillus thiooxidan*

* Corresponding author's email: khavazik@yahoo.com