

کارایی سویه‌های سودوموناس در تعدیل تنش خشکی روی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی ارقام پسته

۱. فریبا فتحی؛ ۲. روح الله صابری ریشه*؛ ۳. محمد مرادی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان

۲. دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان

۳. استادیار پژوهشکده پسته، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی رفسنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۱۶)

چکیده

استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی با قابلیت القای تحمل به خشکی در گیاهان یکی از رهیافت‌های مؤثر جهت کاهش خسارت تنش خشکی می‌باشد. در این تحقیق تأثیر چهار استرین باکتریایی از جنس سودوموناس (T17-4، VUPF5، 428، CHA0) روی مقاومت نهال‌های پسته دو رقم سرخس و بادامی ریز زرنند به تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی به اجرا درآمد. جهت بررسی کارایی باکتری‌ها در کاهش تنش خشکی، پارامترهایی همچون پرولین، قند، کلروفیل a، کلروفیل b، عناصر روی، آهن و فسفر ریشه و ساقه و فاکتورهای رشدی گیاه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش میزان پرولین و قند هم در نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های باکتریایی و هم در نهال‌های بدون مایه‌زنی گردید با این تفاوت که این افزایش در نهال‌های مایه‌زنی شده بیشتر بود. همچنین تنش خشکی موجب کاهش میزان رنگیزه‌های گیاهی، عناصر و فاکتورهای رشدی گیاه گردید اما این کاهش در گیاهان مایه‌زنی شده کمتر بود. نتایج همچنین نشان داد که ارقام مختلف پاسخ متفاوتی به تنش خشکی نشان دادند به طوری که رقم سرخس نسبت به رقم بادامی از حساسیت بالاتری برخوردار بود.

کلیدواژگان: استرین‌های سودوموناس، بادامی ریز زرنند، پسته، تنش خشکی، سرخس.

Efficacy of *Pseudomonas* strains on moderate drought stress on growth and physiological characteristics of pistachio cultivars

Fariba Fathi¹, Roohallah Saberi-Riseh^{2*} and Mohammad Moradi³

1. M.Sc. Student of Plant Protection, Vali-e-Asr university of Rafsanjan, Iran

2. Associate Professor Plant Protection Department of Vali-e-Asr university of Rafsanjan, Iran

3. Assistant Professor, Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran

(Received: Apr. 27, 2016 - Accepted: Aug. 6, 2016)

ABSTRACT

Using plant probiotic bacteria, which can induce systemic tolerance in plants, is one of the most important strategy to reduce the damage of drought stress in plants. In this study the effect of four *fluorescent* strains (T17-4, VUPF5, 428, CHA0) was investigated on resistance of two pistachio cultivars (Badami-Rize-Zarand and Sarakhs) against the drought stress. A completely randomized design was applied with a factorial arrangement at three replications in a greenhouse trial. In order to evaluate the effects of bacteria on reduction the effects of drought stress, some parameters such as prolin, soluble sugars, chlorophyll a, chlorophyll b, P, Zn, Fe content of shoot and root were measured. The results showed that drought stress increased the prolin and soluble sugars content in both inoculated and non-inoculated seedlings, although the content of prolin and soluble sugars in inoculated seedlings were higher than non-inoculated seedlings. The result also indicated that the drought stress reduces growth parameters, photosynthesis pigments and mineral element content in both cultivars under inoculated and non-inoculated conditions. The most reduction of these traits were recorded in non-inoculated seedlings. The cultivars of pistachio showed different responses to drought stress, so that sarakhs cultivar was recognized more sensitive to drought stress than badami-Rize-zarand cultivar.

Keywords: drought stress, Badami-Rize-zarand, Pistachio, *Pseudomonas* strains, Sarakhs.

مقدمه

ایران با قرار گرفتن بین عرض‌های جغرافیایی ۲۵ تا ۴۰ درجه از خط استوا در نیمکره شمالی قرار گرفته است و جزء مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود (Modarres and Dsilva 2007). شرایط نامساعد محیطی از جمله خشکسالی مهمترین و رایج‌ترین تنش محیطی است که هر ساله خسارت‌های هنگفتی به محصولات کشاورزی در جهان بخصوص ایران که به‌عنوان کشوری خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌گردد، وارد می‌نماید. در ایران خشکی و کم‌آبی همواره یکی از مهمترین مسائل و مشکلات کشاورزی بوده به‌طوری که کشورمان با متوسط نزولات آسمانی معادل ۲۴۰ میلی‌متر در زمره مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا طبقه بندی می‌شود.

پسته (*P. vera* L.) به‌عنوان یکی از مهمترین محصولات باغی و سومین کالای صادراتی ایران از اهمیت اقتصادی ویژه در بین محصولات کشاورزی برخوردار است که به خاطر کیفیت عالی آن در بین کشورهای تولیدکننده این محصول از مرغوبیت ویژه‌ای برخوردار است به همین دلیل پسته ایران در بین محصولات صادراتی و ارزآور کشور اهمیت خاصی داشته و باید برای حفظ موقعیت جهانی آن تلاش بیشتری اعمال شود.

تنش خشکی باعث از دست رفتن آب سلول‌ها (پلاسمولیز) می‌شود. با ادامه روند از دست رفتن آب، غشای سلول تخریب (Zhu 2002) و در نتیجه موجب اختلال در چرخه انتقال الکترون و تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) مانند رادیکال اکسیژن، هیدروژن پراکسید و سوپراکسید می‌شود. بالا رفتن سطح گونه‌های اکسیژن واکنشی در سلول باعث ایجاد خسارت اکسیداتیو به ماکرومولکول‌های سلول مانند DNA، پروتئین‌ها، لیپیدها و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود که در نتیجه ادامه خسارت اکسیداتیو، مرگ گیاه اتفاق می‌افتد (Blokchina et al. 2003).

در زمان تنش‌های محیطی ۱- افزایش محتوی اسمولیت‌ها مانند پرولین، قند، گلايسین بتائین، پلی‌آمین‌ها و پلی‌یول‌ها در سلول باعث ایجاد فشار اسمزی و حفظ آماس سلولی (Bates et al. 1973)؛

۲- افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند ascorbate, glutathione reductase, peroxidase و superoxide dismutase, catalase, peroxidase افزایش سطح ترکیبات غیرآنزیمی مانند سیستین، گلوتاتیون احیاشده و آسکوربیک اسید باعث پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن از سطح سلول می‌شود؛ ۳- تغییر در سطح هورمون‌های گیاهی شامل افزایش در سطح هورمون آبسزیک‌اسید و اتیلن و کاهش در سطح هورمون سیتوکینین از جمله راهکارهای مقابله با تنش خشکی است که گیاه در زمان تنش به‌کار می‌گیرد. افزایش در سطح هورمون آبسزیک‌اسید به‌عنوان یک سیگنال برای شروع فرایندهای درگیر در سازگاری با تنش خشکی محسوب می‌شود. این هورمون همچنین باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش از دست دادن آب می‌شود (Farooq et al. 2009).

استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی که با انجام فرایندهای مختلف زیستی در رشد گیاه و چرخه عناصر غذایی خاک دخالت دارند به‌طور روز افزونی افزایش یافته است. این باکتری‌ها از روش‌های مختلفی مانند تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفورهای کمپلکس‌کننده آهن، تولید هورمون‌های گیاهی، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید ویتامین‌ها و دیگر ترکیبات مواد محرک رشد و القای سیستم دفاعی گیاه، رشد گیاه را در مقابل تنش‌های زنده و غیرزنده بهبود می‌بخشند (Glick et al. 1995).

باکتری‌ها از جنس ازوتوباکتر، آزوسپیریلوم و سودوموناس از مهمترین محرک‌های رشدی گیاهان می‌باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک و با تولید مقادیر قابل توجهی هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکینین رشد و نمو و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Zahir et al. 2004). این باکتری‌ها می‌توانند از روش‌های مختلف شامل انحلال ترکیبات کم محلول و نامحلول عناصر غذایی و در نتیجه، افزایش فراهمی آنها، تثبیت نیتروژن، کنترل بیمارگرهای گیاهی با تولید، ترکیبات ضد میکروبی و رقابت برای جذب عناصر غذایی، تولید سیدروفور و تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول استیک اسید (IAA)

(FC30%) تقسیم‌بندی شدند و برای هر دو سطح تنش، چهار استرین باکتریایی به صورت جداگانه به مقدار ۴۰ سی‌سی با غلظت $10^{11} \times 4$ به خاک هر گلدان به صورت خاک کاربرد همراه با آب آبیاری اضافه گردید. نهال‌ها به مدت دو ماه تحت شرایط گلخانه‌ای نگهداری شدند و در طول این مدت گلدان‌ها بر اساس FC آبیاری شدند. پس از دو ماه نهال‌ها برداشت شدند و فاکتورهای همچون ارتفاع، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل a، کلروفیل b، عناصر روی، آهن و فسفر ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری گردید.

پرولین

برای استخراج پرولین، ۰/۵ گرم از بافت برگ را با پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ در هاون کوبیده و درون لوله فالکون ریخته شد. عمل استخراج دوبار و هر بار با پنج میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ انجام شد. مخلوط حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۵۰۰ rpm سانتریفیوژ کرده و عصاره رویی برای تعیین غلظت پرولین استفاده شد. برای تعیین غلظت پرولین، به یک میلی‌لیتر از عصاره رویی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه نموده و سپس پنج میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین (مخلوط ۱/۲۵ گرم ناین‌هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) به آن اضافه شد و بعد از هم‌زدن، این مخلوط به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از خارج نمودن نمونه‌ها از حمام آب گرم و خنک شدن آنها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به آنها اضافه و با همزن مکانیکی مخلوط گردیدند تا پرولین وارد فاز بنزن شود. نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه به حالت سکون قرار گرفتند و بعد از آن میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل T80UV/VIS Spectrometer PG) در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. استانداردهای پرولین نیز با استفاده از ال-پرولین در غلظت‌های ۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و اندازه‌گیری گردید (Paquin and Lechasseur 1979).

قندهای محلول

به منظور تعیین قندهای محلول ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره

باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و سمیت عناصر شوند (Glick 2014).

با توجه به عدم اطلاعات کافی در خصوص نقش سودوموناس‌های فلورسنت در افزایش تحمل نهال‌های پسته به تنش، هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر باکتری سودوموناس فلورسنت در افزایش فاکتورهای رشدی و شاخص‌های فیزیولوژیکی در نهال‌های پسته تحت تنش خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

کاشت پسته و شرایط نگهداری

بذور دو رقم پسته سرخس و بادامی زرد، از موسسه تحقیقات پسته کشور تهیه گردید. کاشت بذور مطابق روش ارائه شده توسط مرادی (Moradi 1998) در خاک استریل صورت گرفت. پس از جداسازی بذور آسیب دیده، بذور سالم به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر سترون قرار داده شدند. بعد از آن با قراردادن بذرها در قارچ‌کش به مدت ۵ دقیقه، آماده انتقال به بستر برای جوانه‌زنی می‌شوند. به منظور ضدعفونی بذور با قارچ‌کش، از ایپرودیون + کاربندازیم به مقدار ۲ گرم در لیتر استفاده گردید. بذور جوانه‌زده به گلدان‌های حاوی ۴۰۰۰ گرم خاک با بافت شنی رسی و اسیدیته ۷/۲ و شوری ۲/۳ دسی زیمنس بر متر منتقل شدند. آبیاری به صورت ملایم انجام شد تا بذرها دچار پوسیدگی نشوند.

اعمال تیمارهای خشکی

در این پژوهش از جدایه‌های باکتریایی (جدایه‌های مختلف از باکتری جنس سودوموناس فلورسنت) از بخش تحقیقات گیاهپزشکی دانشگاه ولی عصر (عج) استفاده شد. برای تهیه اینوکولوم استرین‌های باکتریایی، باکتری‌ها از فریزر ۸۰- برداشته شده و روی محیط کشت نوترینت آگار (NA) کشت داده شدند. تشک‌های پتری در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند، سوسپانسیون‌های باکتریایی با غلظت $10^{11} \times 4$ بر اساس روش اسپکتروفتومتری (غلظت ۰/۵ در طول موج ۵۴۰ برابر با 10^{10} CFU/ml) می‌باشد) تهیه شد. برای اعمال تیمار خشکی، گلدان‌ها در دو سطح بدون تنش (FC 70%) و تحت تنش

عناصر غذایی

برای اندازه‌گیری عناصر روی، آهن و فسفر ابتدا اندام‌های هوایی و ریشه گیاه پسته در تیمارهای مختلف، ۷۲ ساعت در آن در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند تا خشک شوند. نمونه‌ها آسیاب و سپس ۵/۰ گرم از نمونه‌های آسیاب شده در بوته‌چینی ریخته شد. نمونه‌ها در داخل کوره ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس و سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند تا به صورت خاکستر درآیند. پس از خنک شدن کوره، نمونه‌ها از کوره خارج شدند. سپس پنج میلی‌لیتر اسید کلریدریک دو نرمال به بوته‌چینی‌ها اضافه شد، سپس نمونه‌ها را از کاغذ صافی عبور داده و درون بالون حجمی ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و هر بالون با آب دوبار تقطیر به حجم رسانده شد (Chapman et al. 1961).

غلظت عناصر آهن و روی در عصاره با استفاده از دستگاه جذب اتمی (GBC Avanta ساخت استرالیا) اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری عنصر فسفر به روش آمونیوم مولیدات و آمونیوم وانادات (زرد) انجام شد (Olsen et al. 1954).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات به صورت فاکتوریل با سه فاکتور شامل رقم، سطح تنش و استرین باکتریایی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد استفاده گردید.

نتایج

تأثیر مثبت استرین‌های باکتریایی در کاهش تنش خشکی بر روی نهال‌های پسته مورد بررسی قرار گرفت و نتایج تجزیه واریانس شامل اثرات متقابل تنش خشکی، رقم و استرین‌های باکتریایی در جدول‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.

فاکتورهای رشدی

میزان ارتفاع در هر دو رقم تحت شرایط تنش کاهش

تهیه شده (عصاره الکلی تهیه شده برای پرولین) با سه میلی‌لیتر از آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون به علاوه ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) مخلوط شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد و پس از خنک شدن، جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. استانداردها از گلوکز خالص در غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۲۵۰، ۱۵۰۰، ۱۷۵۰، ۲۰۰۰، ۲۲۵۰ و ۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد (Irigoyen et al. 1992).

اندازه‌گیری کلروفیل a و b

برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b ابتدا ۰/۲۵ گرم برگ تازه گیاه پسته را با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ در هاون چینی کوبیده تا مخلوط یکنواختی حاصل شود. سپس مخلوط حاصل را به لوله فالکون منتقل کرده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ قرائت شد (Lichtenthaler 1987). و در نهایت غلظت کلروفیل با استفاده روابط زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chlorophyll a (mg.g}^{-1}\text{fw)} = \frac{[(12.7 \times \text{OD663}) - (2.69 \times \text{OD645}) \times V]}{[1000 \times W]}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg.g}^{-1}\text{fw)} = \frac{[(22.9 \times \text{OD645}) - (4.68 \times \text{OD663}) \times V]}{[1000 \times W]}$$

OD: میزان جذب نور، V: حجم نهایی عصاره، W: وزن تر نمونه (گرم).

شاخص‌های رشدی

ارتفاع ساقه

ارتفاع گیاه با استفاده از خط‌کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری گردید.

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

برای اندازه‌گیری وزن خشک، ابتدا نمونه‌ها از ناحیه طوقه جدا و به دو قسمت ساقه و ریشه تقسیم شدند سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده و سپس وزن شدند.

سرخس بود. در شرايط عدم تنش و تنش خشكي بيشترين ميزان پرولين در در نهال‌هاي تيمارشده با دو استرين T17-4 و VUPF5 و كمترين ميزان در استرين CHA0 اندازه‌گيري گرديد (شكل ۲).

قند محلول

نتايج حاصل از تجزيه واريانس داده‌هاي مربوط به قند محلول (جدول ۲) نشان داد كه اثر رقم، تنش خشكي، استرين‌هاي باكتريايي و اثرات متقابل آنها بر ميزان قندهاي محلول در سطح احتمال يك درصد معني‌دار، اما اثر متقابل رقم و تنش خشكي بر ميزان قندهاي محلول بي‌معني است. تنش خشكي موجب افزايش قندهاي محلول در نهال‌هاي پسته شد كه اين افزايش در نهال‌هاي مایه‌زني شده بيشتر بود. ميزان قندهاي محلول در رقم بادامي ۱۶٪ نسبت به رقم سرخس افزايش نشان داد. بيشترين ميزان قند محلول در شرايط تنش خشكي در دو استرين VUPF5 و T17-4 و كمترين ميزان در استرين 428 مشاهده گرديد (شكل ۳).

رنگيزه‌هاي فتوسنتزي

كلروفيل a

نتايج حاصل از تجزيه واريانس داده‌هاي مربوط به كلروفيل a (جدول ۲) نشان داد كه اثرات ساده و متقابل رقم، تنش خشكي و استرين‌هاي باكتريايي بر ميزان كلروفيل a در سطح احتمال يك و پنج درصد معني‌دار هستند. اثر متقابل رقم و تنش خشكي بر ميزان كلروفيل a بي‌معني بود. بين ارقام و همچنين بين استرين‌هاي باكتريايي از لحاظ ميزان كلروفيل a تفاوت معني‌داری مشاهده نگردید (شكل ۴).

می‌یابد اما در رقم سرخس نسبت به رقم بادامي کاهش رشد بيشتري مشاهده گرديد. بر اساس نتايج به‌دست‌آمده، تفاوت معني‌داری بين استرين‌هاي باكتريايي روي ارتفاع نهال‌ها تحت شرايط تنش خشكي مشاهده نگردید. اين در حالي است كه در شرايط عدم تنش توانايي باكتري‌ها در افزايش ارتفاع نهال‌ها از نظر آماری متفاوت بودند و بيشترين مقدار مربوط به استرين‌هاي T-17-4 و 428 بود.

به‌طور كلي مایه‌زني با استرين‌هاي باكتريايي باعث افزايش صفات رشدی نهال‌هاي پسته در دو رقم سرخس و بادامي گرديد كه اين افزايش نسبت به شاهد بدون مایه‌زني از نظر آماری برای هر دو رقم معني‌دار بود (جدول ۱). مقایسه استرين‌هاي باكتريايي نشان داد كه دو استرين VUPF5 و T17-4 در هر دو رقم و در شرايط وجود و يا عدم وجود تنش بهترين كارايي در افزايش وزن تر و خشك اندام هوایی و ريشه را داشتند. كمترين ميزان صفات اندازه‌گيري شده مربوط به شاهد بدون مایه‌زني در هر دو سطح تنش بود و پس از آن استرين CHA0 قرار گرفت (شكل ۱).

پرولين

نتايج حاصل از جدول ۲ نشان داد كه اثر رقم، تنش خشكي و استرين‌هاي باكتريايي و اثرات متقابل آنها بر ميزان پرولين در سطح احتمال يك درصد معني‌دار گرديد. تنش خشكي باعث افزايش ميزان غلظت پرولين هم در نهال‌هاي مایه‌زني شده با استرين‌هاي باكتريايي و هم در گياهان شاهد شد با اين تفاوت كه ميزان پرولين در نهال‌هاي مایه‌زني شده بيشتر بود. بين ارقام از نظر ميزان پرولين تفاوت معني‌داری مشاهده گرديد به‌طوري كه ميزان پرولين در رقم بادامي ۲۹٪ بيشتر از رقم

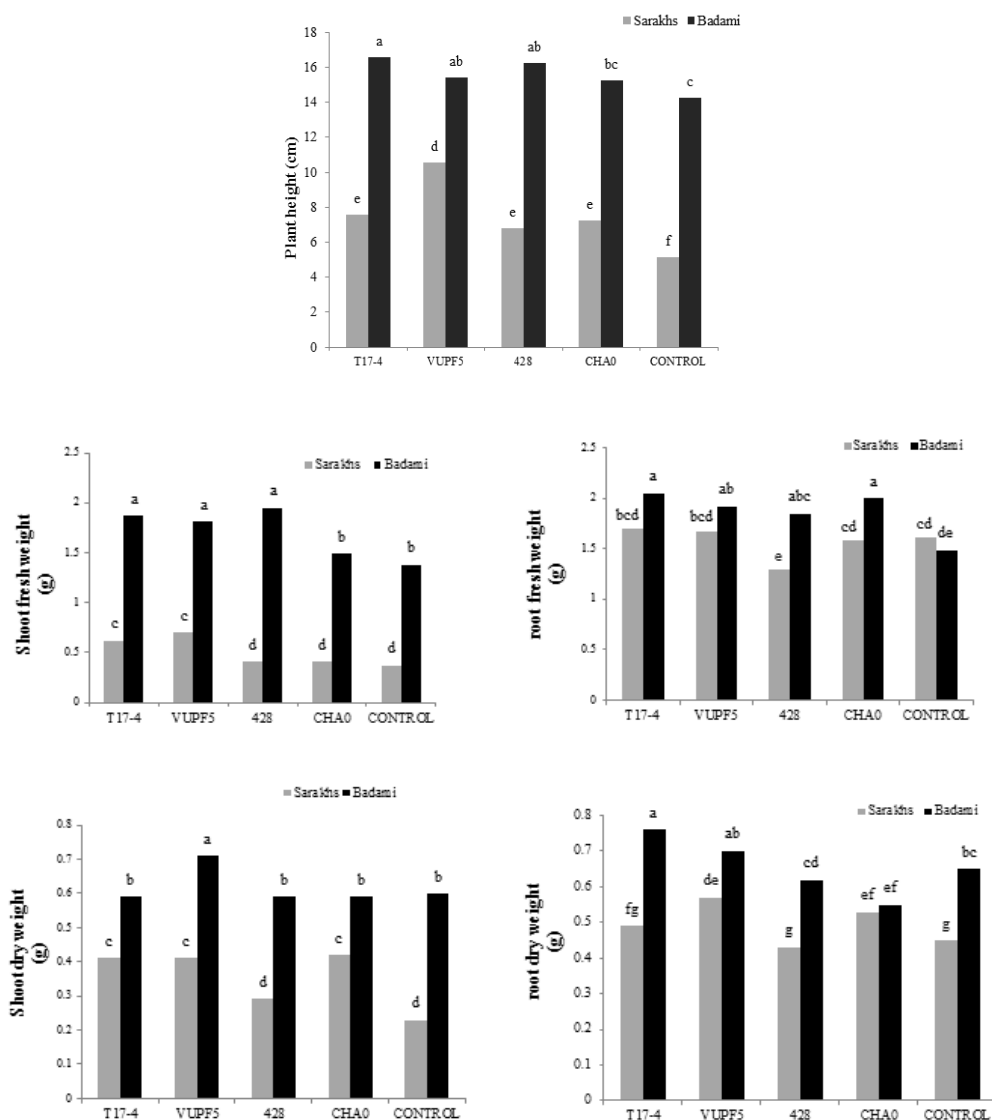
جدول ۱. نتايج تجزيه واريانس مربوط به فاکتورهاي رشدی ارقام بادامي ريز زرد و سرخس تحت شرايط تنش خشكي

Table 1. Analysis of variance for growth parameters in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

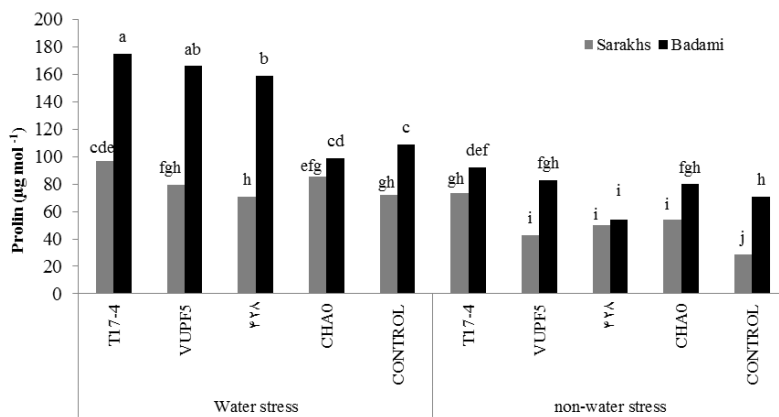
Source of variations	df	Mean squares				
		H	SFW	RFW	SDW	SRW
Cultivars (C)	1	981.39**	21.48**	1.24**	1.04**	0.39**
Bacterial strains (B)	4	17.49**	0.37**	0.25**	0.03**	0.02**
Drought (D)	1	34.26**	1.32**	1.63**	0.10**	0.10**
C × B	4	10.37**	0.13**	0.20**	0.02**	0.02**
C × D	1	0.03 ^{ns}	1.02**	0.05 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.001 ^{ns}
B × D	4	7.32**	0.12**	0.07 ^{ns}	0.009*	0.007 ^{ns}
C × B × D	4	7.63**	0.15**	0.20*	0.004 ^{ns}	0.0004 ^{ns}
Error		1.006	0.03	0.05	0.002	0.003
CV%		8.71	15.80	13.68	11.17	9.82

ns, *, **, عدم وجود اختلاف معني‌دار و وجود اختلاف در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, *, **: non significantly differences and significantly difference at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$.



شکل ۱. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر فاکتورهای رشدی نهال‌های ارقام بادامی ریز زرد و سرخس تحت شرایط تنش خشکی.
Figure 1. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the growth parameters in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

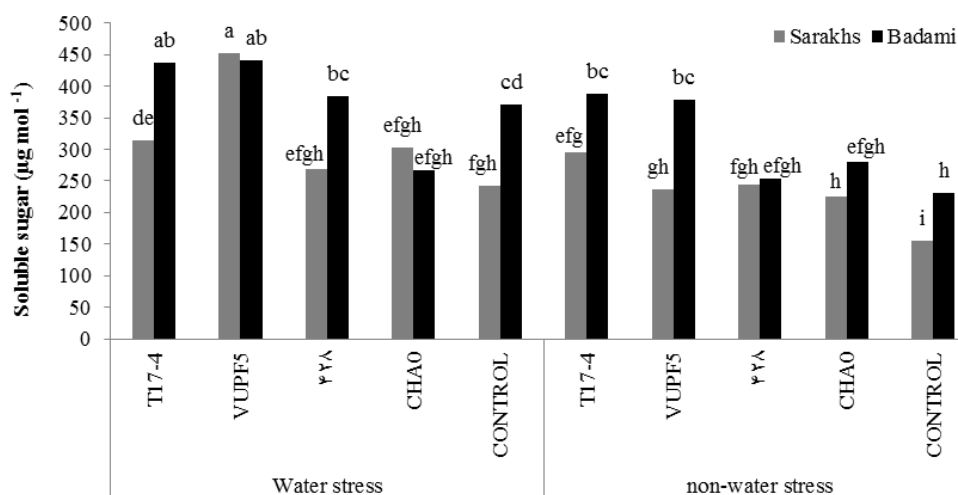


شکل ۲. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر میزان پرولین نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.
Figure 2. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the proline content in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس مربوط به صفات فتوسنتزی و اسمولیت‌های ارقام بادامی ریز زرد و سرخس تحت شرایط تنش خشکی
Table 2. Analysis of variance for osmolytes and photosynthetic traits in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

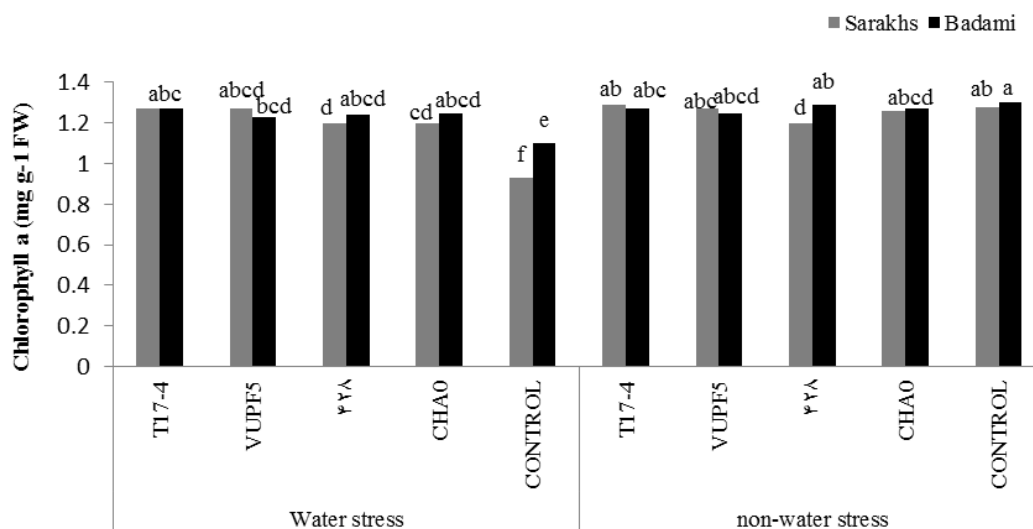
Source of variations	df	Mean squares			
		prolin	Soluble sugars	Chlorophyll a	Chlorophyll b
Cultivars (C)	1	13292.80**	48166.17**	0.01*	2.96**
Bacterial strains (B)	4	2649.72**	38054.03**	0.02**	0.65**
Drought (D)	1	35249.30**	93685.39**	0.07**	0.80**
C × B	4	3058.40**	11388.51**	0.005*	0.21**
C × D	1	14240.90**	846.45 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.002 ^{ns}
B × D	4	736.15**	6838.45**	0.03**	0.21**
C × B × D	4	288.20**	8008.76**	0.007**	0.20**
Error		65.78	1497.26	0.001	0.02
CV%		9.31	12.53	3.37	11.80

ns, *, **: non significantly differences and significantly difference at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$.



شکل ۳. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر میزان قندهای محلول نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.

Figure 3. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the soluble sugars content in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.



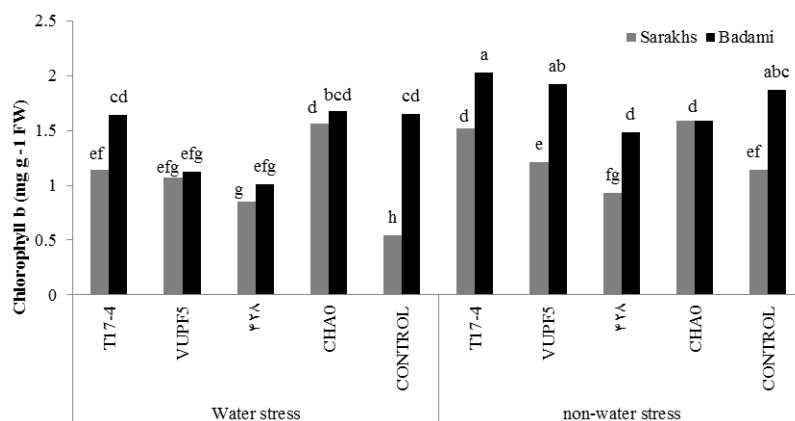
شکل ۴. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر میزان کلروفیل a نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.

Figure 4. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the Chlorophyll a content in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

کلروفیل b

کلروفیل b معنی‌دار است. میزان کلروفیل b در رقم بادامی ۲۸٪ نسبت به رقم سرخس بیشتر بود. در شرایط عدم تنش دو استرین T17-4 و VUPF5 دارای میزان کلروفیل b بیشتری نسبت به دو استرین دیگر بودند (شکل ۵).

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل b نشان داد که اثرات ساده و متقابل رقم، تنش خشکی و استرین‌های باکتریایی به جز اثر متقابل رقم و سطح تنش بر میزان

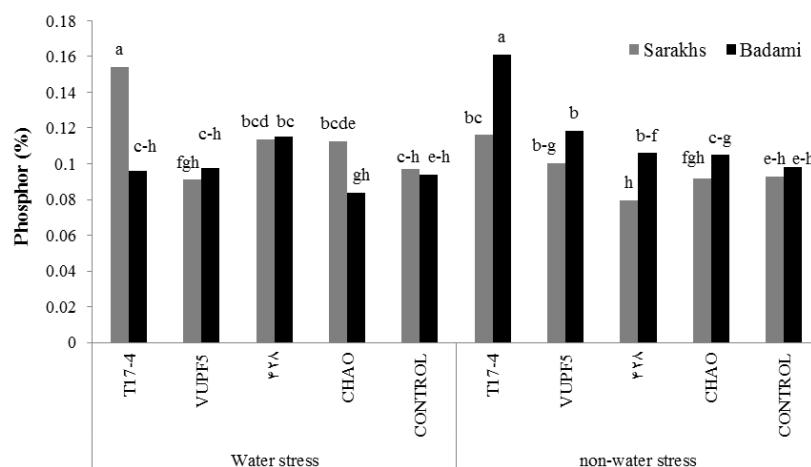


شکل ۵. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر میزان کلروفیل b نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.
Figure 5. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the Chlorophyll b content in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

عناصر غذایی**فسفر ساقه و ریشه**

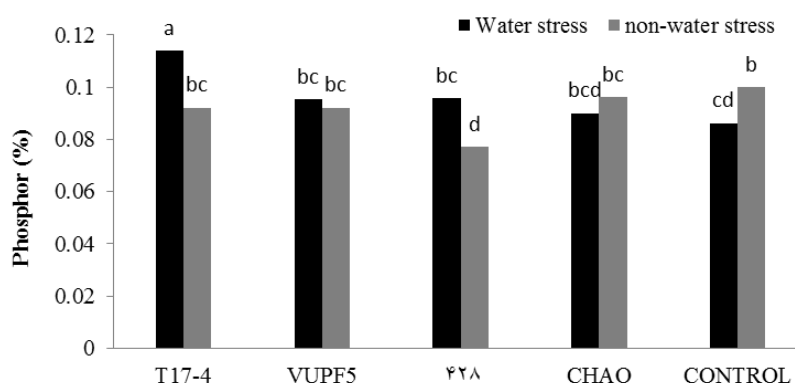
مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش معنی‌داری در مقدار فسفر ساقه نسبت به تیمار شاهد در هر دو رقم بادامی و سرخس گردید ولی مایه‌زنی گیاهان با برخی از استرین‌های باکتریایی نظیر T17-4 و 428 سبب کاهش اثرات تنش خشکی بر مقدار فسفر ساقه نسبت به تیمار شاهد در هر دو رقم پسته گردید ولی تفاوت معنی‌داری بین شاهد و سایر استرین‌ها در شرایط خشکی مشاهده نگردید (شکل ۶).

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که استرین‌های باکتریایی، اثر متقابل رقم و باکتری و اثرات سه‌گانه استرین‌های باکتریایی، رقم و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر مقدار فسفر ساقه داشت ولی سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر مقدار فسفر ساقه نداشتند (جدول ۳). به‌طوری که نتایج



شکل ۶. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر مقدار فسفر ساقه نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.
Figure 6. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the phosphorus content in shoot in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

شرایط تنش به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا کرد ولی مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های مختلف باکتریایی سبب حفظ و یا افزایش مقدار فسفر ریشه گردید به‌طوری که جدایه T17-4 بیشتری تأثیر را بر مقدار فسفر ریشه در شرایط تنش داشت و سبب افزایش ۲۳٪ مقدار فسفر در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش گردید (شکل ۷).



شکل ۷. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر مقدار فسفر ریشه نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.

Figure 7. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the phosphor content in root in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که در شرایط تنش خشکی مقدار روی ریشه حدود ۱۴٪ افزایش پیدا کرد (شکل ۹-a). نتایج مقایسه میانگین مربوط به تأثیر استرین‌های باکتریایی سودوموناس فلورسنت نیز نشان داد که مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های مختلف باکتریایی سبب افزایش قابل توجهی در مقدار روی ریشه گردید و در این بین استرین ۴۲۸ بیشترین مقدار روی را نسبت به سایر استرین‌ها به خود اختصاص داد (شکل ۹-b).

آهن ساقه و ریشه

همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است استرین‌های باکتریایی و اثرات متقابل آنها با تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر مقدار آهن ساقه و ریشه داشتند ولی سایر تیمارها و اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر مقدار آهن ساقه و ریشه نداشتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱۰) نشان داد که مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های VUPF5 و T17-4 سبب افزایش معنی‌داری در مقدار آهن ساقه در شرایط بدون تنش گردید ولی سایر

روی ساقه و ریشه

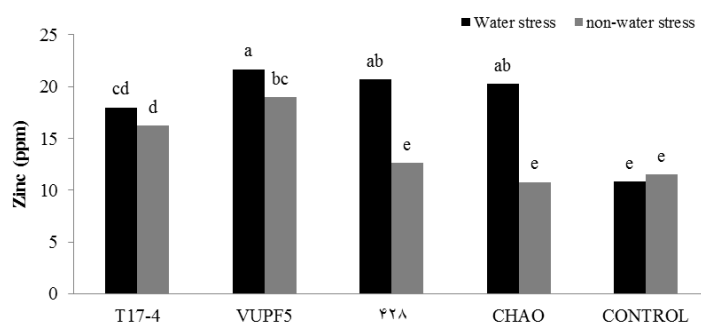
همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است استرین‌های باکتریایی و اثر متقابل آنها با تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر مقدار روی ساقه داشتند ولی سایر تیمارها و اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر مقدار روی ساقه نداشتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین بین داده‌ها نشان داد که مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های T17-4 و VUPF5 سبب افزایش قابل توجهی در مقدار روی ساقه در شرایط بدون تنش نسبت به سایر تیمارها و اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر مقدار روی ساقه نداشتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین بین داده‌ها نشان داد که مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های T17-4 و CHAO به بیشترین (۸۷٪) و کمترین (۱۰٪) مقدار افزایش روی به ترتیب در گیاهان در مایه‌زنی شده با استرین‌های T17-4 و CHAO به ثبات رسید (شکل ۸).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مربوط به اثرات ساده استرین‌های مختلف باکتریایی و تنش خشکی بر مقدار روی ریشه معنی‌دار گردید ولی سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر مقدار روی ریشه نداشتند (جدول ۳).

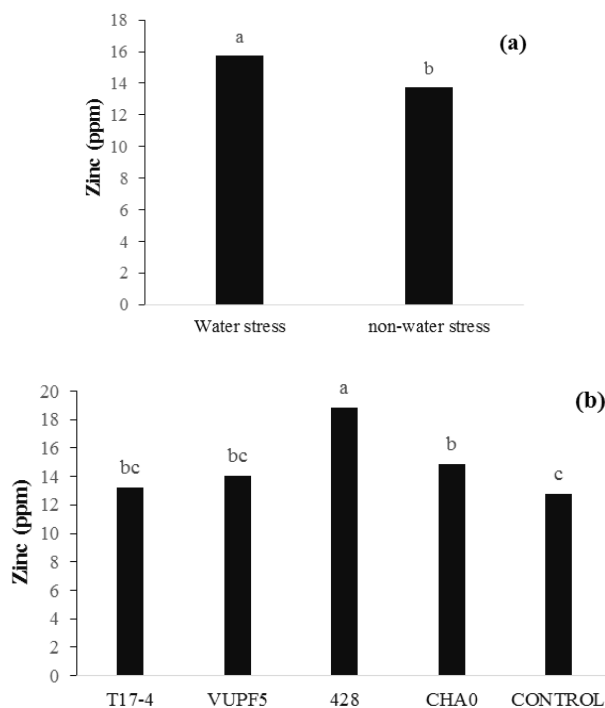
نشان داد که مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های باکتریایی سبب افزایش قابل توجهی در مقدار آهن ریشه نسبت به گیاهان شاهد در شرایط تنش و بدون تنش گردید. نتایج همچنین بیانگر این بود که استرین T17-4 سبب افزایش قابل توجهی در مقدار آهن ریشه در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش گردید ولی تفاوت معنی‌داری بین سایر استرین‌ها در شرایط بدون تنش و تنش مشاهده نگردید (شکل ۱۱).

استرین‌های سودوموناس تفاوت معنی‌داری با نهال‌های شاهد در شرایط بدون تنش نداشتند. نتایج همچنین حاکی از آن است که استرین 428 بیشترین تأثیر را در افزایش مقدار آهن ساقه نسبت به سایر استرین‌ها در شرایط تنش خشکی داشت و سایر استرین‌ها تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد در شرایط تنش خشکی نداشتند.

نتایج مقایسه میانگین مربوط به مقدار آهن ریشه نیز

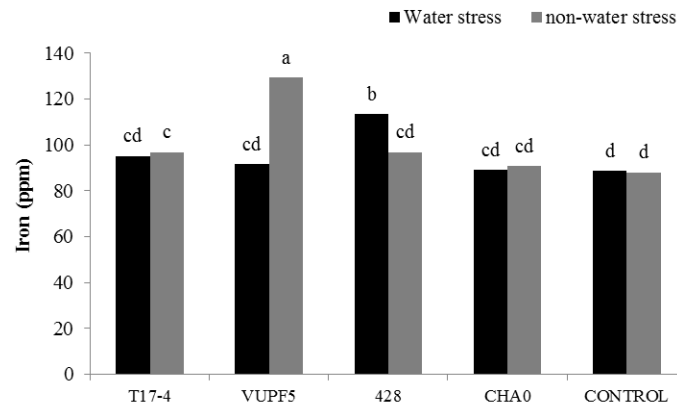


شکل ۸. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر مقدار روی ساقه نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.
Figure 8. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the zinc content in shoot in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

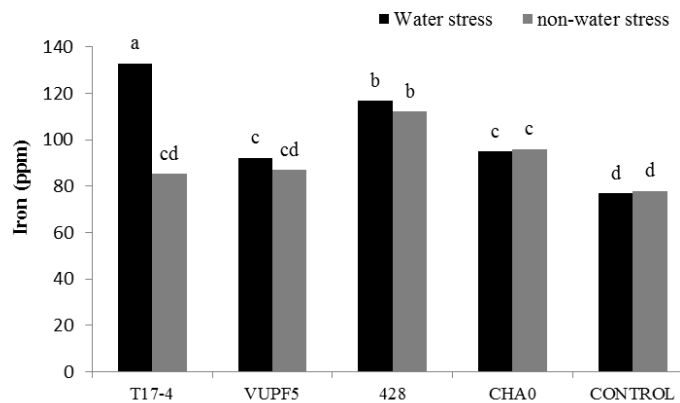


شکل ۹. تأثیر تنش خشکی (a) و استرین‌های سودوموناس فلورسنت (b) بر مقدار روی ریشه نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.

Figure 9. Efficacy of water stress (a) and *Pseudomonas fluorescens* strains (b) on the zinc content in root in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.



شکل ۱۰. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر مقدار آهن ساقه نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.
Figure 10. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the iron content in shoot in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.



شکل ۱۱. تأثیر استرین‌های سودوموناس فلورسنت بر مقدار آهن ریشه نهال‌های ارقام سرخس و بادامی ریز زرد در شرایط تنش خشکی.
Figure 11. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains on the iron content in root in Badami and Sarakhs pistachio cultivars under drought stress conditions.

رشدی و فیزیولوژی گیاه گردید، که این افزایش می‌تواند مربوط به تأثیرگذاری مثبت استرین‌های باکتریایی بر تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین (IAA)، سیتوکینین و جیبرلین باشد که باعث افزایش انشعابات ریشه‌ای می‌شوند و در نتیجه با افزایش سطح ریشه باعث افزایش جذب آب و عناصر غذایی گردند (Germn *et al.* 2000). همچنین این باکتری‌ها با تولید آنزیم ACC-دآمیناز، باعث تجزیه ACC (پیش ماده تولید اتیلن) و کاهش سطح اتیلن در گیاه می‌شوند (Glick *et al.* 2007). چنگ و همکاران نشان دادند که مایه‌زنی گیاهان کلزا با باکتری‌های مولد ACC-دآمیناز باعث افزایش رشد این گیاهان تحت تنش شوری شدند (Cheng *et al.* 2007). سراواناکومار و سمیپان گزارش کردند که *Pseudomonas fluorescens* دارای آنزیم ACC

بحث

تأثیر استرین‌های باکتریایی در افزایش تحمل نهال‌های پسته تحت شرایط تنش خشکی با اندازه‌گیری فاکتورهایی همچون پرولین، قند، کلروفیل a، کلروفیل b، عناصر روی، آهن و فسفر ریشه و ساقه و فاکتورهای رشدی مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر مثبت سودوموناس‌ها در افزایش تحمل گیاهان به استرس‌های زنده و غیر زنده باعث شده است تا تحقیقات زیادی روی آنها صورت گیرد. با توجه به اینکه درختان پسته در مناطق خشک و با شوری نسبتاً بالا کشت می‌شوند، استفاده از سودوموناس‌ها می‌تواند در بهبود تحمل آنها به شرایط نامساعد محیطی و تنش‌های زنده نقش مهمی داشته باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مایه‌زنی با استرین‌های سودوموناس باعث افزایش صفات مختلف

(Silvente *et al.* 2012) گزارش شده است. تیمار گیاهان با PGPRها منجر به افزایش سطوح پرولین می‌شود. برای مثال تیمار خیار (*Cucumis sativa* L.) با مخلوط استرین‌های PGPR منجر به افزایش محتوی پرولین در برگ‌ها ۳ تا ۴ برابر نسبت به گیاه شاهد شد (Wang *et al.* 2012). به‌طور کلی پرولین تحت تنش‌های محیطی مختلف افزایش می‌یابد و به‌عنوان یک واکنش عمومی نسبت به این تنش‌ها محسوب می‌شود (Sumaryati *et al.* 1992). قندهای محلول از جمله سوکروز، گلوکز، فروکتوز و رامینوز معمولاً در شرایط تنش خشکی در برگ‌های گیاه تجمع می‌یابند (Hare *et al.* 1998). این قندها موجب تنظیم اسمزی و حفظ هموستازی و همچنین موجب حفظ آماس سلول در نتیجه باعث حفظ عملکرد طبیعی گیاه تحت شرایط کمبود آب می‌شوند (Krasensky and Jonak 2012). مایه‌زنی گیاه تیموتی (*Bacillus subtilis*) با باکتری (*Phleum pratense* L.) B26 باعث افزایش میزان قندهای محلول در گیاه تحت شرایط تنش خشکی گردید (François *et al.* 2016). این باکتری‌ها می‌توانند باعث افزایش بیوسنتز قندها و در نتیجه موجب تنظیم اسمزی بهتر شوند که این به‌نوبه خود موجب کاهش اثرات تنش بر گیاه می‌شود. گزارش‌های متعددی از اثر باکتری‌های اندوفیت بر افزایش مقاومت به تنش خشکی و سرما در گیاهانی همچون ذرت و انگور با تجمع بیشتر و سریع‌تر متابولیت‌های مربوط به تنش وجود دارد (Vardharajula *et al.* 2011; Fernandez *et al.* 2012; Nagabhyru *et al.* 2013). همچنین در این پژوهش نشان داده شد که افزایش محتوی پرولین و قند در رقم بادامی نسبت به رقم سرخس بیشتر بود که این خود می‌تواند دلیل مقاومت بیشتر رقم بادامی به شرایط تنش خشکی باشد. تنش خشکی غلظت کلروفیل را در نهال‌های هر دو رقم پسته کاهش داد ولی این کاهش در نهال‌های مایه‌زنی شده با استرین‌های باکتریایی کمتر بود. با افزایش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی، ساختار کلروپلاست تخریب و محتوی کلروفیل کاهش می‌یابد. مایه‌زنی با باکتری‌ها موجب افزایش غلظت کلروفیل هم در نهال‌های تحت تنش و عدم تنش گردید. این باکتری‌ها می‌توانند از طریق افزایش هدایت روزنه‌ای

deaminase در شرایط شوری اثرات مثبتی بر برخی شاخص‌های رشدی بادام زمینی داشته است (Saravanakumar and Samiyappan 2007). شاهارونا و همکاران نشان دادند که تلقیح ذرت با برخی از سویه‌های باکتری سودوموناس منجر به افزایش معنی‌دار در ارتفاع، وزن ریشه و بیوماس کل در مقایسه با شاهد شد. این سویه‌ها احتمالاً از طریق کاهش میزان اتیلن در ریشه‌ها و به دنبال آن کاهش اثرات بازدارندگی آن موجب افزایش رشد گیاه شده‌اند (Shaharona 2006).

تنظیم اسمزی یکی از سازگاری‌های کلیدی در سطح سلولی است که به افزایش تحمل گیاه در شرایط تنش خشکی کمک می‌کند و باعث حفاظت از آنزیم‌ها، پروتئین‌ها، اجزای سلول و غشاها در برابر تنش اکسیداتیو می‌شود (Farooq *et al.* 2009). تنظیم اسمزی تجمع فعال املاح آلی و غیرآلی و همچنین املاح سازگار (اسمولیت‌ها) در شرایط تنش خشکی است. اسمولیت‌ها مانند پرولین، قند، گلیاسین بتائین، پلی‌یول‌ها و پلی‌آمین‌ها در سلول تحت شرایط تنش افزایش می‌یابند. افزایش این ترکیبات باعث ایجاد فشار اسمزی در درون سلول می‌شود، در نتیجه با ایجاد شیب غلظت و جذب آب به درون سلول باعث حفظ آماس سلولی و کاهش خسارت به غشا می‌شوند. این ترکیبات همچنین می‌توانند جایگزین ملکول‌های آب شوند و اطراف ماکروملکول‌های سلول مانند DNA، پروتئین‌ها، لیپیدها و رنگیزه‌های فتوسنتزی را فرا گیرند و مانع از خسارت اکسیداتیو به این ماکروملکول‌ها شوند (Bates *et al.* 1973; Krasensky and Jonak 2012).

در این پژوهش تنش خشکی موجب افزایش سطح پرولین و قند در نهال‌های هر دو رقم پسته گردید. کاربرد باکتری‌های سودوموناس نیز باعث افزایش بیشتر پرولین و قند در نهال‌های مایه‌زنی شده نسبت به نهال‌های شاهد گردید. تنش خشکی اغلب با افزایش اسمولیت‌ها به ویژه پرولین همراه است. در بسیاری از گیاهان افزایش در سطح پرولین تحت شرایط تنش خشکی با تحمل به خشکی ارتباط مستقیم دارد. برای مثال افزایش در سطح پرولین تحت شرایط تنش خشکی در نخود (*Pisum sativum* L.) (Alexieva *et al.* 2001)، برنج (*Oryza sativa* L.) (Lum *et al.* 2014) و سویا

آهن فریک خاک تشکیل کمپلکس پایدار داده و با جلوگیری از تثبیت و غیرفعال شدن آن در خاک، تغذیه آهن گیاه را بهبود می‌بخشد (Klopper *et al.* 1980). این باکتری‌ها همچنین می‌توانند از طریق تغییر در ساختار ریشه منجر به افزایش مساحت ریشه و در نتیجه منجر به افزایش جذب آب و مواد غذایی شوند (Somers *et al.* 2004). تحقیقات شارما نشان داد که تیمار گیاه ذرت با باکتری‌های محرک رشد به‌طور معنی‌داری ارتفاع گیاه و وزن خشک ساقه را افزایش داده و همچنین جذب عناصر غذایی مثل N، P، K، Fe، Zn و Cu توسط گیاه با کاربرد باکتری‌های محرک رشد افزایش یافته است (Sharma 2004).

غلظت عناصر در رقم سرخس نسبت به رقم بادامی بیشتر بود. این نتیجه می‌تواند به دلیل کم بودن سطح برگ و ریشه در رقم سرخس و غلظت بیشتر عناصر در این رقم باشد. لازم به ذکر است که بین استرین‌ها از نظر تأثیرگذاری در شرایط اعمال تنش و عدم وجود آن تفاوت وجود داشت که در مجموع دو استرین VUPF5 و T17-4 بهترین تأثیر را داشتند.

(Vivas *et al.* 2003)، افزایش سطح فتوسنتز گیاه (Marcelis and Van Hooijdonk, 1999) و همچنین از طریق افزایش جذب آب و مواد غذایی باعث افزایش ساخت رنگیزه‌های گیاهی و افزایش محتوی کلروفیل گیاه شوند (Marius *et al.* 2005).

مایه‌زنی با باکتری‌ها همچنین موجب افزایش عناصر روی، آهن و فسفر هم در برگ و هم در ریشه نهال‌های پسته گردید، که این افزایش می‌تواند از طریق تولید اسیدهای آلی و کاهش pH خاک و در نتیجه افزایش انحلال عناصر غذایی از جمله روی و فسفر گردد (Shahab and Ahmed 2008). این باکتری‌ها همچنین از طریق تولید سیدروفور باعث افزایش جذب آهن توسط گیاه می‌شوند. در یک تحقیق نشان داده شد که سیدروفور تولیدشده توسط باکتری سودوموناس حلالیت آهن، روی، منگنز و مس را افزایش داد (Chen *et al.* 1994). کلور و همکاران گزارش کردند که سیدروفورهای میکروبی می‌تواند با افزایش فراهمی آهن در خاک اطراف ریشه، رشد ریشه و جذب آهن را افزایش دهد. سیدروفور ترشح شده توسط باکتری‌ها، با

REFERENCES

- Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment* 24: 1337–1344.
- Bates LS, Walderen RD, Taere ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Annals of Botany* 91: 179–194.
- Chapman HD, Prah DF (1961) Methods of analysis for soil, plants and water. University of California, Division of Agriculture. Science: 60-62.
- Chen Y, Jurkevitch E, Bar-Ness E, Hadar Y (1994) Stability constants of pseudobactin complexes with transition metals. *Soil Science Society of America Journal* 58:390-396.
- Cheng Z, Park E, Glick BR (2007) 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitate the growth of canola in the presence of salt. *Canadian Journal of Microbiology* 53: 912-918.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185-212.
- Fernandez O, Theocharis A, Bordiec S, Feil, R, Jacquens L, Clément C, *et al.* (2012). *Burkholderia phytofirmans* PsJN acclimates grapevine to cold by modulating carbohydrate metabolism. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25: 496–504.
- François Gagné-Bourque, Annick Bertrand, Annie Claessens, Konstantinos A. Aliferis, Suha Jabaji (2016) Alleviation of Drought Stress and Metabolic Changes in Timothy (*Phleum pratense* L.) Colonized with *Bacillus subtilis* B26. *Frontiers in Plant Science* 7: 584.
- Gagné-Bourque F, Meng Xu, Dumont MJ, Jabaji S (2015) Pea protein alginate encapsulated *Bacillus subtilis* B26, a plant biostimulant, provides controlled release and increase storage survival. *Journal of Fertilizers and Pesticides* 6: 157.
- German MA, Burdman S, Okon Y (2000) Effect of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regims. *Biology and Fertility of Soils* 32: 259-264.

- Glick BR** (2014) Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169: 30- 39.
- Glick BR, Cheng Z, Czarny J** (2007) Promoting of plant growth by ACC deaminase producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology* 119:329-339.
- Hare P, Cress W, Van Staden J** (1998) Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell and Environment* 21: 535–553.
- Irigoyen JJ, Emerich DW, Sanchez Diaz M** (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Plant Physiology* 84: 55-60.
- Kloepper J, Leong WJ, Teintze M, Schroth MN** (1980) Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
- Krasensky J, Jonak C** (2012) Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63(4): 1593-1608.
- Lichtenthaler HK** (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Lum MS, Hanafi MM, Rafii YM, Akmar ASN** (2014) Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *Journal of Animal and Plant Sciences* 24: 1487–1493.
- Marcelis LF, Hooijdonk HV** (1999) Effect of salinity on growth, water use and nutrient use in radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant and Soil* 215: 57-64.
- Marius S, Octavita A, Eugen U, Vlad A** (2005) Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genetics and Molecular Biology* 12: 11-17.
- Modarres R, Rodrigues DP, da Silva V** (2007) Rainfall trends in arid and semi-arid regions of Iran. *Journal of Arid Environments* 70: 344-355.
- Moradi M** (1998) Isolation and identification of *Phytophthora* species from root and crown of pistachio in Kerman and Fars provinces and resistance determination of root and crown among current pistachio cultivars. M.Sc. dissertation, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran. (in Persian)
- Nagabhyru P, Dinkins R, Wood C, Bacon C, Schardl C** (2013) Tall fescue endophyte effects on tolerance to water-deficit stress. *BMC Plant Biology* 13:127.
- Olsen SR, Cole CV, Watanbe FS, Dean LA** (1954) Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circ. 939, U.S. Govern. Prin. Office, Washington, DC., USA.
- Paquin R, Lechasseur P** (1979) Observations sur a free praline dosing method in plant extracts. *Canadian Journal of Botany* 57: 1851-1854.
- Saravanakumar D, Samiyappan R** (2007) ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. *Journal of Applied Microbiology* 120: 1283- 1292.
- Shahab S, Ahmed N** (2008) Effect of various parameters on the efficiency of zinc phosphate solubilization by indigenous bacterial isolates. *African Journal of Biotechnology* 7: 1543-1549.
- Shaharoon B, Arshad M, Zahir ZA, Khalid A** (2006) Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2971-2975.
- Sharma A K** (2004) Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India.
- Silvente S, Sobolev AP, Lara M** (2012) Metabolite adjustment in drought tolerant and sensitive genotypes in response to water stress. *Plos One* 7: e38554.
- Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M** (2004) Rhizosphere bacterial signaling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology* 304: 205-240.
- Sumaryati S, Negrutiu I, Jacobs M** (1992) Characterization and regeneration of salt- and water-stress mutants from protoplast culture of *Nicotiana plumbaginifolia* (Viviani). *Theoretical and Applied Genetics* 83: 613-619.
- Vardharajula S, Zulfikar Ali S, Grover M, Reddy G, Bandi V** (2011) Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions* 6: 1-14.
- Vivas A, Marulanda A, Ruiz-Lozano JM, Barea JM, Azcon R** (2003) Influence of a *Bacillus* sp. on physiological activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and on plant responses to PEG induced drought stress. *Mycorrhiza* 13: 249-256.
- Wang C, Yang W, Wang C, Gu C, Niu D, Liu H, Wang Y, Guo J** (2012) Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. *Plos One* 7: e25265.
- Zahir AZ, Arshad M, Frankenberger WF** (2004) Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 81:97-168.
- Zhu JK** (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53: 247-273.