علوم و تحقیقات بذر ایران
سال دوازدهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۴ (۶۸ - ۵۱)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2025.9417

تاثیر پیش‌تیمار زیستی با کنسرسیوم باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گندم حساس رقم قدس تحت تنش شوری در شرایط آزمایشگاهی

احمد اصغرزاده*[۱]، کبری ثقفی[۲]، بهمن خوشرو[۳]، محمد امین باقری[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۵/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۲۶

چکیده

شوری خاک با به خطر انداختن مراحل حیاتی جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، پتانسیل تولید ارقام پرمحصول اما حساس نظیرگندم را به شدت محدود می‌سازد. این پژوهش با هدف ارزیابی پتانسیل محافظتی پیش‌تیمار زیستی بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) به صورت منفرد و ترکیبی، برای بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه گندم رقم حساس قدس تحت تنش شوری طراحی و اجرا گردید. بدین منظور، یک مطالعه آزمایشگاهی به صورت فاکتوریل اجرا شد که در آن بذور گندم با هشت تیمار باکتریایی (شاهد، تلقیح منفرد و ترکیبی از سه جدایه *Azospirillum*، *Azotobacter* و *Pseudomonas*) پیش‌تیمار و سپس تحت سه سطح شوری (صفر، ۶ و ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر) قرار گرفتند و شاخص‌های کلیدی جوانه‌زنی، صفات مورفولوژیک و تجمع زیست‌توده ارزیابی گردید. نتایج پس از دو هفته نشان داد که در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر)، در حالی که رشد در شاهد رشد بسیار محدودی داشت، پیش‌تیمار با کنسرسیوم سه‌گانه باکتریایی منجر به بهبود چشمگیر و همه‌جانبه‌ای شد؛ به‌طوری که این تیمار در مقایسه با شاهدِ تحت تنش، شاخص بنیه گیاهچه را ۳۲/۲٪، سرعت جوانه‌زنی را ۲۰/۴۲٪، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه را به ترتیب ۴۰/۵۱٪ و ۳۸/۱۴٪ و وزن خشک ریشه را ۲۶/۳۲٪ افزایش داد. نکته قابل توجه، عملکرد منحصربه‌فرد تلقیح منفرد با *سودوموناس* در حفظ بالاترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه تحت تنش شدید بود. این یافته‌ها پتانسیل استفاده از کنسرسیوم‌های میکروبی را به عنوان یک عامل بهبوددهنده زیستی برای افزایش مقاومت و تضمین استقرار محصولات در اکوسیستم‌های کشاورزی تحت تأثیر شوری، برجسته می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: الگوی تخصیص زیست‌توده، تنش شوری، تیمار ترکیبی، سودوموناس، شاخص بنیه گیاهچه

۱- دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. a_asgharzadeh_2000@yahoo.com
۲- محقق موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. saghafi.varesh@gmail.com
۳- محقق پسادکترا، موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. bahmankhoshru@yahoo.com
۴- محقق پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری ایران، تهران، ایران. moaba.ac@gmail.com
*نویسنده مسئول: a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

مقدمه

بسیاری از ارقام تجاری و پرمحصول گندم (*Triticum aestivum* L.)، که برای دستیابی به پتانسیل بالای عملکرد تحت شرایط بهینه اصلاح شده‌اند، اغلب در برابر تنش‌های غیرزیستی آسیب‌پذیری بالایی از خود نشان می‌دهند. این پدیده که به نوعی مصالحه بین پتانسیل تولید و مقاومت به تنش[1] است، سبب می‌شود ارقامی مانند گندم قدس علی‌رغم عملکرد مطلوب در شرایط عادی، در مواجهه با شوری فزاینده خاک با چالش جدی روبرو شوند (Seleiman *et al*., 2022). با توجه به اینکه بخش قابل توجهی از اراضی کشاورزی ایران، به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک، تحت تأثیر درجات مختلف شوری قرار دارد (FAO, 2021)، این حساسیت می‌تواند به‌طور مستقیم امنیت غذایی را تهدید کند. در حالی که ارقام مقاوم از سازوکارهای ژنتیکی برای بقا در این شرایط برخوردارند، ارقام حساس در مراحل اولیه رشد دچار افت شدید شده و این امر اغلب منجر به عدم استقرار مناسب گیاهچه و شکست کامل مزرعه می‌گردد. از این رو، یافتن راهکارهایی برای محافظت و افزایش تحمل این ارقام، اهمیتی راهبردی و اقتصادی دارد.

مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، به عنوان اولین و حیاتی‌ترین گام در چرخه حیات گیاه، در شرایط شوری به شدت مختل می‌شود. تنش شوری از دو طریق اصلی مانع از جوانه‌زنی موفق می‌شود: ۱) تنش اسمزی که با کاهش پتانسیل آب خاک، جذب آب توسط بذر را محدود می‌کند و ۲) سمیت یونی ناشی از تجمع بیش از حد یون‌های سدیم (Na^+) و کلر (Cl^-) در سلول‌های رویان (Munns and Tester, 2008). این شرایط در ارقام حساس، منجر به اختلال در فعالیت آنزیم‌های کلیدی مانند آلفا-آمیلاز (مسئول تجزیه نشاسته)، تخریب غشاهای سلولی و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[2]) می‌شود که آسیب اکسیداتیو را به همراه دارد (Zhou *et al*., 2024). در نتیجه، هر راهکاری که بتواند یک سپر محافظ زیستی در اطراف بذر ایجاد کرده و این اثرات مخرب را تعدیل کند، می‌تواند بقا و استقرار ارقام حساس را به‌طور چشمگیری بهبود بخشد.

در سال‌های اخیر، پیش‌تیمار زیستی بذر با ریزجانداران محرک رشد گیاه (PGPR[3]) به عنوان یک استراتژی دفاعی، پایدار و سازگار با محیط زیست، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است (Backer *et al*., 2018). این باکتری‌های مفید با استقرار در ریزوسفر، از طریق مجموعه‌ای از سازوکارهای مستقیم و غیرمستقیم به گیاه کمک می‌کنند. سازوکارهای مستقیم شامل تولید هورمون‌های گیاهی (نظیر اکسین برای توسعه ریشه)، تولید آنزیم ACC دآمیناز برای کاهش سطح اتیلنِ ناشی از تنش و افزایش فراهمی عناصر غذایی (مانند انحلال فسفات) است. سازوکارهای غیرمستقیم نیز شامل تولید سیدروفورها برای جذب آهن و القای مقاومت سیستمیک در گیاه میزبان می‌باشد (Glick, 2012; Ha-Tran *et al*., 2021). با این حال، عمده تحقیقات پیشین بر *تقویت* عملکرد ارقام مقاوم یا متحمل متمرکز بوده‌اند. این شکاف تحقیقاتی وجود دارد که آیا PGPRها قادرند نقش "نجات‌بخش" را برای ارقام حساس ایفا کرده و آن‌ها را در برابر اثرات ویرانگر شوری در مراحل اولیه رشد، به‌طور مؤثری مقاوم سازند یا تأثیری بر مقاومت ارقام به شوری ندارند (Liu *et al*., 2023).

بر این اساس، فرضیه اصلی این پژوهش آن است که پیش‌تیمار بذر گندم رقم حساس قدس با کنسرسیوم‌های باکتریایی منتخب، می‌تواند از طریق سازوکارهایی نظیر بهبود وضعیت آب گیاهچه (تنظیم اسمزی) و تخصیص بهتر زیتوده به اندام‌های رشدی، اثرات منفی شوری را تعدیل کرده و شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشد. لذا، این تحقیق با هدف ارزیابی کارایی و پتانسیل محافظتی پیش‌تیمار زیستی با سه جدایه باکتریایی از جنس‌های آزوسپیریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس (به صورت تکی و ترکیبی)، برای محافظت از جوانه‌زنی و رشد اولیه گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف تنش شوری طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش و مواد گیاهی

این پژوهش در سال ۱۳۹۹به صورت یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی (CRD) با سه تکرار

[1]Yield-Sensitivity Trade-off
[2]Reactive Oxygen Species
[3]Plant growth-promoting rhizobacteria

در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی، در بخش تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور به اجرا درآمد. ماده گیاهی مورد استفاده، بذور گندم نان (*Triticum aestivum* L.) رقم تجاری قدس بود. این رقم یکی از ارقام تجاری گندم بهاره در ایران است که به دلیل پتانسیل عملکرد بالا در شرایط مطلوب شناخته می‌شود. بذور از بانک ژن مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر ایران (کرج) تهیه گردید. دلیل اصلی انتخاب این رقم برای پژوهش حاضر، حساسیت تأیید شده و شناخته‌شده آن به تنش شوری بود که آن را به یک ژنوتیپ ایده‌آل برای ارزیابی پتانسیل محافظتی تیمارهای زیستی در برابر استرس تبدیل می‌کند. انتخاب طرح فاکتوریل نیز با هدف بررسی اثرات اصلی هر عامل (شوری و باکتری) و همچنین مطالعه برهم‌کنش میان آن‌ها صورت گرفت تا مشخص شود چه میزان کارایی باکتری‌ها تحت سطوح مختلف شوری تغییر می‌کند.

عامل اول آزمایش، تنش شوری در سه سطح صفر (آب شهری)، ۶ و ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر بود. این محلول‌ها با حل کردن مقادیر محاسبه‌شده از نمک کلرید سدیم (NaCl) با گرید آزمایشگاهی و خلوص ۹۹%/۹ (محصول شرکت مرک آلمان) در آب مقطر تهیه شدند. هدایت الکتریکی نهایی محلول‌ها با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج (EC-meter) مدل Jenway 4510 که پیش از استفاده کالیبره شده بود، به دقت تنظیم گردید (Zeng et al., 2022). عامل دوم، پیش‌تیمار زیستی در هشت سطح بود. بدین منظور، سه جدایه باکتریایی از جنس‌های شناخته‌شده محرک رشد گیاه بر اساس مکانیسم‌های عملکردی متفاوت و مکمل یکدیگر انتخاب شدند. این جدایه‌ها شامل *Azotobacter chroococcum* (Strain 5) (با توانایی تثبیت نیتروژن)، *Azospirillum brasilense* (Strain OF) (به‌عنوان تولیدکننده اکسین جهت توسعه ریشه) و *Pseudomonas fluorescens* (Strain 169) (با قابلیت انحلال فسفات) بودند. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (بدون تلقیح)، تلقیح منفرد با هر یک از این سه جدایه، و تلقیح‌های ترکیبی دوتایی و سه‌تایی از آن‌ها بود. تمامی جدایه‌ها از بانک زیستی و کلکسیون ریزجانداران مفید مؤسسه تحقیقات خاک و آب تأمین شدند.

آماده‌سازی مایه‌تلقیح و تیمار بذر: برای فعال‌سازی و تکثیر هر جدایه باکتریایی، یک کلنی از کشت خالص آن به محیط کشت مایع اختصاصی خود (محیط N-Free Broth برای ازتوباکتر و آزوسپیریلوم؛ محیط King's B برای *سودوموناس*) منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکردار (۱۵۰ دور در دقیقه) در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جمعیت نهایی سوسپانسیون باکتریایی در فاز لگاریتمی رشد، با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر به چگالی نوری ۰/۸ تنظیم و سپس با روش استاندارد شمارش کلنی از طریق رقت‌سازی متوالی و کشت سطحی[1] تأیید شد تا اطمینان حاصل شود که جمعیت در حدود 10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر (CFU/mL) قرار دارد (Sanders, 2012).

بذور گندم جهت حذف آلودگی‌های قارچی و باکتریایی احتمالی از سطح آن‌ها، تحت یک پروتکل استریلیزاسیون سطحی استاندارد قرار گرفتند. این فرآیند شامل غوطه‌وری در اتانول ۷۰٪ (به عنوان عامل خیس‌کننده و ضدعفونی‌کننده اولیه) به مدت ۱ دقیقه و سپس محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪/۵ (به عنوان یک عامل اکسیدکننده قوی) به مدت ۵ دقیقه بود و در نهایت بذور چندین نوبت با آب مقطر استریل آبکشی شدند تا هرگونه اثر مواد شیمیایی از سطح آن‌ها پاک شود (Bashan *et al.*, 2014). تلقیح از طریق غوطه‌وری بذور استریل به مدت ۳۰ دقیقه در سوسپانسیون باکتریایی انجام گرفت. این زمان برای اتصال مناسب سلول‌های باکتریایی به سطح بذر کافی در نظر گرفته شد.

شرایط آزمایش و اندازه‌گیری صفات: در هر پتری‌دیش استریل به قطر ۹ سانتی‌متر، دو لایه کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرار گرفت و ۲۵ عدد بذر تیمار شده روی آن چیده شد. سپس ۱۵ میلی‌لیتر از محلول شوری مربوط به هر تیمار به صورت یکنواخت به هر پتری‌دیش (شامل ۲۴ تیمار در ۳ تکرار و مجموعاً ۷۲ پتری‌دیش) اضافه گردید. درب پتری‌ها با پارافیلم کاملاً پوشانده شد تا از تبخیر و تغییر غلظت محلول‌ها در طول دوره آزمایش جلوگیری شود. تمام پتری‌ها به صورت تصادفی در یک ژرمیناتور (مدل Binder KB-115, Germany) با دمای ثابت و بهینه ۲۵ ± ۱C° و در شرایط تاریکی مطلق قرار گرفتند (برای حذف اثر متغیر

[1] Serial Dilution and Plate Counting

فتوسنتز و تمرکز صرف بر فرآیند جوانه‌زنی). دوره آزمایش ۱۰ روز به طول انجامید، زیرا در مشاهدات اولیه مشخص شد که پس از این مدت، جوانه‌زنی در تیمارهای شاهد متوقف می‌شود. در پایان دوره، صفات مورفولوژیک شامل طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (با کولیس دیجیتال) و وزن خشک آن‌ها (پس از خشک کردن کامل در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت و با استفاده از ترازوی تحلیلی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های محاسباتی و تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های اولیه برای محاسبه شاخص‌های فیزیولوژیک به کار رفتند. این شاخص‌ها شامل سرعت جوانه‌زنی (GR) بود که با فرمول مگوایر (Maguire, 1962) محاسبه شد و شاخص بنیه گیاهچه (SVI) که بر اساس روش عبدال باکی و اندرسون (Anderson, 1973 and Abdul-Baki) به دست آمد. همچنین، درصد آب گیاهچه (Seedling Water Content) با استفاده از وزن تر و خشک کل گیاهچه (مجموع ریشه‌چه و ساقه‌چه) و از طریق رابطه ۱ زیر محاسبه گردید:

رابطه (۱) درصد آب گیاهچه (٪) = ۱۰۰ × [وزن تر کل / (وزن تر کل - وزن خشک کل)]

در نهایت، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه (R/S Ratio) نیز به عنوان شاخصی از الگوی تخصیص زیتوده در پاسخ به تنش محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R (نسخه ۴/۵) انجام شد. ابتدا، نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک تأیید گردید. سپس داده‌ها تحت تجزیه واریانس دوطرفه[1] قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($P < 0.05$) مقایسه شدند. به منظور ارزیابی جامع روابط بین صفات مختلف و نحوه گروه‌بندی تیمارها، از تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA[2]) نیز استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای شوری و پیش‌تیمار باکتریایی بر تمامی صفات مورد ارزیابی، به استثنای درصد آب گیاهچه تحت تأثیر شوری، در سطح احتمال یک درصد ($P<0.01$) کاملاً معنی‌دار بود. همچنین، برهمکنش شوری × باکتری نیز بر تمام شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده تأثیر معنی‌داری داشت. این برهمکنش برای صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، درصد آب گیاهچه، شاخص بنیه گیاهچه و نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد ($P<0.01$) و برای صفات طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح احتمال پنج درصد ($P<0.05$) معنی‌دار بود. معنی دار بودن برهمکنش‌ها نشان می‌دهد که واکنش رقم گندم قدس به جدایه‌های مختلف باکتریایی، تحت سطوح مختلف تنش شوری، متغیر بوده است. این موضوع لزوم بررسی نتایج مقایسه میانگین‌ها را برای هر سطح شوری به صورت جداگانه توجیه می‌کند. ضریب تغییرات (CV) برای اکثر صفات مقداری کمتر از ۱۰ درصد داشت که نشان‌دهنده دقت مناسب در اجرای آزمایش است.

تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای ارزیابی کلی تیمارها: برای ارزیابی جامع روابط بین صفات و گروه‌بندی تیمارها، تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) انجام شد (شکل ۱). دو مؤلفه اصلی اول (PC1 و PC2) در مجموع ٪۶۴/۹۲ از کل واریانس داده‌ها را تبیین کردند (به ترتیب ٪۲۹/۷۹ برای PC1 و ٪۳۵/۱۳ برای PC2) که نشان‌دهنده کارایی بالای این تحلیل است. بررسی بردارهای ویژه نشان داد که مؤلفه اصلی اول (PC1) همبستگی منفی و قوی با تمام صفات رشدی از جمله طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک کل و شاخص بنیه گیاهچه داشت. این مؤلفه به وضوح تیمارها را بر اساس سطح شوری تفکیک کرد؛ به‌طوری که تیمارهای بدون تنش (با بالاترین مقادیر صفات رشدی) در سمت منفی محور و تیمارهای تحت شوری شدید در سمت مثبت محور قرار گرفتند. مؤلفه اصلی دوم (PC2) که عمدتاً مسئول تفکیک تیمارهای باکتریایی در هر سطح شوری بود، بیشترین همبستگی را با صفاتی نظیر درصد جوانه‌زنی و نسبت طول ریشه به ساقه نشان داد. این

[1]Two-way ANOVA

[2]Principal Component Analysis

جدول ۱- آنالیز واریانس صفات اندازه‌گیری شده در مرحله جوانه‌زنی بذر گندم در رقم قدس

Table 1. Analysis of variance (ANOVA) of measured traits during germination stage in 'Qods' cultivar.

منابع تغییرات Sources of Variation	df	میانگین مربعات Mean Squares										
		درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	شاخص بنیه گیاهچه Seedling Vigor Index	درصد آب گیاهچه Seedling Water Content	وزن خشک ساقه‌چه Dry coleoptile Weight	وزن خشک ریشه‌چه Dry radicle Weight	وزن‌تر ساقه‌چه Coleoptile Fresh Weight	وزن‌تر ریشه چه Fresh radicle Weight	طول ساقه‌چه length of plumule	طول ریشه چه length of radicle	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage
پیش‌تیمار زیستی	7	218**	5811**	0.0197**	0.0418**	2.40**	0.046 **	0.032**	1497**	1168**	0.34**	218**
شوری	2	8078**	183066**	0.0335^{ns}	0.985**	0.074**	9.232 **	0.027**	18967**	37611**	28.73**	8078**
شوری× باکتری	14	33.71**	428**	0.0219**	0.007*	0.016*	0.0178*	0.004*	124.129*	136*	0.04**	33.71**
خطا	48	16.98	2076736	0.0093	0.0035	0.0083	0.0086	0.0067	58.59	65.8	0.01	16.98
ضریب تغییرات		7.97	9.11	13.87	7.82	6.29	6.02	6.66	7.11	7.89	3.84	6.08

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

*, ** significant at P=5 and P=1 levels of probability respectively, ns: not significant

جدول ۲- ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات مختلف جوانه‌زنی و رشد اولیه گندم رقم قدس

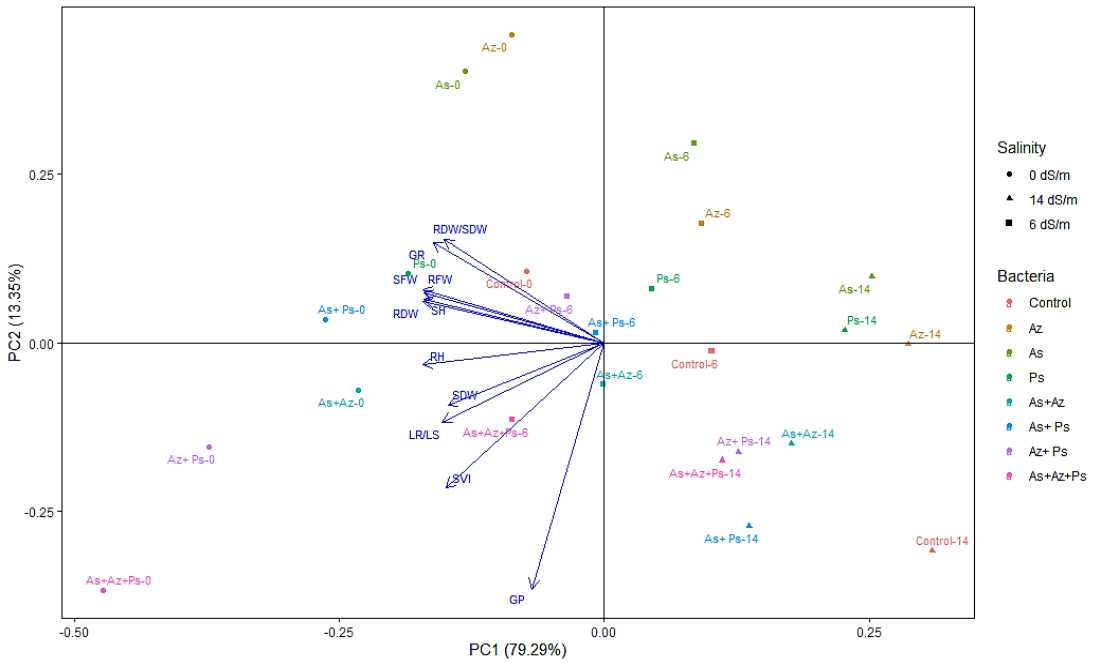
Table 2. Pearson correlation coefficients among different germination and early growth traits of 'Qods' wheat cultivar.

صفت	درصد جوانه‌زنی (GP)	سرعت جوانه‌زنی (GR)	طول ریشه‌چه (RL)	طول ساقه‌چه (SL)	وزن خشک ریشه (RDW)	وزن خشک ساقه‌چه (SDW)	شاخص بنیه (SVI)
GP	1						
GR	0.85***	1					
RL	0.79***	0.91***	1				
SL	0.75***	0.88***	0.95***	1			
RDW	0.77***	0.90***	0.98***	0.94***	1		
SDW	0.73***	0.86***	0.93***	0.97***	0.92***	1	
SVI	0.81***	0.94***	0.99***	0.97***	0.99***	0.96***	1

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

*, ** significant at P=5 and P=1 levels of probability respectively, ns: not significant

(GP: Germination Percentage, GR: Germination Rate, RL: Radicle Length, SL: Coleoptile Length, RDW: Radicle Dry Weight, SDW: Coleoptile Dry Weight, SVI: Seedling Vigor Index)



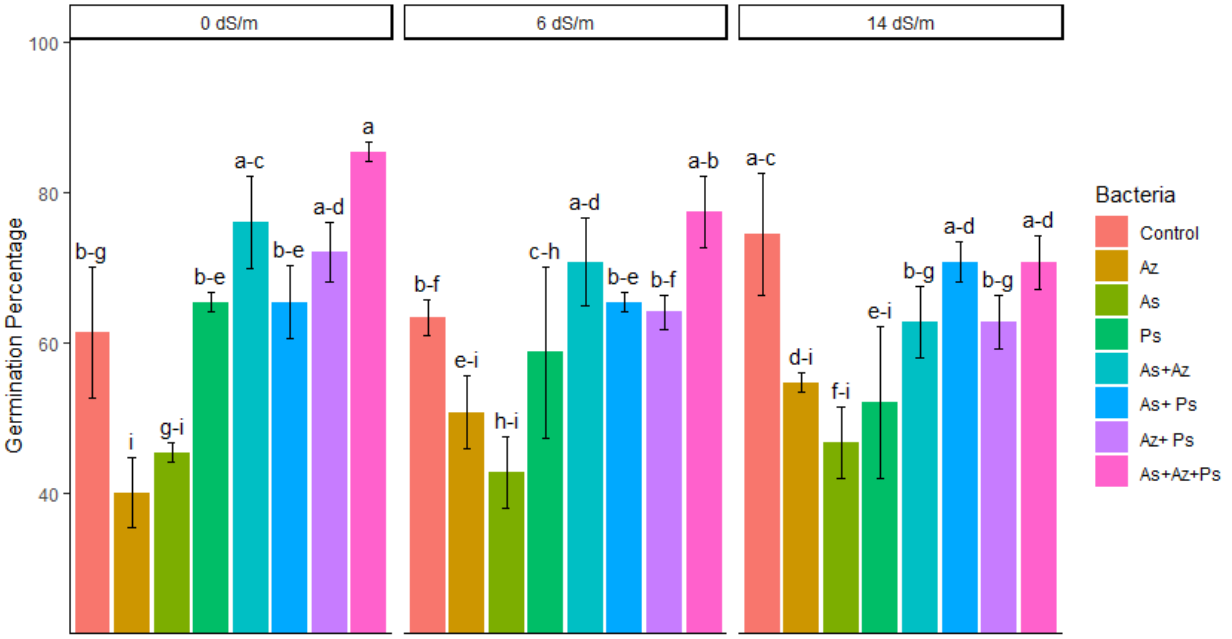
شکل ۱- نمودار تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای نمایش روابط بین صفات اندازه‌گیری‌شده و گروه‌بندی تیمارها. راهنما: شکل‌ها (دایره، مربع و مثلث) به ترتیب نشان‌دهنده سطوح شوری ۰، ۶ و ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر هستند. رنگ‌ها معرف تیمارهای مختلف باکتریایی می‌باشند. بردارهای آبی‌رنگ، صفات مختلف اندازه‌گیری‌شده را نشان می‌دهند. (مخففها: GP: درصد جوانه‌زنی، GR: سرعت جوانه‌زنی، RH: طول ریشه‌چه، SH: طول ساقه‌چه، RFW: وزن تر ریشه‌چه، SFW: وزن تر ساقه‌چه، RDW: وزن خشک ریشه‌چه، SDW: وزن خشک ساقه‌چه، LR/LS: نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه، RDW/SDW: نسبت وزن خشک ریشه‌چه به ساقه‌چه، SVI: شاخص بنیه گیاهچه، Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 1. Principal Component Analysis (PCA) plot showing the relationships between measured traits and the grouping of treatments. Legend: The shapes (circle, square, and triangle) represent salinity levels of 0, 6, and 14 dS/m, respectively. Colors indicate the different bacterial treatments. The blue vectors represent the various measured traits. (Abbreviations: GP: Germination Percentage, GR: Germination Rate, RH: Radicle Length, SH: Coleoptile Length, RFW: Radicle Fresh Weight, SFW: Coleoptile Fresh Weight, RDW: Radicle Dry Weight, SDW: Coleoptile Dry Weight, LR/LS: Radicle to Coleoptile Length Ratio, RDW/SDW: Radicle to Coleoptile Dry Weight Ratio, SVI: Seedling Vigor Index, Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).

امر بیانگر آن ا ست که تیمارهای باکتریایی بی شترین تأثیر خود را بر این صفات خاص اعمال کرده‌اند. قرارگیری تیمار کنسر سیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) در دورترین فا صله از تیمار شاهد (Control) در هر سطح شوری، نشان‌دهنده حداکثر تأثیر مثبت این تیمار بر صفات اندازه‌گیری‌شده است.

در صد جوانه‌زنی: نتایج مقایسه میانگین‌ها برای صفت درصد جوانه‌زنی (شکل ۲) نشان داد که افزایش سطح شوری، اثر بازدارنده و معنی‌داری بر این صفت داشت. با این حال، واکنش تیمارهای باکتریایی در سطوح مختلف شوری، متفاوت بود که این امر تأییدکننده برهمکنش معنی‌دار مشاهده شده در جدول تحلیل واریانس است. در شرایط عدم تنش (حدود صفر دسی زیمنس بر متر)، تیمار ترکیبی سه گانه (As+Az+Ps) با ثبت حدود ۸۷٪، بالاترین درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص داد و از نظر آماری برتری کاملی نسبت به شاهد (۶۲٪) و تیمارهای تلقیح منفرد با Az و As (به ترتیب ۴۰٪ و ۴۵٪) داشت. جالب توجه است که در این شرایط، تلقیح منفرد با Az و As حتی منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد. در شرایط شوری متوسط (۶ دسی زیمنس بر متر)، اگرچه درصد جوانه‌زنی در اکثر تیمارها کاهش یافت، اما تیمارهای ترکیبی Az+Ps و As+Az+Ps توانستند عملکرد بسیار خوبی از خود نشان داده و به همراه شاهد (که در این سطح مقاومت خوبی داشت)، در بالاترین گروه

آماری قرار گیرند. اثر محافظتی باکتری‌ها در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر) بسیار برجسته‌تر بود. در این سطح، تیمارهای تلقیح منفرد و شاهد همگی درصد جوانه‌زنی پایینی را تجربه کردند، در حالی که تیمارهای ترکیبی، به ویژه As+Az، As+Ps و As+Az+Ps، توانستند درصد جوانه‌زنی را در سطح بالای ۷۰٪ حفظ کنند که نشان‌دهنده نقش هم‌افزایی و محافظتی این کنسرسیوم‌ها در شرایط تنش شدید است.

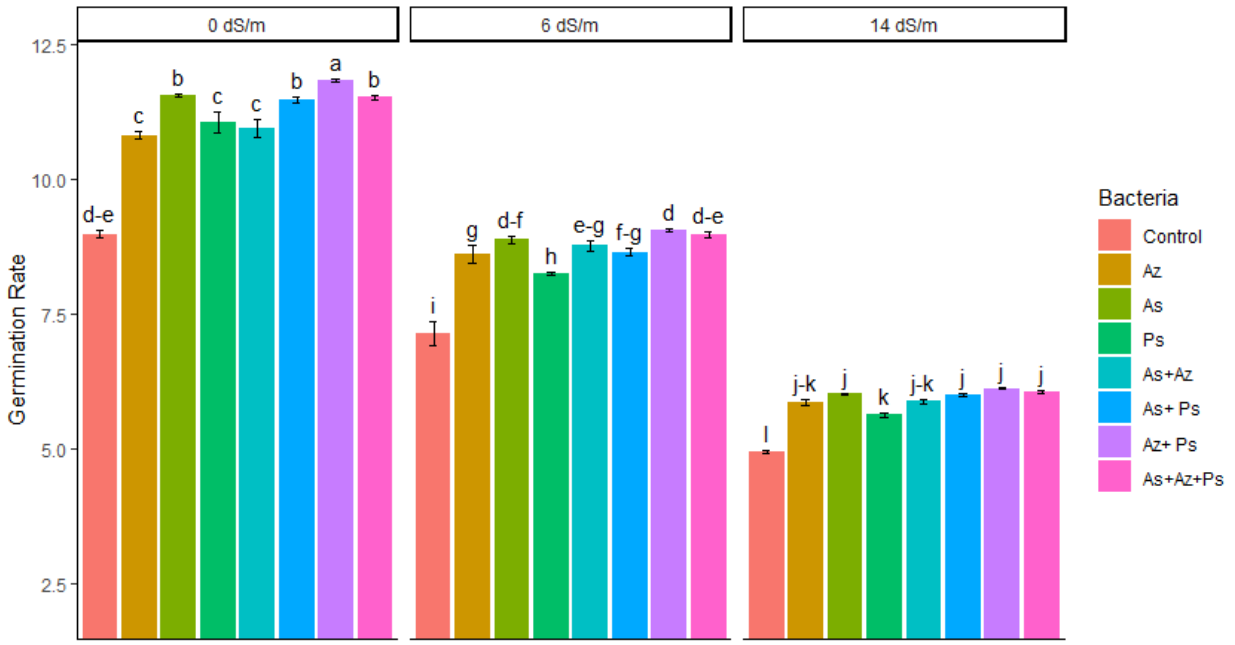


شکل ۲- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر درصد جوانه‌زنی گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخففها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 2- Effect of bacterial bio-priming on the germination percentage of wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).

سرعت جوانه‌زنی: سرعت جوانه‌زنی، به عنوان شاخصی از پویایی استقرار گیاهچه، تحت تأثیر شدید تیمارهای شوری و باکتریایی قرار گرفت (شکل ۳). افزایش شوری از صفر به ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، سرعت جوانه‌زنی را در تیمار شاهد (بدون باکتری) ۴۴ درصد کاهش داد. با این حال، پیش‌تیمار زیستی با باکتری‌ها به‌طور مؤثری این کاهش را جبران کرد. در شرایط عدم تنش، کنسرسیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) با ثبت بالاترین سرعت جوانه‌زنی، عملکردی ۳۳ درصد سریع‌تر از شاهد داشت. اهمیت این اثر در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر) به اوج خود رسید؛ در این سطح، در حالی که سرعت جوانه‌زنی در شاهد به پایین‌ترین حد خود رسید، تیمار ترکیبی سه‌گانه توانست سرعت جوانه‌زنی را ۲۰ درصد نسبت به شاهدِ تحت تنش افزایش دهد. این یافته به‌طور کمی نشان می‌دهد که پیش‌تیمار زیستی، به‌ویژه با کنسرسیوم، نه تنها به بقای بذر کمک می‌کند، بلکه با تسریع معنی‌دار فرآیند جوانه‌زنی، شانس استقرار موفقیت‌آمیز گیاهچه را در شرایط نامساعد اولیه افزایش می‌دهد.

صفات رشدی گیاهچه: طول ریشه‌چه و ساقه‌چه: نتایج مربوط به رشد طولی گیاهچه (شکل ۴) نشان داد که تنش شوری اثر بازدارنده شدیدی بر هر دو اندام ریشه چه و ساقه چه داشت. افزایش شوری به ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه را در تیمار شاهد (بدون باکتری) به‌طور چشمگیری کاهش داد؛ به‌طوری که میانگین طول ساقه‌چه از ۱۰۸ میلی‌متر به ۶۷ میلی‌متر(کاهش ۳۸٪) و میانگین طول ریشه‌چه از ۱۰۶ میلی‌متر به ۶۲ میلی‌متر (کاهش ۴۱٪) رسید. با این حال،

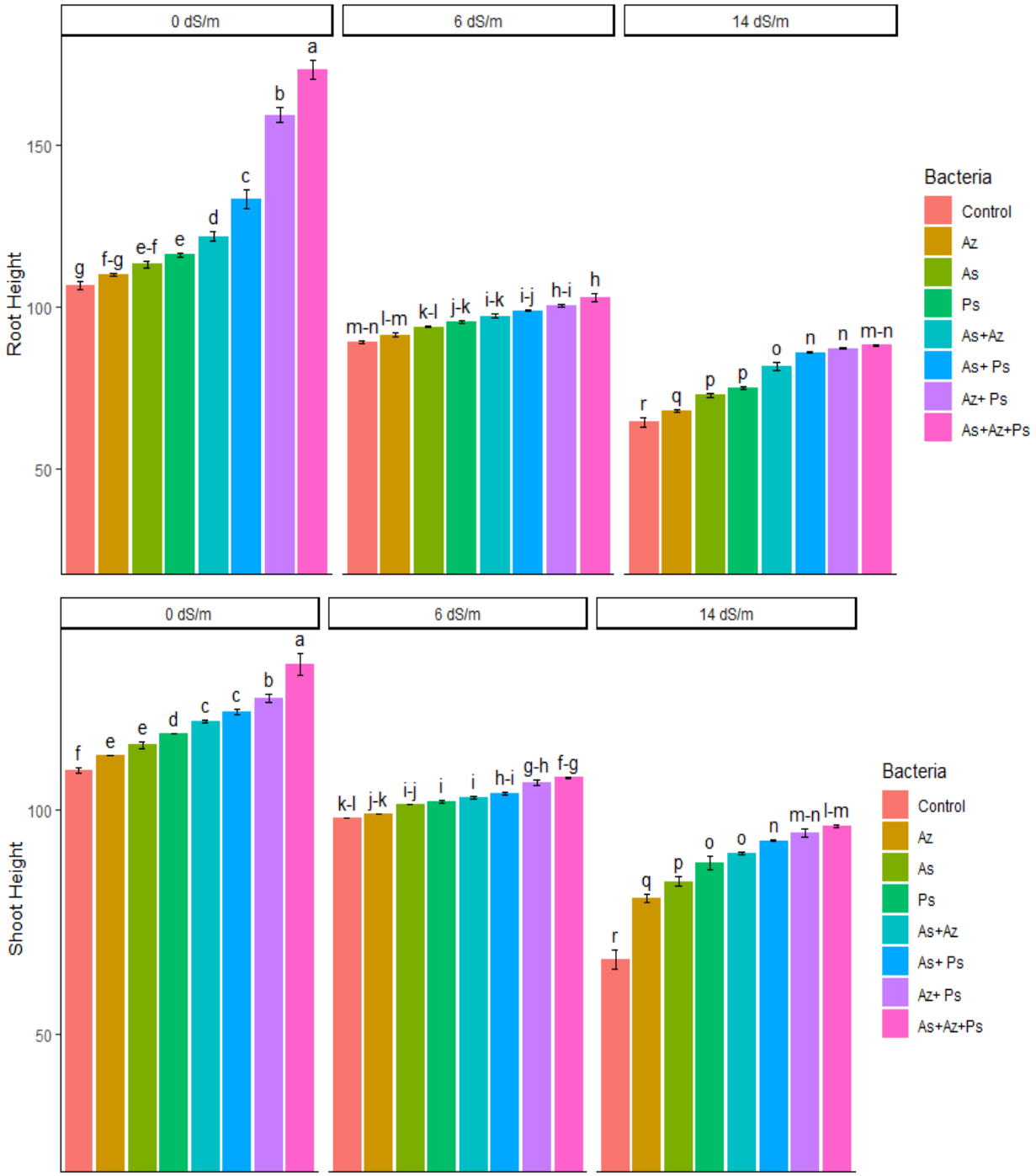


شکل ۳- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر سرعت جوانه‌زنی گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخففها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 3. Effect of bacterial bio-priming on the germination rate of wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).

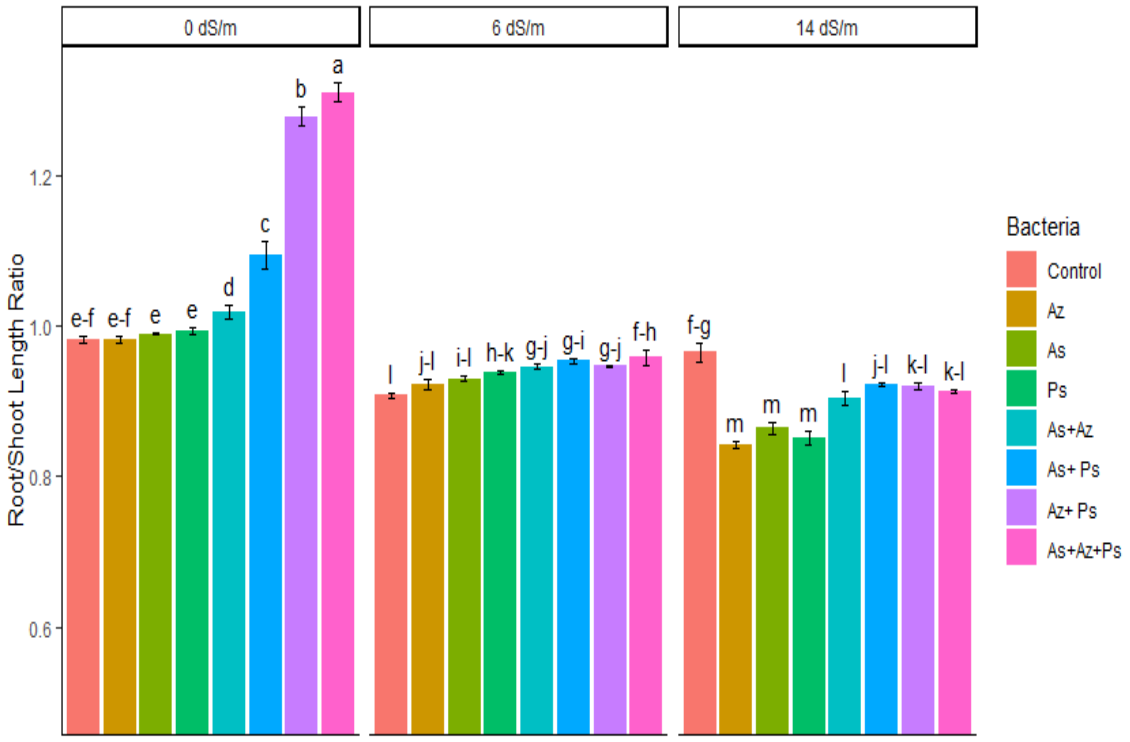
پیش‌تیمار زیستی به‌طور مؤثری این کاهش رشد را جبران کرد. در شرایط عدم تنش، کنسرسیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) با افزایش ۲۳ درصدی طول ساقه‌چه و ۵۹ درصدی طول ریشه‌چه نسبت به شاهد، نقش خود را به عنوان یک محرک رشد قوی اثبات کرد. این اثر محافظتی در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر) به اوج خود رسید؛ در این سطح، در حالی که رشد در شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود، تیمار کنسرسیوم سه‌گانه توانست طول ساقه‌چه را ۴۲٪ و طول ریشه‌چه را ۳۸٪ نسبت به شاهدِ تحت تنش افزایش دهد. این یافته‌ها به‌طور کمی نشان می‌دهد که تلقیح ترکیبی باکتریایی، یک سازوکار دفاعی مؤثر برای حفظ رشد طولی و توسعه گیاهچه در مواجهه با شوری شدید فراهم می‌آورد.

الگوی تخصیص رشد: نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه: بررسی نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه، که نشان‌دهنده الگوی تخصیص منابع گیاه است، نتایج پیچیده‌ای را آشکار ساخت (شکل ۵). برجسته‌ترین نتیجه در شرایط عدم تنش (صفر دسی زیمنس بر متر) مشاهده شد؛ در این شرایط، تیمار کنسرسیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) با ثبت نسبت ۱/۳، این شاخص را ۳۲ درصد نسبت به شاهد (۰/۹۸) افزایش داد. این یافته به‌طور کمی نشان می‌دهد که در شرایط مطلوب، این کنسرسیوم به‌طور فعال، رشد را به سمت توسعه یک سامانه ریشه‌ای قدرتمندتر هدایت می‌کند. با اعمال تنش شوری، این الگوی تخصیص به شدت تغییر کرد و اثر تقویتی تیمارهای ترکیبی بر این نسبت تا حد زیادی از بین رفت. در شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر)، مقادیر در اکثر تیمارها به محدوده نزدیک به ۰/۹ بازگشت. نکته قابل توجه این بود که تلقیح منفرد با Az و As حتی منجر به کاهش این نسبت به ترتیب تا ۱۱ و ۹ درصد در مقایسه با شاهد شدند، در حالی که تیمارهای ترکیبی توانستند این نسبت را در سطحی مشابه شاهد حفظ کنند. این موضوع نشان می‌دهد که استراتژی تخصیص رشد گیاه تحت تأثیر شدید برهم‌کنش شوری و باکتری قرار دارد.



شکل ۴- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر طول ریشه‌چه (شکل بالا) و طول ساقه‌چه (شکل پایین) گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخففها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 4. Effect of bacterial bio-priming on radicle length (upper panel) and coleoptile length (lower panel) of wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).



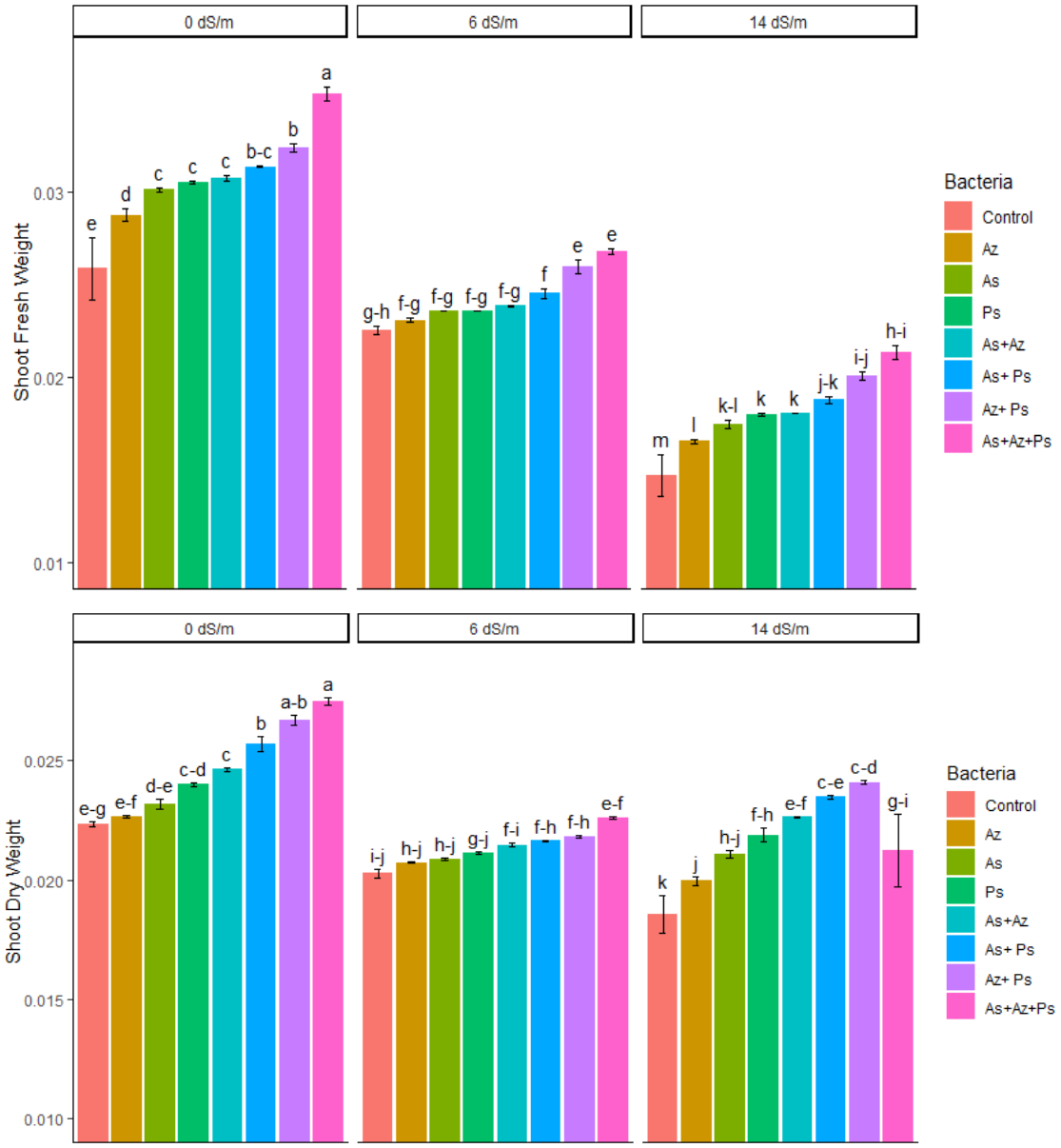
شکل ۵- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخففها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 5. Effect of bacterial bio-priming on the radicle to coleoptile length ratio in wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).

تولید زیست توده اندام هوایی (وزن تر و خشک ساقه‌چه): نتایج مربوط به زیست‌توده اندام هوایی (شکل ۶)، یافته‌های مربوط به رشد طولی را تأیید می‌کند. تنش شوری به‌طور معنی‌داری سبب کاهش تجمع ماده در گیاهچه شد؛ به‌طوری که افزایش شوری به ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، وزن خشک ساقه‌چه را در شاهد (بدون باکتری) حدود ۱۶ درصد کاهش داد. با این حال، پیش‌تیمار زیستی با باکتری‌ها توانست به‌طور مؤثری این اثر بازدارنده را جبران کند. در شرایط عدم تنش، کنسرسیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) با افزایش ۲۴ درصدی وزن خشک ساقه‌چه نسبت به شاهد، نقش خود را به عنوان یک محرک قوی رشد به اثبات رساند. اثر محافظتی این تیمارها در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر) بسیار برجسته‌تر بود. در این سطح، در حالی که زیتوده در شاهد به پایین‌ترین حد خود رسید، تیمار کنسرسیوم سه‌گانه توانست وزن تر و خشک ساقه‌چه را به ترتیب ۵۰ و ۱۶ درصد نسبت به شاهدِ تحت تنش افزایش دهد.

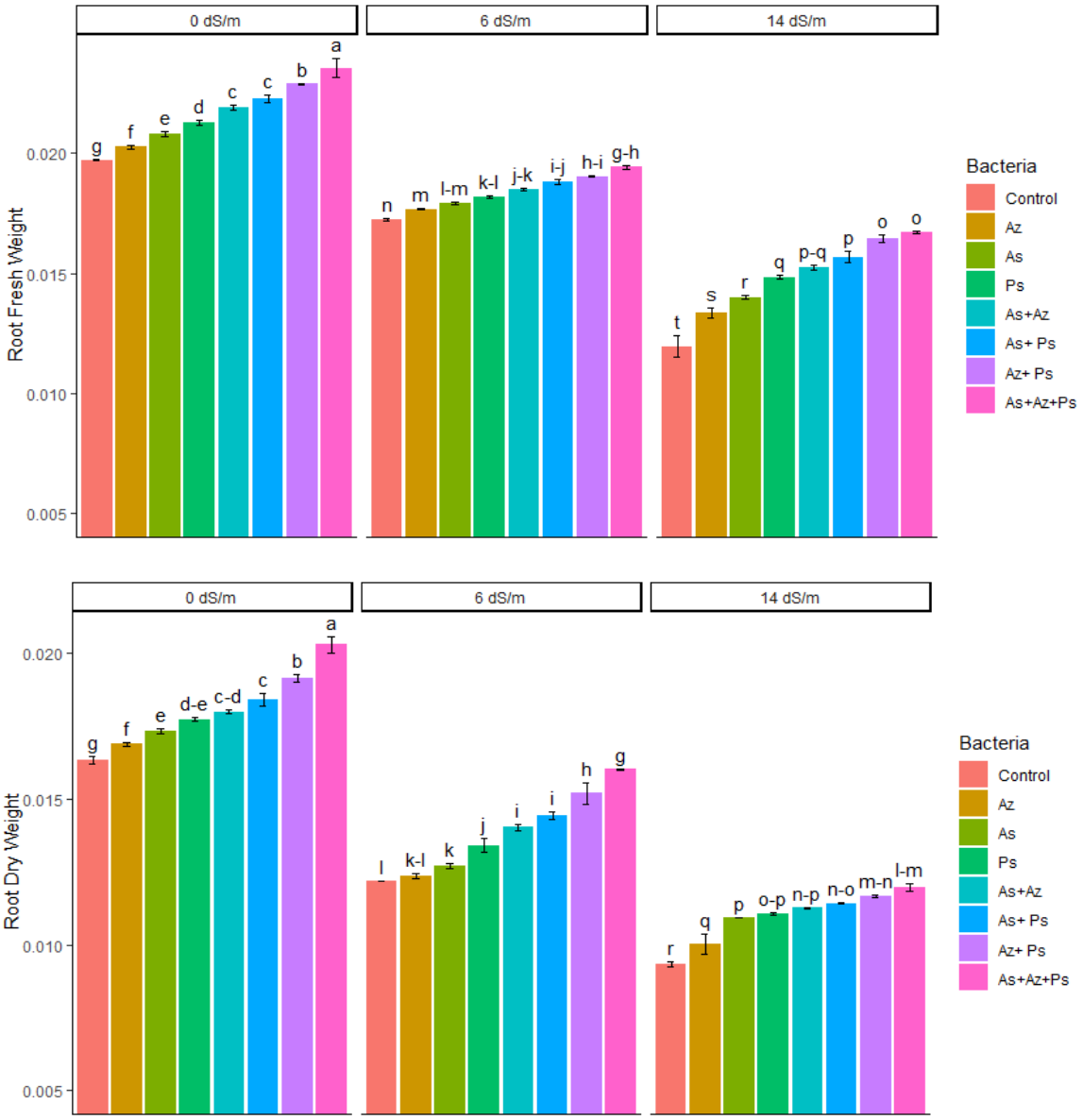
تولید زیست توده اندام زیرزمینی (وزن تر و خشک ریشه‌چه): نتایج مربوط به زیست‌توده ریشه‌چه (شکل ۷)، الگوی مشابهی با سایر صفات رشدی نشان داد. تنش شوری تأثیر منفی شدیدی بر توسعه سامانه ریشه‌ای داشت؛ به‌طوری که افزایش شوری به ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، وزن خشک ریشه‌چه را در شاهد (بدون باکتری) ۴۲ درصد کاهش داد. با این حال، پیش‌تیمار زیستی با باکتری‌ها توانست به‌طور مؤثری این اثر بازدارنده را جبران کند. در شرایط عدم تنش، کنسرسیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) با افزایش ۲۴ درصدی وزن خشک ریشه‌چه نسبت به شاهد، نقش خود را به عنوان یک محرک قوی رشد ریشه به اثبات رساند. اثر محافظتی این تیمارها در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر) بسیار برجسته‌تر بود. در این

سطح، در حالی که زیتوده ریشه در شاهد به پایین‌ترین حد خود رسید، تیمار کنسرسیوم سه‌گانه توانست وزن تر و خشک ریشه‌چه را به ترتیب ۳۷ و ۲۶ درصد نسبت به شاهدِ تحت تنش افزایش دهد. این بهبود چشمگیر در توسعه سامانه ریشه‌ای در شکل ۱۰ به صورت بصری نیز کاملاً قابل مشاهده است. این نتیجه، در کنار نتایج مربوط به افزایش طول ریشه، به‌طور قاطع نشان می‌دهد که این کنسرسیوم باکتریایی به گیاه در توسعه یک سامانه ریشه‌ای قوی‌تر و سنگین‌تر



شکل ۶- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر وزن تر ساقه‌چه (شکل بالا) و وزن خشک ساقه‌چه (شکل پایین) گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخففها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 6. Effect of bacterial bio-priming on coleoptile fresh weight (upper panel) and coleoptile dry weight (lower panel) of wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).



شکل ۷- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر وزن تر ریشه‌چه (نمودار بالا) و وزن خشک ریشه‌چه (نمودار پایین) گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخففها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

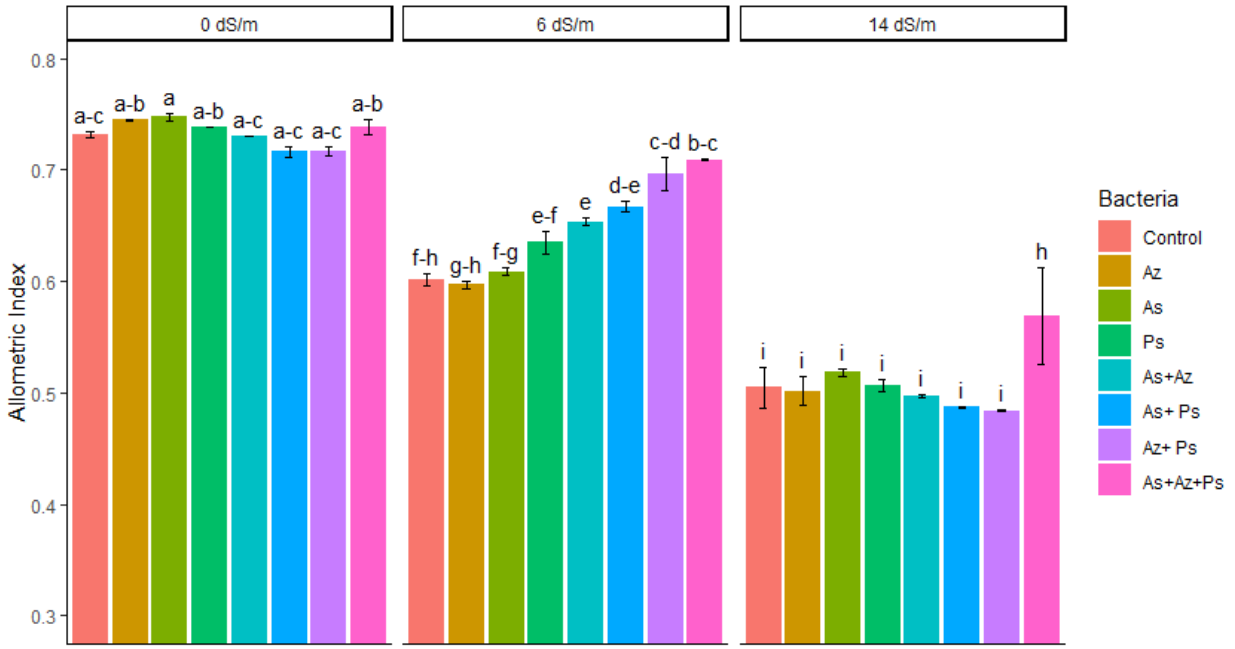
Figure 7. Effect of bacterial bio-priming on radicle fresh weight (upper panel) and radicle dry weight (lower panel) of wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).

کمک می‌کند که برای جذب آب و مواد غذایی در شرایط تنش، یک مزیت حیاتی محسوب می‌شود.

الگوی تخصیص زیست توده: شاخص آلومتری (نسبت وزن خشک ریشه به ساقه): بررسی شاخص آلومتری، اطلاعات مهمی را در مورد استراتژی گیاه در تخصیص زیست‌توده تحت تنش آشکار کرد (شکل ۸).

نتایج نشان داد که در شرایط شوری متوسط (۶ دسی زیمنس بر متر)، تیمار کنسرسیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) با ثبت نسبت ۰/۷۱، این شاخص را ۱۸ در صد نسبت به شاهد (۰/۶) افزایش داد و توانست تخصیص زیست‌توده را بیشتر به سمت ریشه سوق دهد. نکته بسیار جالب و برجسته در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر

متر) مشاهده شد. در این سطح، در حالی که این نسبت در شـــاهد به حدود ۰/۵۱ کاهش یافت و ســـایر تیمارهای باکتریایی نیز در همین گروه آماری قرار گرفتند، تیمار تلقیح منفرد با *ســـودوموناس* (Ps) به تنهایی توانســـت این نسبت را به‌طور معنی‌داری در سطح بالاتری (۰/۵۵) حفظ کند. این یافته منحصربه‌فرد، نشان‌دهنده یک سازوکار ویژه و کارآمد در این جدایه خاص از ســـودوموناس برای تغییر الگوی رشد و سرمایه‌گذاری بیشتر روی سامانه ریشه‌ای در مواجهه با تنش شدید شوری است.

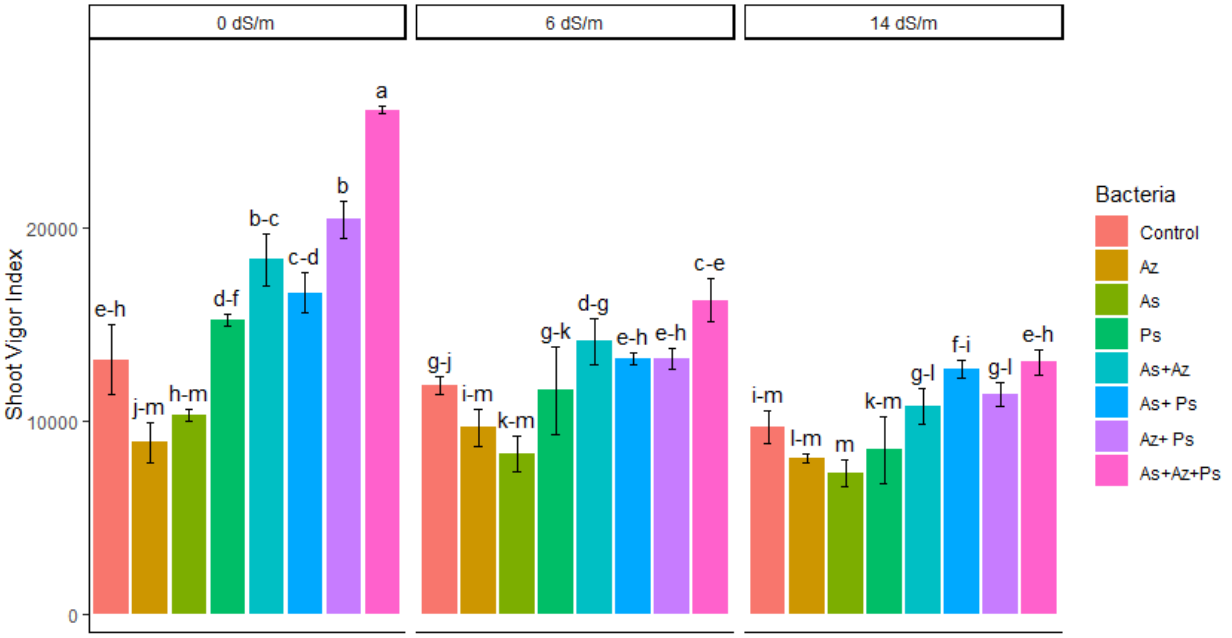


شکل ۸- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر شاخص آلومتری (نسبت وزن خشک ریشه به ساقه) در گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخففها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 8. Effect of bacterial bio-priming on the allometric index (root to shoot dry weight ratio) in wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).

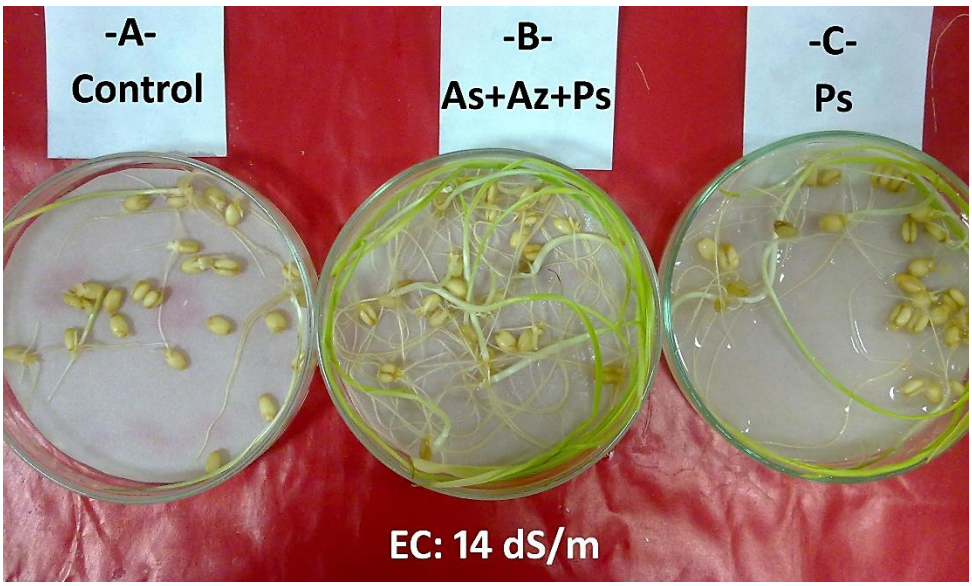
شاخص بنیه گیاهچه

شاخص بنیه گیاهچه، که ترکیبی از درصد جوانه‌زنی و رشد طولی را منعکس می‌کند، به بهترین شکل تأثیر کلی تیمارها را خلاصه نمود (شکل ۹). نتایج به وضوح نشان داد که افزایش شـــوری به ۱۴ دســـی‌زیمنس بر متر، بنیه کلی گیاهچه‌ها را در شـــاهد (بدون باکتری) حدود ۲۷ درصـــد کاهش داد. با این حال، تأثیر چشـــمگیر پیش‌تیمار زیســـتی در تعدیل این اثر منفی، در این شـــاخص به اوج خود رسید. در شرایط عدم تنش، تیمار کنسرسیوم سه‌گانه (As+Az+Ps) با ایجاد یک هم‌افزایی قدرتمند، شـــاخص بنیه را ۸۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. جالب توجه اســـت که در این شـــرایط، تلقیح منفرد با Az و As حتی منجر به کاهش بنیه به ترتیب تا ۲۹ و ۱۹ درصد نسبت به شاهد شد. مهم‌تر از آن، در شرایط شوری شدید (۱۴ دسی زیمنس بر متر)، جایی که بنیه گیاهچه در شـــاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود، تیمار کنســـرســـیوم ســـه‌گانه توانســـت این شـــاخص را به‌طور معنی‌داری تا ۳۲ درصـــد افزایش دهد. این اثر محافظتی و بهبود بنیه کلی گیاهچه در شکل ۱۰ به وضوح قابل مشاهده است و نشان می‌دهد که پیش‌تیمار زیســـتی می‌تواند یک راهکار مؤثر برای تضـــمین اســـتقرار موفقیت‌آمیز گیاهچه در خاک‌های شـــور باشد.



شکل ۹- اثر پیش‌تیمار زیستی باکتریایی بر شاخص بنیه گیاهچه (SVI) در گندم رقم قدس تحت سطوح مختلف شوری. راهنما: ستون‌ها نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه خطای استاندارد می‌باشند. حروفی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند. (مخفف‌ها: Control: شاهد، As: *Azospirillum*، Az: *Azotobacter*، Ps: *Pseudomonas*).

Figure 9. Effect of bacterial bio-priming on the seedling vigor index (SVI) in wheat cultivar 'Qods' under different salinity levels. Legend: Bars represent the mean of three replicates ± standard error. Means sharing a common letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$). (Abbreviations: Control, as: *Azospirillum*, Az: *Azotobacter*, Ps: *Pseudomonas*).



شکل ۱۰- مقایسه بصری اثر محافظتی پیش‌تیمار زیستی بر رشد و بنیه گندم رقم قدس تحت شرایط تنش شوری شدید (۱۴ دسی‌زیمنس بر متر) پس از ۱۰ روز. (A) تیمار شاهد (رشد به شدت محدود)، (B) تلقیح با کنسرسیوم سه‌گانه (بهترین رشد)، (C) تلقیح منفرد با *سودوموناس* (رشد بهبودیافته).

Figure 10. Visual comparison of the protective effect of bio-priming on the growth and vigor of wheat (cv. Qods) under severe salinity stress (14 dS/m) after 10 days .(A) Control (severely inhibited growth), (B) Inoculation with the triple consortium (best growth and vigor), (C) Single inoculation with *Pseudomonas* (improved growth).

همبستگی بین صفات: در آخرین گام از تحلیل نتایج، ماتریس همبستگی پیرسون برهمکنش بین تمامی صفات مورد ارزیابی را آشکار ساخت (جدول ۲). نتایج، همبستگی بسیار قوی، مثبت و معنی‌داری را بین اکثر صفات اصلی رشد (طول، وزن تر و خشک) و شاخص‌های ترکیبی (سرعت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه) تأیید کرد. برای مثال، همبستگی بین شاخص بنیه (SVI) و وزن خشک ریشه (RDW) در تمامی شرایط بسیار بالا بود ($r = 0.989$, *$P<0.001$*)، که نشان می‌دهد این صفات به‌طور هماهنگ به تیمارها پاسخ داده‌اند. نکته بسیار مهم، تأثیر شوری بر این روابط بود. برای نمونه، همبستگی بین درصد جوانه‌زنی (GP) و وزن خشک ریشه (RDW) در شرایط بدون تنش، قوی و مثبت بود ($r = 0.776$)، اما با افزایش شوری به ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر، این ارتباط به شدت تضعیف و غیرمعنی‌دار شد ($r = 0.117$). به‌طور مشابه، همبستگی ضعیف بین درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه (SVI) در شرایط شوری شدید کاملاً از بین رفت و حتی منفی شد ($r = -0.132$). این یافته کلیدی به‌طور کمی نشان می‌دهد که در شرایط تنش شدید، صرفاً موفقیت در جوانه زدن، تضمینی برای رشد و کسب بنیه بالای گیاهچه نیست و این دو فرآیند از یکدیگر مستقل می‌شوند.

نتایج این پژوهش به‌طور قاطع نشان داد که تنش شوری به شدت جوانه‌زنی و رشد اولیه گندم رقم حساس قدس را مختل می‌کند. با این حال، یافته کلیدی این مطالعه، کارایی بالای پیش‌تیمار زیستی بذر با کنسرسیوم باکتریایی به عنوان یک راهکار مؤثر برای تعدیل این اثرات منفی بود. برتری چشمگیر تیمارهای ترکیبی، به‌ویژه کنسرسیوم سه‌گانه، در بهبود اکثر شاخص‌های رشد، فرضیه اصلی تحقیق مبنی بر وجود اثر هم‌افزایی بین این ریزجانداران را تأیید می‌کند. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از یک تیمار ترکیبی می‌تواند یک سپر محافظ زیستی قدرتمند برای بقا و استقرار موفقیت‌آمیز یک رقم حساس در شرایط نامساعد شوری فراهم آورد (Backer *et al.*, 2018).

کاهش چشمگیر تمام شاخص‌های رشد در اثر افزایش شوری، که در این پژوهش مشاهده شد، به دو سازوکار اصلی و شناخته شده بازمی‌گردد: تنش اسمزی و سمیت یونی (Munns and Tester, 2008). در وهله اول، غلظت بالای نمک، پتانسیل آب در محیط ریشه را کاهش داده و توانایی گیاه برای جذب آب را مختل می‌کند که این خود منجر به کاهش رشد طولی و تجمع زیتوده می‌شود. در مرحله بعد، ورود بیش از حد یون‌های سدیم (Na^+) به سلول‌ها، تعادل عناصر غذایی ضروری مانند پتاسیم (K^+) را برهم زده و فعالیت آنزیم‌های حیاتی را مهار می‌کند. این اثرات در یک رقم حساس مانند قدس، که فاقد سازوکارهای ژنتیکی کارآمد برای مقابله با این تنش‌هاست، بسیار شدیدتر بروز کرده و منجر به افت شدید بنیه گیاهچه می‌گردد (Seleiman *et al.*, 2022). در مقابل این اثرات مخرب، عملکرد فوق‌العاده تیمارهای باکتریایی، به ویژه کنسرسیوم سه‌گانه، را می‌توان به تجمیع چندین سازوکار مکمل و هم‌افزا نسبت داد. افزایش چشمگیر طول و وزن ریشه و بهبود نسبت ریشه به ساقه که در نتایج ما مشهود بود، قویاً به تولید فیتوهورمون اکسین توسط باکتری‌هایی نظیر *آزوسپیریلوم* اشاره دارد (Bashan and de-Bashan, 2010). تولید اکسین، گیاه را به توسعه یک سامانه ریشه‌ای گسترده‌تر تحریک می‌کند که توانایی جذب آب و مواد غذایی را در شرایط تنش به شدت افزایش می‌دهد (Ha-Tran *et al.*, 2021). علاوه بر این، بسیاری از سویه‌های *سودوموناس* قادر به تولید آنزیم ACC دآمیناز هستند که با کاهش هورمون استرس (اتیلن) در گیاه، به ریشه اجازه می‌دهد تا حتی در حضور تنش به رشد خود ادامه دهد (Glick, 2014). در کنار این موارد، توانایی ریزجانداران در افزایش فراهمی عناصر غذایی (مانند تثبیت نیتروژن و انحلال فسفات)، یک بسته حمایتی کامل برای تقویت بنیه کلی گیاهچه فراهم می‌آورد (Vessey, 2003).

یکی از یافته‌های جالب توجه در این پژوهش، مشاهده اثر بازدارنده تلقیح منفرد با *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* بر شاخص‌های جوانه‌زنی در شرایط عدم تنش بود. اگرچه این نتیجه در نگاه اول خلاف انتظار است، اما در ادبیات علمی توجیه پذیر است. این پدیده می‌تواند به دو دلیل اصلی رخ دهد: ۱. رقابت اولیه: ممکن است رقابتی بین جمعیت بالای باکتری‌های تلقیح‌شده و بذر برای استفاده از مواد مغذی و انرژی محدود ذخیره‌شده در بذر در مراحل اولیه جوانه‌زنی وجود داشته باشد. ۲. عدم تعادل هورمونی: دلیل محتمل‌تر، تولید بیش از حد هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین توسط این باکتری‌ها (به‌ویژه *آزوسپیریلوم*) است. غلظت‌های بسیار بالای اکسین می‌تواند تعادل هورمونی

لازم برای جوانه‌زنی و رشد اولیه ریشه‌چه را برهم زده و اثر بازدارنده داشته باشد. این پدیده به عنوان اثر "وابسته به دوز" شناخته می شود و نشان می‌دهد که برای هر سویه باکتریایی، یک غلظت بهینه برای تحریک رشد وجود دارد (Glick, 2012). با این حال، همانطور که نتایج نشان داد، با اعمال تنش شوری، مکانیسم‌های محافظتی و محرک رشد این باکتری‌ها فعال شده و اثر مثبت آن‌ها بر اثرات منفی اولیه غلبه می‌کند.

یک یافته بسیار جالب و غیرمنتظره در این پژوهش، عملکرد برتر تلقیح منفرد با *سودوموناس* (Ps) در بهبود شاخص آلومتری (نسبت وزن خشک ریشه به ساقه) تحت شدیدترین سطح شوری بود. در حالی که در اکثر صفات، تیمارهای ترکیبی بهترین عملکرد را داشتند، این نتیجه خاص نشان می‌دهد که جدایه *سودوموناس* مورد استفاده در این تحقیق، احتمالاً دارای یک سازوکار بسیار کارآمد و ویژه برای بقا در شرایط تنش شدید است. این سازوکار می‌تواند تولید مقادیر بسیار بالای آنزیم ACC دآمیناز (Glick, 2014) یا ترشح اگزوپلی‌ساکاریدهای (EPS) خاصی باشد که یک ریزمحیط محافظ در اطراف ریشه ایجاد کرده و به گیاه در تخصیص بهینه منابع به سمت ریشه کمک می‌کند (Morcillo and Manzanera, 2021). این نتیجه، زمینه را برای تحقیقات تکمیلی جهت شناسایی و بهره‌برداری از این سازوکار خاص فراهم می‌آورد. نتایج کلی این مطالعه، مبنی بر تأثیر مثبت PGPR در کاهش اثرات تنش شوری، با یافته های گسترده‌ای از پژوهشگران دیگر هم‌راستاست. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تلقیح گندم با سویه‌های *سودوموناس* و *ازتوباکتر* می‌تواند با بهبود شاخص‌های رشدی، تحمل این گیاه را به شوری افزایش دهد (Nawaz *et al*., 2020; Saghafi *et al*., 2014). همچنین، نقش ویژه *آزوسپیریلوم* در بهبود معماری سامانه ریشه از طریق تولید اکسین، که در این پژوهش نیز با افزایش نسبت ریشه به ساقه مشاهده شد، توسط محققان بسیاری تأیید شده است (Ha-Tran *et al*., 2021). با این حال، نوآوری و اهمیت اصلی این پژوهش در دو جنبه کلیدی قابل تبیین است. نخست، تمرکز ویژه بر یک رقم حساس (قدس). در حالی که اغلب تحقیقات به دنبال تقویت ارقام مقاوم بوده‌اند، مطالعه حاضر نشان داد که PGPRها پتانسیل "نجات" یک ژنوتیپ حساس را در مراحل اولیه و بحرانی رشد دارا هستند. این یافته، چشم‌انداز جدیدی را برای استفاده از پتانسیل عملکردی ارقام پرمحصول ولی حساس در اراضی تحت تنش می‌گشاید. دوم، برتری چشمگیر کنسرسیوم سه‌گانه بر تیمارهای منفرد در اکثر صفات کلیدی. این نتیجه به‌طور تجربی ثابت می‌کند که ترکیب سازوکارهای مختلف (مانند تولید هورمون، تثبیت نیتروژن و کاهش استرس) اثر هم‌افزایی قدرتمندی ایجاد می‌کند که به مراتب از اثر هر باکتری به تنهایی مؤثرتر است. این موضوع اهمیت طراحی کنسرسیوم‌های میکروبی را برای دستیابی به حداکثر مقاومت، برجسته می‌سازد (Backer *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش آزمایشگاهی حاکی از آن است که پیش‌تیمار زیستی بذر با یک کنسرسیوم باکتریایی کارآمد، راهکاری بسیار مؤثر برای تعدیل اثرات شدید تنش شوری بر جوانه‌زنی و استقرار اولیه یک رقم حساس گندم است. این یافته، استفاده از پتانسیل ژنتیکی ارقام پرمحصول ولی حساس را در اراضی شور امکان‌پذیر ساخته و ابزاری پایدار و زیستی را در اختیار کشاورزان قرار می‌دهد تا بتوانند با کاهش مصرف کودهای شیمیایی، به سمت کشاورزی پایدار گام بردارند. برای تکمیل این نتایج، پیشنهاد می‌شود که کارایی این کنسرسیوم در شرایط گلخانه‌ای (آزمایش گلدانی) و در طول فصل رشد بررسی شود و پس از اطمینان از نتایج داده ها و بررسی و سازگاری آن در شرایط مختلف در سطح کوچک در نهایت در شرایط مزرعه‌ای نیز مورد ارزیابی قرار گیرد تا عملکرد آن در شرایط واقعی و پیچیده خاک سنجیده شود. همچنین، مطالعات تکمیلی با تمرکز بر تحلیل‌های بیوشیمیایی و مولکولی، مانند سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (نظیر کاتالاز و پراکسیداز) و بیان ژن‌های مرتبط با تحمل به تنش در گیاه، می‌تواند به درک عمیق‌تر سازوکارهای این برهم‌کنش مفید کمک نماید.

تشکر و قدردانی

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

منابع

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Science, 13(6): 630-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183x001300060027x **(Journal)**

Backer, R., Rokem, J.S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S. and Smith, D.L. 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap [2]to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. Frontiers in Plant Science, 9: 1473. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473 **(Journal)**

Bashan, Y. and de-Bashan, L.E. 2010. Azospirillum. In: Hillel, D. (ed.) The handbook of soil sciences: properties and processes. 2nd edn. Boca Raton: CRC Press, pp. 20-35. **(Book)**

Bashan, Y., de-Bashan, L.E., Prabhu, S.R. and Hernandez, J.P. 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). Plant and Soil, 378(1): 1-33. https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x **(Journal)**

FAO. 2021. The state of food and agriculture 2021: making agrifood systems more resilient to shocks and stresses. Rome: FAO. https://doi.org/10.4060/cb4474en **(Book)**

Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica, 2012: 963401. https://doi.org/10.1155/2012/963401 **(Journal)**

Glick, B.R. 2014. Bacteria that benefit plants by promoting growth. Acta Horticulturae, 1038: 1-13. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1038.1 **(Journal)**

Ha-Tran, D.M., Nguyen, T.T.M., Hung, S.H., Huang, E. and Huang, C.C. 2021. Roles of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in stimulating salinity stress defense in plants: a review. International Journal of Molecular Sciences, 22(6): 3154. https://doi.org/10.3390/ijms22063154 **(Journal)**

Liu, Y., Zhang, Y., Feng, H., Zhu, Y. and Wang, J. 2023. The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop salt tolerance: a review. Frontiers in Plant Science, 14: 1164228. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1164228 **(Journal)**

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, 2(2): 176-177. https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x **(Journal)**

Morcillo, R.J. and Manzanera, M. 2021. The effects of plant-associated bacterial exopolysaccharides on plant abiotic stress tolerance. Metabolites, 11(6): 337. https://doi.org/10.3390/metabo11060337 **(Journal)**

Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911 **(Journal)**

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: 2019. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02019 **(Journal)**

Richards, L.A. (ed.) 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Agriculture Handbook No. 60. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture. **(Book)**

Saghafi, K., Ahmadi, J., Asgharzadeh, A. and Esmaeili-Zadeh, A. 2014. Investigating the effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on growth indices of wheat under salinity stress. Soil Biology Journal, 1(1): 47–59. https://doi.org/10.22092/sbj.2014.106296 **(Journal)**

Sanders, E.R. 2012. Aseptic laboratory techniques: Plating methods. Journal of Visualized Experiments, (63): e3064. https://doi.org/10.3791/3064 **(Journal)**

Seleiman, M.F., Aslam, M.T., Alhammad, B.A., Hassan, M.U., Maqbool, R., Chattha, M.U. and Battaglia, M.L. 2022. Salinity stress in wheat: effects, mechanisms and management strategies. Phyton, 91(4): 747-768. https://doi.org/10.32604/phyton.2022.019553 **(Journal)**

Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255(2): 571-586. https://doi.org/10.2307/4295287 **(Journal)**

Zeng, L., Zhang, Y., Wu, H., Wang, C., Li, Y. and Liu, G. 2022. A simplified method for evaluating salinity tolerance of wheat germplasm at the germination stage. Agronomy, 12(3): 633. https://doi.org/10.3390/agronomy12030633 **(Journal)**

Zhou, H., Shi, H., Yang, Y., Feng, X., Chen, X., Xiao, F., Lin, H. and Guo, Y. 2024. Insights into plant salt stress signaling and tolerance. Journal of Genetics and Genomics, 51(1): 16-34. https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.10.003 **(Journal)**

Impact of bio-priming with a PGPR consortium on germination and early seedling growth of a salt-sensitive wheat cultivar (Qods) under salinity stress

Ahmad Asgharzadeh[1]*, Kobra Saghafi[2], Bahman Khoshru[3], and Mohammad Amin Bagheri[4]

Received: July 27, 2025 Accepted: September 17, 2025

Abstract

Soil salinity severely limits the production potential of high-yielding but sensitive wheat cultivars by compromising the critical stages of germination and seedling establishment. This study was conducted to evaluate the protective potential of seed bio-priming with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), applied individually and in combination, to improve the germination and early growth of the sensitive wheat cultivar 'Qods' under salt stress. For this purpose, a factorial laboratory experiment was conducted in which wheat seeds were bio-primed with eight bacterial treatments (control, single and combined inoculations of three isolates of *Azospirillum*, *Azotobacter*, and *Pseudomonas*) and then subjected to three salinity levels (0, 6, and 14 dS/m). Key germination indices, morphological traits, and biomass accumulation were evaluated. The results showed that under severe salt stress (14 dS/m), while the growth of the control was severely suppressed, bio-priming with the triple bacterial consortium led to a remarkable improvement. Compared to the stressed control, this treatment increased the seedling vigor index by 32.2%, germination rate by 20.42%, coleoptile, and radicle length by 40.51% and 38.14% respectively, and root dry weight by 26.32%. A noteworthy finding was the unique performance of single inoculation with *Pseudomonas* in maintaining the highest root-to-shoot dry weight ratio under severe stress. These findings highlight the potential of using microbial consortia as a bio-ameliorant to enhance resistance and ensure crop establishment in salt-affected agricultural ecosystems.

Keywords: Biomass allocation pattern; Combined treatment; *Pseudomonas*, Salinity stress; Seedling vigor index

How to cite this article

Asgharzadeh, A., Saghafi, K., Khoshru, B. and Bagheri, M.A. 2025. Impact of bio-priming with a PGPR consortium on germination and early seedling growth of a salt-sensitive wheat cultivar (Qods) under salinity stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 12(2): 51-68. (In Persian) **(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2025.9417

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Associate Professor, Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. a_asgharzadeh_2000@yahoo.com
2. Researcher, Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. saghafi.varesh@gmail.com
3. Postdoctoral Researcher, Soil and Water Research Institute (SWRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. bahmankhoshru@yahoo.com
4. Researcher, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran. moaba.ac@gmail.com

*Corresponding author: a_asgharzadeh_2000@yahoo.com