دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"
دوره پنجم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۹۷
http://arpe.gonbad.ac.ir

تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاهی در کاهش اثرات تنش خشکی بر روی گیاه *Astragalus effusus*

زهرا مهمدی کرتلایی[1*]، پژمان طهماسبی[2]، عبدالرزاق دانش شهرکی[3]
[1]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه شهرکرد
[2]دانشیار گروه اکولوژی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه شهرکرد
[3]استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۱۶

چکیده

مقدمه: گیاهان در شرایط طبیعی به‌طور پیوسته تحت تأثیر تنش‌های گوناگونی قرار می‌گیرند و در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران، تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی، از مهم‌ترین عوامل اختلال در مراحل مختلف رشد و نمو گیاهی است. خشکی بر جنبه‌های مختلف رشد گیاه تأثیر دارد و موجب کاهش و به تأخیر انداختن جوانه‌زنی، کاهش اندام‌های هوایی و کاهش تولید ماده خشک در گیاهان مرتعی و زراعی می‌گردد. مصرف باکتری‌های محرک رشد گیاهی (PGPR) جهت تحریک تحمل گیاهان زراعی نسبت به تنش‌های غیرزنده از جمله تنش خشکی به‌عنوان یک استراتژی جذاب توسط محققین زیادی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: این تحقیق جهت بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گونه مرتعی *Astragalus effusus* به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه کشت بذر دانشکده منابع طبیعی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل؛ پرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه *Bacillus amyloliquefaciens*، *Bacillus sp*، *Azotobacter chroocuccum*، *Pseudomonase fragi* و عدم تلقیح با باکتری به‌عنوان شاهد بودند. عامل دوم شامل؛ چهار سطح تنش خشکی (صفر، ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۸- مگاپاسکال) که با استفاده از محلول پلی‌اتیلن

*نویسنده مسئول: zahramohmedi@gmail.com

گلیکول (۶۰۰۰) اعمال شد. پس از اعمال همه‌ی تیمارها بذور تلقیح شده در سه تکرار ۲۰تایی بر روی دو لایه کاغذ صافی واتمن در پتری‌دیش‌های ۸ سانتی‌متری کشت شد. سپس پتریدیش‌ها به دستگاه ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۰ درجه و رطوبت ۶۰ درصد با تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انتقال داده شدند.

نتایج: نتایج به‌دست آمده نشان داد که تیمارهای تلقیح باکتریایی و تیمار تنش خشکی بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، ضریب جوانه‌زنی، وزن خشک ریشه و ساقه و کلروفیل a و b اثر معنی‌داری داشت. سطوح مختلف تنش خشکی باعث کاهش در پارامترهای رشد شد و همچنین باکتری‌های محرک رشد توانستند به جهت دارا بودن صفات محرک رشدی با کاهش اثرات منفی تنش خشکی این فاکتورها را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد بهبود بخشند، به‌طوری که باکتری *باسیلوس* باعث افزایش رشد در وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، ضریب سرعت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی شد. همچنین باکتری *سودوموناس فراژی* نیز توانست متوسط سرعت جوانه‌زنی و کلروفیل a را افزایش دهد و باکتری *ازتوباکتر* نیز کلروفیل b را افزایش داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به این نتایج به منظور بهبود رشد و عملکرد گیاه *Astragalus effusus* تحت تنش خشکی، تلقیح بذر با باکتری‌های *Bacillus amyloliquefaciens* و *Bacillus sp.* پیشنهاد می‌گردد. همچنین می‌توان اظهار داشت که نه تنها در شرایط تنش خشکی می‌توان با کاربرد کودهای بیولوژیک تا حد زیادی رشد و عملکرد این گیاه مرتعی را بهبود بخشید، بلکه استفاده از این باکتری‌ها در شرایط مطلوب نیز می‌تواند، موجب افزایش رشد و عملکرد گردد.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی، کودهای زیستی، گیاهان مرتعی، PGPR

مقدمه

گیاهان در شرایط طبیعی به‌طور پیوسته تحت تأثیر تنش‌های گوناگونی قرار می‌گیرند و در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران، تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی، از مهم‌ترین عوامل اختلال در مراحل مختلف رشد و نمو گیاهی به‌خصوص مرحله جوانه‌زنی است (Akbari *et al*., 2016; Akhavan armaki *et al*., 2013). خشکی بر جنبه‌های مختلف رشد گیاه تأثیر دارد و موجب کاهش و به تأخیر انداختن جوانه‌زنی، کاهش اندام‌های هوایی و کاهش تولید ماده خشک در گیاهان مرتعی و زراعی می‌گردد؛ همچنین می‌توانند حساسیت بیش‌تری نسبت به سایر تنش‌های زیستی یا زیست‌محیطی مانند حمله پاتوژن، یا آلودگی هوا نیز نشان دهند که مانع بهره‌وری گیاه می‌شود. اگر این عامل افزایش یابد، موجب کاهش شدید فتوسنتز و مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد و سرانجام مرگ گیاه می‌شود. در چنین شرایطی، انتخاب گونه‌های گیاهی محتمل به تنش‌های محیطی نظیر خشکی به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی بذر و سبز شدن برای بهره‌برداری از برخی اقلیم‌های

پرتنش در کشور اهمیت زیادی دارد (Bohnert *et al*., 1995; McCue and Hanson, 1990; Ebrahimi *et al*., 2013; Wang *et al*., 2003).

مراتع ایران دارای بانک بذری غنی از ذخایر ژنتیکی می‌باشد که در طول زمان تکامل خود، به این ثروت با ارزش دست یافته است (Massumi, 2006). *Astragalus effusus* گیاهی با ارزش علوفه‌ای بالا از خانواده Leguminosae می‌باشد (Zamani, 2008). در مراتع ایران به‌عنوان گیاهی خوش‌خوراک شناخته‌شده که غنی از مواد مغذی بوده و دارای نقش غیرقابل انکار در تغذیه حیوانات و حفاظت از خاک می‌باشد (Yousefzadeh *et al*., 2010). همچنین فاقد هر گونه ماده سمی است و به همراه گونه‌های مرغوب از خانواده گندمیان هم‌چون *Festuca ovina* و *Bromus tomentellus* در سطح رویشگاه ترکیب بسیار مناسبی را برای علوفه بهاره دام‌ها ایجاد می‌کند (Ahmadi *et al*., 2014). این گونه که به گیاه یونجه طلایی معروف است، گیاهی پایا، علفی، بدون خار می‌باشد (Massumi, 2006). تولید بذر فراوان و تجدید حیات طبیعی آسان از خصوصیات ارزشمند این گونه است. کاشت این گیاهان به‌منظور تولید علوفه با توجه به کیفیت بالای علوفه و مقاومت به خشکی بسیار مفید است. با این وجود، سبز شدن بذر این گیاهان در شرایط طبیعی اغلب با شکست روبه‌رو می‌شود. سبز شدن بذر گونه *Astragalus effusus* در نواحی خشک و نیمه‌خشک به‌شرط قرار گرفتن بذر در شرایط مناسب جوانه‌زنی و عدم وجود تنش‌های محیطی پس از سبز شدن نهال‌های جوان عنوان شده است؛ در نتیجه حفظ و توسعه این گونه می‌تواند نقش بسیار مؤثری در افزایش میزان تولید و ظرفیت دامی داشته باشد (Moghimi, 2006; Moshtaghian *et al*., 2010). در این زمینه قصریانی و همکاران (Ghasriani *et al*., 2016) نیز بیان کردند این گونه به علت خوشخوراک بودن در طول فصل چرا نباید بیش از ۲۵ درصد بهره‌برداری شود زیرا چرای بیش از حد آن موجب کاهش تولید خواهد شد.

کودهای زیستی، منحصراً به مواد آلی حاصل از کودهای دامی، گیاهی و کود سبز اطلاق نمی‌گردد، بلکه باکتری‌ها و قارچ‌ها به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] و مواد حاصل از فعالیت آن‌ها از جمله مهم‌ترین کودهای زیستی محسوب می‌گردد. این باکتری‌ها با توجه به تأثیر افزایندگی بر رشد و نمو گیاهان زراعی اصطلاحاً باکتری محرک عملکرد نامیده می‌شوند (Manaffee and Klopper, 1994; Vessy, 2003). به‌کارگیری پرایمینگ و فناوری تسریع جوانه‌زنی چندین سال است که به‌منظور بهبود جوانه‌زنی به‌طور وسیع استفاده می‌شود. پرایمینگ در حال حاضر به‌عنوان ابزار تجاری گسترده برای کمک به استقرار محصولات در یک دامنه شرایط محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

[1] Plant Growth Promoting Rhizobacteria

هدف اصلی فناوری پرایمینگ بذر، بهبود کارایی بذر، افزایش درصد جوانه‌زنی، افزایش سرعت جوانه‌زنی و همچنین جوانه‌زنی در شرایط خاص و اصلاح بنیه و رشد گیاهچه می‌باشد (Copeland and McDonald, 2012). این گروه از باکتری‌ها به‌طور طبیعی در خاک وجود دارند؛ اما تعداد و تراکم آن‌ها در خاک پایین می‌باشد، بنابراین در صورت تلقیح بذر گیاه با این باکتری‌ها جمعیت آن‌ها به حد مطلوب رسیده و در نتیجه منجر به تأثیر مثبت آن‌ها در خاک می‌شود (Cakmakci *et al*., 2007). از میان این باکتری‌ها *آزوسپریلیوم*[1]، *ازتوباکتر*[2] و *سودوموناس* به دلیل توانایی در برقراری ارتباط با گیاهان مهم زراعی از اهمیت بیش‌تری برخوردار می‌باشند (Mishra *et al*., 1998). PGPR یک گروه متفاوت از باکتری‌ها می‌باشند که طیف وسیعی از آنزیم‌ها و متابولیت‌ها را تولید می‌کنند، همچنین مؤثر بر مواد مغذی، متعادل کردن سطح هورمون و بهبود اثرات منفی از عوامل تنش زیستی و بیوسیستمی نیز می‌باشند (Hartmann *et al*., Rudrappa *et al*., 2008; Kloepper, 1980; Ahemad and Kibret, Beneduzi *et al*., 2012; Lugtenberg and Kamilova, 2009; 2009; Ngumbi and Kloepper, 2016; 2014;).

کاربرد باکتری‌های PGPR جهت تحریک تحمل گیاهان زراعی نسبت به تنش‌های غیرزنده از جمله تنش خشکی به‌عنوان یک استراتژی جذاب توسط محققین زیادی مورد بررسی قرارگرفته است (Rejeb *et al*., 2014; Kasim *et al*., 2013; Dimkpa *et al*., 2009). در بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و مقاومت به تنش خشکی در گونه فستوکای پابلند (*Festuca arundinacea Schreb*) نتایج نشان داد هر دو نوع ریزوباکترهای *آزوسپریلیوم* و *ازتوباکتر* سبب افزایش عملکرد نسبت به شاهد و افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی شدند (Radnezhad *et al*., 2017). لئو (Liu, 2017) گزارش کرد باکتری‌های محرک رشد، مقاومت در برابر خشکی در گیاهان *Arabidopsis* sp. و *Glycive max* را افزایش دادند.

کسیم و همکاران (Kasim *et al*., 2013) در تحقیقی به‌عنوان کنترل تنش خشکی در گندم با استفاده از باکتری‌های محرک رشد دریافتند که تلقیح باکتریایی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای میزان آسیب حاصل از تنش خشکی را در گیاه گندم کاهش داد. انصاری و همکاران (Ansari *et al*., 2016) اظهار داشتند که صفات مورد ارزیابی در گیاه ذرت تحت تیمار تلقیح بذر با میکروارگانیسم‌های سودوموناس در شرایط تنش شدید کم‌آبی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از شرایط معمولی آبیاری و شرایط متوسط تنش کم‌آبی بود. همچنین براساس یافته‌های انجاوی و همکاران (Enjavi *et al*., 2015) استفاده از

[1] *Azospirillum*
[2] *Azotobacter*

باکتری‌های محرک رشد نقش قابل‌توجهی در افزایش رشد ریشه گیاهان دارد، همچنین با افزایش در رشد ریشه گیاهان سایر عملکردهای گیاهی نیز به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرند.

از آنجایی که تنش خشکی یکی از محدودیت‌های مهم در تولید گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک است و با توجه به این که در صورت تداوم شرایط کنونی در سال‌های آینده دسترسی به آب در کشاورزی کمتر هم خواهد شد، به‌کارگیری تیمارهای بیولوژیک ضمن بهبود ویژگی‌های فیزیکی و بیولوژیکی خاک باعث صرفه‌جویی در مصرف آب شده و ضمن حفظ محیط‌زیست از کودهای شیمیایی، منجر به حصول عملکرد کمی و کیفی در گیاه *Astragalus effusus* خواهد گردید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه شهرکرد در بخش آزمایشگاهی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار طراحی و اجرا شد. به‌منظور اجرای این پژوهش، بذور از منطقه ایستگاه خرگوش در کنار سد زاینده‌رود در اوایل تابستان از گیاهان خودرو جمع‌آوری شد. قبل از شروع آزمایش، بذور جمع‌آوری‌شده در آزمایشگاه از مواد خارجی، بذرهای نرسیده، پوک و شکسته جدا شده و تا زمان آزمایش در ظروف پلاستیکی در بسته در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Moshtaghian *et al*., 2010; Keshtkar *et al*., 2008)؛ سپس، ابتدا بذور چهار مرتبه توسط آب مقطر شستشو شد، پس از آن با استفاده از محلول هیپوکلریت چهار درصد به‌مدت پنج دقیقه ضدعفونی گردید. سپس مجدداً چهار مرتبه با آب مقطر شستشو شده و سپس با استفاده از الکل ۷۰ درصد به مدت ۱۰ ثانیه ضدعفونی و آبکشی شدند و سپس تیمارهای شکست خواب بر روی بذور اعمال گردید (Keshtkar *et al*., 2008). از آنجایی که بذور آستراگالوس به علت داشتن پوسته سخت دارای خواب می‌باشند، برای انجام آزمایش‌های مربوط به شکست خواب از تیمار خراش‌دهی مکانیکی با سمباده برای این گونه (Abedini, 2016) در آزمایشگاه استفاده شد.

در این بخش به‌منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد گیاهی، از پنج سطح بیوپرایم شامل عدم تلقیح باکتریایی (شاهد)، *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus sp*، *Bacillus amyloliquefaciens* و *Pseudomonase fragi* که ریزوباکترهای یک و دو از آزمایشگاه دانشکده کشاورزی، ریزوباکتر سه از بانک میکروب ایران و ریزوباکتر چهار از دانشکده علوم پایه تهیه گردیدند و عامل دوم شامل چهار سطح خشکی (صفر، ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۸- مگاپاسکال) مطابق دستور میچل و کافمن تهیه گردید که با استفاده از محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ تهیه شد. بذور استریل شده به مدت یک ساعت در دمای اتاق، در آب مقطر (برای تیمار شاهد) یا سوسپانسیون باکتریایی (برای تیمارهای تلقیحی) که میزان جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر برای دستیابی به تراکم مایه‌ی تلقیح

$۱۰^{۸}$ × ۵ واحد تشکیل‌دهنده کلونی (CFU) بر میلی‌لیتر روی ۰/۵ تنظیم گردید بود، فرو برده شدند (Burd *et al*., 1998).

پس از اعمال همه‌ی تیمارها بذور تلقیح شده در سه تکرار ۲۰تایی بر روی دو لایه کاغذ صافی واتمن در پتری‌دیش‌های ۸ سانتی‌متری کشت شدند. سپس پتریدیش‌ها به دستگاه ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۰ درجه و رطوبت ۶۰ درصد با تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انتقال داده شدند. پس از بازدیدهای روزانه از ظروف پتری‌دیش، شمارش و ثبت بذرهای جوانه‌زده انجام گرفت و خروج ریشه‌چه به طول دو میلی‌متر به‌عنوان معیار بذر جوانه‌زده در نظر گرفته شد (ISTA). سپس درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی طبق فرمول‌های زیر محاسبه شدند.

$$GR = \sum Gt/Dt$$ رابطه ۱

$$MGT = \sum (Gt \times Tt)/\sum Gt$$ رابطه ۲

$$CVG = \sum Gt/\sum (Gt/Tt)$$ رابطه ۳

در این فرمول‌ها، MGT: متوسط زمان جوانه‌زنی، CVG: ضریب سرعت جوانه‌زنی، GR: سرعت جوانه‌زنی، Gt: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز tام، Dt: تعداد روزهای پس از کاشت و Tt: زمان متناظر برای Gt در روزها می‌باشد (Kalsa and Abebie, Ya-jing *et al*., 2009; Baiyeri *et al*., 2011; 2012).

پس از اتمام آزمون جوانه‌زنی شاخص‌هایی از قبیل وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و میزان کلروفیل a و b نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری میزان غلظت کلروفیل برگ، از روش پیشنهادی ولبورن (Wellburn, 1994) استفاده شد.

Chlorophyll a= [12.7 (D663) – 2.59 (D645)]*[V/W*1000] رابطه ۴

Chlorophyll b = [22.9 (D645) – 4.69 (D663)]*[V/W*1000] رابطه ۵

در این روابط، D663: مقدار جذب نوری در طول‌موج ۶۶۳ نانومتر، D645: مقدار جذب نوری در طول موج ۶۴۵ نانومتر، D480: مقدار جذب نوری در طول‌موج ۴۸۰ نانومتر، V: حجم نهایی نمونه و W: وزن نمونه تازه برگ بر حسب گرم می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. همچنین برای مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل از برش‌دهی و برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی: تیمار باکتریایی، سطوح تنش و اثر متقابل تلقیح باکتریایی و تنش خشکی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی میزان متغیر درصد جوانه¬زنی داشت (جدول ۱). در مقایسه میانگین تیمار باکتریایی، باکتری *Pseudomonase fragi*، *Bacillus sp*، *Bacillus amyloliquefaciens* بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی را داشتند که این تیمارهای تلقیح باکتریایی نسبت به یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (شکل ۱). همچنین در شرایط تنش خشکی مقایسه سطوح تنش حاکی از آن بود که باکتری¬های مورد بررسی در تخفیف اثرات منفی تنش بر کاهش درصد جوانه‌زنی مؤثر بودند و کارایی یکسانی نداشتند به‌طوری‌که باکتری *Bacillus sp* تأثیر منفی تنش را نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) تا ۱/۶ درصد کاهش داد. در بررسی تأثیر باکتری‌های بومی محرک رشد گیاه، بر گیاهان در شرایط خشکسالی نتایج نشان داد سویه IAM 12077 باعث تأثیر مثبت بر رشد و تغذیه گیاه در شرایط خشکسالی شد. این سویه توانایی سه گونه گیاهی مورد آزمایش را برای جذب مواد مغذی از خاک بهبود بخشید و باعث افزایش جوانه‌زنی گونه L *dentate* (۶۵/۸ درصد) شد (Elisabeth Armada *et al*., 2018). باکتری‌های محرک رشد گیاهی علاوه بر تولید هورمون‌های محرک رشد گیاهی مثل اکسین، در شرایط تنش از طریق تولید هورمون‌هایی مثل ABA باعث تخفیف تنش نیز می‌شوند (Saharan and Nehra, 2011). از مزایای تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد، می‌توان افزایش شاخص¬های متعددی مانند سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، محتوای کلروفیل و مقاومت به خشکی را نام برد (Lucy *et al*., 2004).

سرعت جوانه‌زنی: اثر تیمارهای نوع باکتری و اثر سطوح تنش خشکی بر متغیر سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار و اثر متقابل بین تیمار نوع باکتری و سطوح تنش خشکی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسات میانگین تیمارهای تلقیح باکتریایی نشان داد همه‌ی باکتری‌ها باعث افزایش ۷۵ درصدی سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد (بدون باکتری) شدند که این تیمارهای تلقیح باکتریایی نسبت به یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بودند. همچنین به‌طورکلی در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش (شاهد) سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت. درحالی‌که باکتری‌ها با تعدیل اثر تنش خشکی توانستند میزان سرعت جوانه‌زنی را نسبت به شاهد باکتریایی افزایش دهند. از بین تیمارهای باکتریایی *Bacillus amyloliquefaciens* با ۱/۱۵ درصد، اثر منفی تنش خشکی را نسبت به شاهد (بدون باکتری) کاهش داد (شکل ۲). مشخص شده سرعت جوانه‌زنی گیاهچه ذرت در تلقیح با باکتری‌های محرک رشد افزایش می‌یابد(Seyed sharifi and Khavazi, 2012). همچنین در گزارشی دیگر استفاده از باکتری‌های محرک رشد در گیاهان دارویی گل ختمی و خردل نیز باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد (Golpayeghani *et al*., 2010).

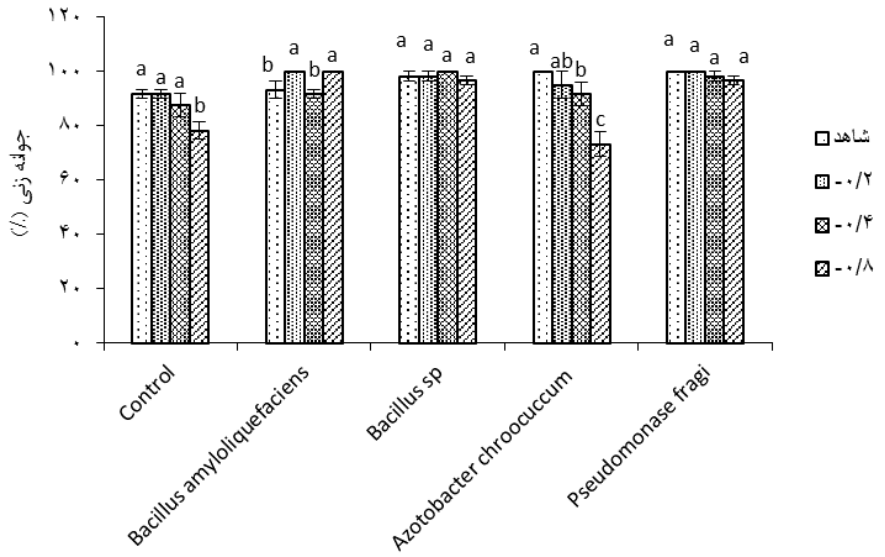
جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تلقیح باکتریایی و تنش خشکی بر صفات مورد مطالعه گیاه *Astragalus effusus*

Table 1- Analysis of variance (MS) of bacterial inoculation and drought stress on studies properties of *Astragalus effuses*

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination Time	ضریب سرعت جوانه‌زنی Germination rate coefficient
تکرار Replications	2	0.526^{ns}	0.937	0.188^{ns}	8.279^{ns}
تنش خشکی Drought stress (D)	3	8.658^{**}	205.381^{**}	0.905^{**}	54.560^{**}
تیمار باکتریایی Bacterial treatment (B)	4	22.366^{**}	321.979^{**}	5.480^{**}	275.221^{**}
تیمار باکتری × تنش خشکی B × D	12	0.883^{*}	97.395^{**}	0.219^{*}	6.706^{ns}
خطا Error	38	0.424	20.016	0.084	4.767
ضریب تغییرات CV (%)		9.872	4.753	8.125	7.487

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

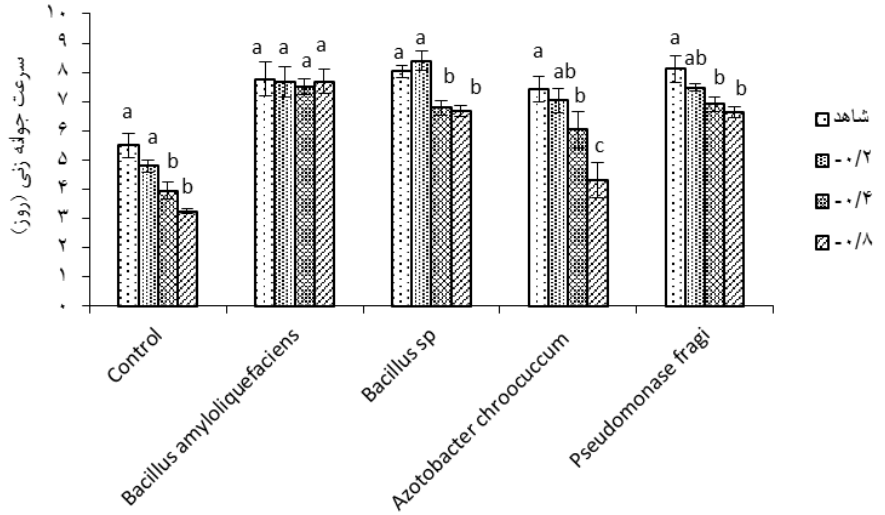
ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.



شکل ۱- اثر تیمارهای باکتریایی بر درصد جوانه‌زنی بذور *A. effusus* تحت شرایط تنش خشکی

Figure 1- Effect of bacterial treatments on germination percentage of *A. effusus* seeds under drought stress conditions

(Means in each column followed by the similar letters are not significantly different at 5% of probability level)

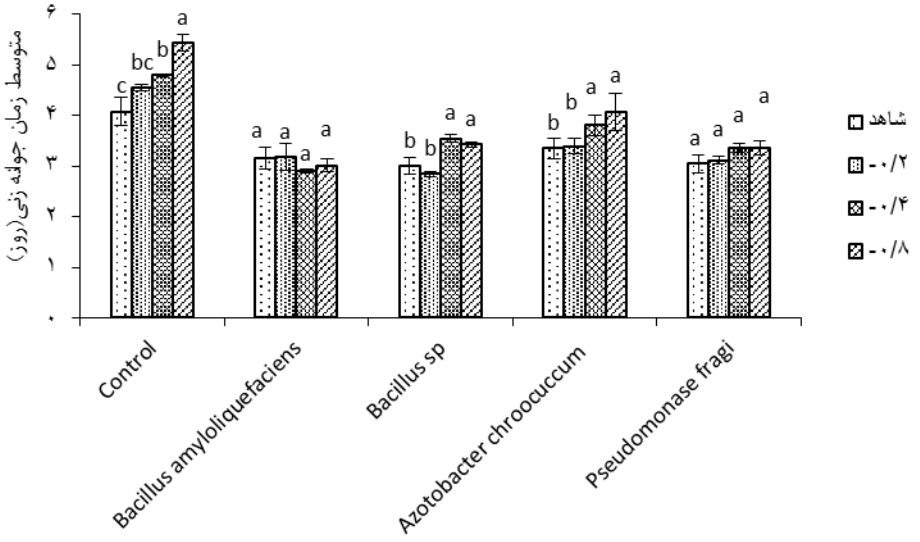


شکل ۲- اثر تیمارهای باکتریایی بر سرعت جوانه‌زنی بذور *A. effusus* تحت شرایط تنش خشکی

Figure 2- Effect of bacterial treatments on germination rate of *A. effusus* seeds under drought stress conditions

(Means in each column followed by the similar letters are not significantly different at 5% of probability level)

متوسط زمان جوانه‌زنی: اثر تیمارهای نوع باکتری و اثر سطوح تنش خشکی بر متغیر سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل بین تیمار نوع باکتری و سطوح تنش خشکی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کم‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی مربوط به تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus amyloliquefaciens*، *Bacillus* sp، *Pseudomonase fragi* بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. همچنین مقایسه میانگین سطوح تنش خشکی گویای آن بود که با افزایش شدت تنش متوسط، زمان جوانه‌زنی افزایش یافت. بررسی اثرات متقابل تنش خشکی و تیمار تلقیح باکتریایی نشان داد که متوسط زمان جوانه‌زنی در شرایط عدم تلقیح باکتری، با افزایش ۳۳/۲۸ درصدی نسبت به شاهد (بدون تنش) روبرو شد. درحالی‌که تیمار باکتریایی *Pseudomonase fragi* توانست این روند افزایشی را به ۱۰/۰۹ درصد کاهش دهد (شکل ۳). نتایج مطالعات طرفی (Torfi, 2015) نیز نشان داد که تیمار باکتریایی، متوسط زمان جوانه‌زنی بذر گیاه بادرشبو را تا ۲۳ درصد افزایش داد. باکتری‌های *باسیلوس* و *سودوموناس* حل‌کننده فسفات می‌باشند. این باکتری‌ها با روش‌هایی چون قابلیت دسترسی به عناصر غذایی مانند آهن و تولید مواد محرک رشد، عملکرد و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند که زمان جوانه‌زنی نیز جزئی از آن می‌باشد (Nezarat and Gholami, 2009).



شکل ۳- اثر تیمارهای باکتریایی بر متوسط زمان جوانه‌زنی بذور *A. effusus* تحت شرایط تنش خشکی

Figure 3- Effect of bacterial treatments on average germination time of *A. effusus* seeds under drought stress

(Means in each column followed by the similar letters are not significantly different at 5% of probability level)

ضریب سرعت جوانه‌زنی: ضریب سرعت جوانه‌زنی بذور در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی و سطوح تنش خشکی قرار گرفت. با این وجود، اثر متقابل بین تیمار نوع باکتری و سطوح تنش خشکی بر میانگین سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد همه‌ی تیمارهایی باکتریایی نسبت به شاهد، ضریب سرعت جوانه‌زنی را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. از بین تیمارهای تلقیح باکتریایی، تیمار *Bacillus amyloliquefaciens* بیشترین ضریب سرعت جوانه‌زنی را با نسبت ۳۳/۸۳ درصد نسبت به تیمار شاهد به خود اختصاص داد. مقایسه سطوح تنش خشکی حاکی از آن بود که در تیمارهای شاهدو تنش ۰/۲- مگاپاسکال به ترتیب با میانگین ۳۰/۹۳ و ۳۰/۶۳ ضریب سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت، درحالی‌که در سطوح تنش بالا (۰/۴ و ۰/۸- مگاپاسکال) ضریب سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت (جدول ۲). طرفی (Torfi, 2015)، نیز افزایش ۳۰/۱ درصدی ضریب سرعت جوانه¬زنی بذور بادرشبو به‌وسیله تلقیح با باکتری *باسیلوس* را گزارش داد. همچنین در گزارشی دیگر افزایش ۳۲/۵ درصدی میزان ضریب سرعت جوانه‌زنی توسط باکتری محرک رشد *باسیلوس* در بذور گیاه همیشه‌بهار مشاهده شد (Sheykhi ghahfarokhi, 2015).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر ضریب سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه

Table 2- Comparison of the main effects of drought stress and bacterial inoculation on germination rate, shoot dry weight and root dry weight

تیمارها Treatments	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Stem dry weight	ضریب سرعت جوانه‌زنی Germination rate coefficient
Drought strees			
control	0.014a	0.009a	30.930a
-0.2	0.013b	0.008b	30.630a
-0.4	0.011c	0.007c	27.940b
-0.8	0.008d	0.007c	27.130b
Bacterial			
control	0.009d	0.005c	21.500d
B. amyloliquefaciens	0.013b	0.009a	33.830a
B. sp	0.014a	0.008ab	31.490b
A. chroocuccum	0.011c	0.007b	27.770c
P. fragi	0.0119c	0.008ab	31.200b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک می‌باشند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column fallowed by similar letters are not significantly different at the %5 probability level (LSD Test).

وزن خشک ریشه‌چه: اعمال تیمارهای تلقیحی مختلف باکتری و اثر سطوح تنش خشکی اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر وزن خشک ریشه‌چه داشتند؛ ولی اثر متقابل بین سطوح تنش خشکی و تیمار نوع باکتری بر وزن خشک ریشه‌چه معنی‌دار نبود (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین میزان وزن خشک ریشه‌چه در تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus sp* با میانگین ۰/۰۱۴ گرم مشاهده گردید. همچنین نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش (شاهد) با میانگین ۰/۰۱۴ گرم بیش‌ترین وزن خشک ریشه‌چه نسبت به سطوح تنش دیگر وجود داشت (جدول ۲). در بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر گیاه پنبه نتایج نشان داد، باکتری باعث افزایش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد شد (Hafeez *et al*., 2004).

همچنین سرچشمه‌پور (Sarcheshmepur, 2014) در تحقیق خود که بر گیاه پسته انجام شده بود، بیان کرد تأثیر تلقیح باکتری و تیمار تنش خشکی به‌صورت جداگانه معنی‌دار، اما اثر متقابل بین سطوح تنش خشکی و تیمار نوع باکتری معنی‌دار نشد. وزن خشک ریشه در اثر اعمال تنش کاهش پیدا کرد؛ درصورتی‌که در اثر تلقیح باکتریایی افزایش یافت. به‌طورکلی در گیاهان با افزایش پتانسیل اسمزی میزان جوانه‌زنی به دلیل کاسته شدن سطح تماس آب با بذرها و پایین آوردن هدایت الکترولیکی آب اطراف بذور کاهش می‌یابد (Sepanlu and Syadat, 2000). باکتری‌های محرک رشد با تولید اسید دامیناز ACC[1] و استفاده از نیتروژن برای هیدرولیز ACC باعث کاهش میزان اتیلن در گیاه می‌شود که به دنبال آن رشد ریشه افزایش می‌یابد (Burd *et al*., 2000؛ Glick *et al*., 1998؛ Belimov *et al*., 2007؛ Belimov *et al*., 2009؛ Glick, 2014).

وزن خشک ساقه‌چه: تأثیر تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد گیاهی بر وزن خشک ساقه‌چه، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. درحالی‌که اثر متقابل بین تیمار نوع باکتری و سطوح تنش خشکی معنی‌دار نبود (جدول ۳). بررسی نتایج مقایسه میانگین وزن خشک ساقه‌چه نشان می‌دهد که تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus amyloliquefaciens* بیش‌ترین وزن خشک ساقه‌چه را به خود اختصاص داد که نسبت به تیمارهای تلقیح باکتریایی *Pseudomonase fragi*، *Bacillus sp* اختلاف معنی‌داری نداشت؛ ولی نسبت به سایر تیمارهای تلقیحی و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲). این تیمارها به ترتیب نسبت به شاهد به میزان ۰/۰۰۹، ۰/۰۰۸، ۰/۰۰۸ درصد وزن ریشه‌چه را افزایش دادند. باکتری‌های محرک رشد به دلیل اینکه مولد ACC-دآمیناز هستند با گسترش و توسعه رشد ریشه، رشد ساقه و عملکرد آن را به طور مثبت تحت تأثیر قرار می‌دهند (Shaharoona *et al*., 2007).

[1] Aminocyclopropane-1-carboxylate

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تلقیح باکتریایی و تنش خشکی بر صفات مورد مطالعه گیاه *Astragalus effusus*

Table 3- Analysis of variance (MS) of bacterial inoculation and drought stress on studies properties of *Astragalus effuses*

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Stem dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b
تکرار Replications	2	2.32e-06^{ns}	4.9e-07^{ns}	6.8e-05^{ns}	5.8e-06^{ns}
تنش خشکی Drought stress (D)	3	0.0001**	1.55e-05**	0.003**	0.003**
تیمار باکتریایی Bacterial treatment (B)	4	5.06e-05**	2.54e-05**	0.043**	0.004**
تیمار باکتری × تنش خشکی B × D	12	2.62e-06^{ns}	1.43e-06^{ns}	0.0009**	0.0002**
خطا Error	38	1.6e-06	1.06e-06	0.0002	5.4e-05
ضریب تغییرات CV (%)		10.546	12.815	5.478	7.770

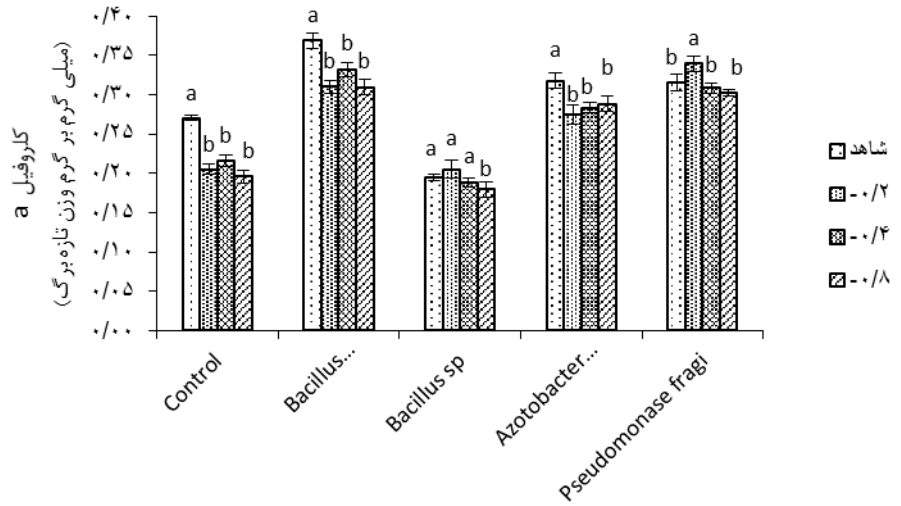
ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.

میزان کلروفیل a: تیمار نوع باکتری، سطوح تنش خشکی و نیز اثر متقابل بین تیمار نوع باکتری و سطوح تنش اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل a داشته است (جدول ۳). با توجه به شکل ۴، نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمار تلقیحی *Bacillus amyloliquefaciens* از کلروفیل a بالاتری برخوردار بود که با شاهد و دیگر تیمارهای تلقیحی اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین نتایج سطوح تنش خشکی بر میزان کلروفیل a نشان داد به‌طورکلی در سطح تنش صفر (شاهد) بیشترین میزان کلروفیل a نسبت به سایر سطوح تنش خشکی وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر میزان کلروفیل a نشان داد در تیمار شاهد باکتریایی در سطح تنش ۰/۸- میزان کلروفیل a ۲۷/۴۸ درصد نسبت به شاهد (بدون تنش) کاهش نشان داد. این روند کاهشی میزان کلروفیل a، در تیمارهای باکتریایی با شدت کمتری انجام گرفت و در باکتری *Pseudomonase fragi* به مقدار چهار درصد نسبت به شاهد مشاهده شد.

فتوسنتز به دو شکل تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد: یکی بسته شدن روزنه‌ها که منجر به تأمین نشدن CO_2 لازم برای فعالیت کلروپلاست‌ها می‌شود و دیگری اثر مستقیم خشکی نیز می‌باشد که به صورت تخریب کلروفیل‌ها قابل مشاهده است. گونه‌های فعال اکسیژن که در زمان خشکی در گیاه تولید شده، می‌توانند سبب تخریب سیستم فتوسنتزی و در نهایت تجزیه کلروفیل شوند (Smirnoff, 1993). همچنین طبق نظر بعضی از محققین (Jiang and Huang, 2001; Schutzz and Fangmeier, 2001)، کاهش سطوح کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌تواند به افزایش فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز)، مربوط باشد. نیتروژن یک جزء لازم مولکول کلروفیل می‌باشد. مقدار کلروفیل با میزان نیتروژن ارتباط مستقیم دارد و با کاهش سطح نیتروژن شاخص میزان کلروفیل نیز کاهش می‌یابد (Hasegawa *et al*., 2008). جهانشاهی و همکاران (Jahanshiri *et al*., 2013) در بررسی‌های خود بر تأثیر کاربرد ورمی‌کمپوست و باکتری‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلیوم* بر گیاه گشنیز گزارش دادند که غلظت کلروفیل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین در پژوهشی دیگر افزایش کلروفیل a در گیاه همیشه بهار در اثر تلقیح با تیمارهای باکتریایی *باسیلوس*[1]، *سودوموناس پوتیدا*[2]، *سودوموناس فلورسنس*[3] و *ازتوباکتر و کورینه باکتریوم*[4] گزارش شد (Sheykhi ghahfarokhi, 2015).

[1] *Bacillus*
[2] *Pseudomonas putida*
[3] *Pseudomonas fluorescens*
[4] *Corynebacterium*

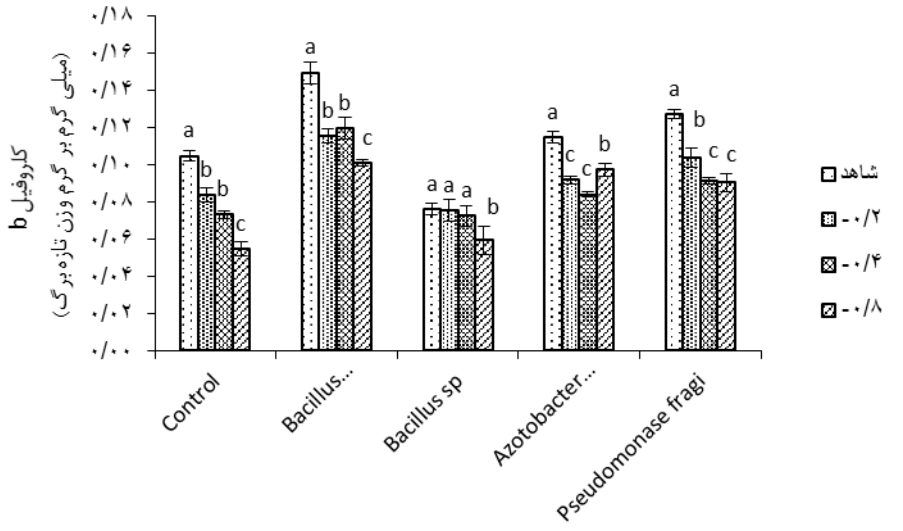


شکل ۴- اثر تیمارهای باکتریایی بر محتوای کلروفیل a گیاهچه *A. effusus* تحت شرایط تنش خشکی

Figure 4- Effect of bacterial treatments on the chlorophyll a content of *A. effusus* seedlings under drought stress conditions

(Means in each column followed by the similar letters are not significantly different at 5% of probability level)

میزان کلروفیل b: اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی، سطوح تنش خشکی و اثر متقابل بین تیمارهای تلقیح باکتریایی و سطوح تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر محتوای کلروفیل b اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۳). مقایسه میانگین کلروفیل b نشان داد همه تیمارهای تلقیح باکتریایی به جز *Bacillus sp* توانستند میزان کلروفیل *b* را نسبت به شاهد افزایش دهند. طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیش‌ترین میزان کلروفیل b در باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* مشاهده شد. اثر سطوح تنش خشکی بر میزان کلروفیل b نشان داد که با افزایش سطح تنش از میزان کلروفیل b برگ کاسته شد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر میزان کلروفیل a نشان داد در تیمار شاهد باکتریایی با افزایش سطح تنش خشکی میزان کلروفیل b ۴۷/۸۴ درصد کاهش پیدا کرد، به‌طوری‌که این کاهش در باکتری *Azotobacter chroocuccum* به مقدار ۱۵/۲۷ درصد نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۵). کاظم علیلو و رسولی صدیقیانی (Kazem-alilo and Rasuli sedighyani, 2013) افزایش میزان کلروفیل b را در گیاه بنگدانه در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گزارش کردند.



شکل ۵- اثر تیمارهای باکتریایی بر محتوای کلروفیل b گیاهچه *A. effusus* تحت شرایط تنش خشکی

Figure 5- Effect of bacterial treatments on the content of *A.effusus* chlorophyll b under drought stress conditions

(Means in each column followed by the similar letters are not significantly different at 5% of probability level)

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد که بروز تنش خشکی، میزان رشد و عملکرد گیاه مرتعی *Astragalus effusus* را به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش می‌دهد. همچنین کاربرد باکتری‌های محرک رشد با کاهش اثرات منفی تنش خشکی باعث بهبود شرایط رشد و استقرار گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود. در این پژوهش باکتری *باسیلوس* باعث افزایش رشد در وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، ضریب سرعت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی شد. همچنین باکتری *سودوموناس فراژی* نیز توانست متوسط سرعت جوانه‌زنی و محتوای کلروفیل a را افزایش دهد و باکتری *ازتوباکتر* نیز محتوای کلروفیل b را افزایش داد. بروز تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی با کاهش پتانسیل آب در بستر بذر همراه است که پیامد آن کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی و نیز رشد گیاهچه می‌باشد. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی نه‌تنها هورمون‌های محرک رشد گیاهی مثل اکسین و جیبرلین تولید می‌کنند بلکه در شرایط تنش از طریق تولید هورمون‌هایی مثل ABA می‌توانند باعث تخفیف تنش شوند؛ لذا با توجه به این نتایج به منظور بهبود رشد و عملکرد گیاه

Astragalus effusus به‌ویژه تحت تنش خشکی، تلقیح بذر با باکتری‌های *Bacillus amyloliquefaciens* و *Bacillus sp.* پیشنهاد می‌گردد.

منابع

Abedini F. 2016. Report of Sleep failure methods in three species of forage *Astragalus curvirustris*, *Astragalus effusus* and *Astragalus angustiflorus*. 27 p. (In Persian).

Ahemad M., Kibret M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. Journal of King Saud University Science, 26: 1-20.

Ahmadi A., Shahmoradi A., Zare Kia S., Ahmadi A., Nateghi S. 2014. A-ecology study of astragalus effesus rangelands in West Azarbaijan province .Journal of Rangeland and Desert Research of Iran, Pp: 172-181. (In Persian).

Akbari S., Kafi M., Rezvan Beidokhti S. 2016. The effects of drought stress on yield, yield components and antioxidant of two garlic (*Allium sativum L.*) ecotypes with different planting densities. Journal of Agroecology, 8: 95-106. (In Persian).

Akhavan armaki M., Azarnivand H., Osareh M.H., Jafari A.A., Tavili A. 2013. Study of drought stress effects on germination indices of four genotypes Bromus tomentellus rangeland. Pasture and Watershed Journal, Pp: 167-177. (In Persian).

Ansari M., Ardakani M.R., Asadi Rahmani H .Paknezhad F., Habibi D. 2016. Effect of Pseudomonas fluorescent fluorescent strains on hormone, soluble sugars and proline content of corn under drought stress. Journal of Plant Environmental Physiology, 39: 42-52. (In Persian).

Armada E., Leite MFA., Medina A., Azcon R., Kuramae E.E. 2018. Native bacteria promote plant growth under drought stress condition without impacting the rhizomicrobiome. Journal of FEMS Microbiology Ecology, fiy092.

Belimov A.A., Dodd I.C., Hontzeas N., Theobald J.C., Safronova V.I., Davies W.J. 2009. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. New Phytologist, 181: 413-423.

Beneduzi A., Ambrosini A., Passaglia L.M.P. 2012. Plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. Genetics and Molecular Biology, 35: 1044-1051.

Burd G.I., Dixon D.G., Glick B.R. 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. Journal of Applied and Environmental Microbiology, 64: 3663-366.

Burd G.I., Dixon D.G., Glick B.R. 2000. Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Canadian Journal of Microbiology, 46: 237-245.

Cakmakci R., Erat M., Erdoman U.G., Donmez M. F. 2007. The influence of PGPR on growth parameters. Antioxidant and pentose phosphate oxidative cycle enzymes in wheat and spinach plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 170: 288-295.

Copeland L., McDonald S. 2012. Science and technology of seeds. 2th Ed. Mashhad University Press, 512 p. (In Persian).

Dimkpa C., Weinand T., Asch F. 2009. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abioticstress conditions. Plant, Cell and Environment, 32: 1682-1694.

Ebrahimi A., Ismaili M., Sadouri H., Tahmasebi A. 2013. The effects of salinity and drought stress on germination of two Agropyron desertrum and Agropyron elongatum rangelands. Desertification Ecosystem Engineering, 1: 31-38. (In Persian).

Enjavi F., Taghvaei M., Sadeghei H., Hassanli H. 2015. Effects of superabsorbent polymer on early vigor and water use efficiency of (*Calotropis procera* L.) seedlings under drought stress. Iranian Journal of Range and Desert Research, 22 (2): 216-230.

Ghasriani F., Mohebby A., Shirmardi H.A., Mirakhorli R., Eftekhari A. 2016. Determining the allowable use for *Astragalus effusus* Bunge in the mountainous and semi-steppe rangelands of Iran. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences JBES, 9: 34-39.

Glick B.R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research, 169: 30-39.

Glick B.R., Penrose D.M., Li J.P. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. Journal of Theoretical Biology, 190: 63-68.

Golpayeghani A., Gholami H., Heydari M., Sadeghi M., Mousavi M. 2010. Sustainable production and improving growing herbs basil (*Ocimum basilicum* L.) in response to the inoculated bacteria growth promoting (PGPR). College of Agriculture, Pp: 27-28.

Hans J., Donald E., Richard G. 1995. Adaptations to Environmental Stresses. American Society of Plant Physiologists, Pp: 1099-1111.

Hartmann A.M., Schmid M.D., van Tuinen D., Berg G. 2009. Plantdriven selection of microbes. Plant Soil, 321: 235-257.

Jahanshahi S.H., Bagheri M., Abutalebi a. 2013. Effect of application of vermicompost and azotobacter and azospirillum on yield and yield Components of coriandrum medicinal plant .Iranian Journal of Crop Research, Pp: 200-211. (In Persian).

Kasim W.A., Osman M.E., Omar M.N., El-Daim I.A., Bejai S., Meijer J. 2013. Control of drought stress in wheat using plant-growth promoting bacteria. Journal of Plant Growth Regulation, 32: 122-130.

Kazem Alilu M., Rasouli Sedighani M. 2013. Effect of soil cadmium contamination on some physiological indices of henbane seedlings in the presence and absence of microorganisms that stimulate plant growth. Journal of Water and Soil Science, Pp: 17-36. (In Persian).

Keshtkar A.R., Keshtkar H.R., Razavi S.M., Dalfardi S. 2008. Methods to break seed dormancy of Astragalus cyclophyllon. African Journal of Biotechnology, 7: 3874-3877.

Kloepper J.W., Schroth M.N., Miller T.D. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. Ecology Epidemiology, 70: 1078-1082.

Liu W. 2017. Transcriptional rearrangement by plant growth-promoting rhizobacteria in priming drought tolerance in plants. M.Sc., Thesis submitted to the Graduate Faculty of Auburn University, Auburn, Alabama, 43 p.

Lucy M., Reed E., Glick B.R. 2004. Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek, 86: 1-25.

Lugtenberg B., Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annual Review Microbiology, 63: 541-556.

Manaffee W.F., Klopper J.W. 1994. Applications of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. In: soil biota management in sustainable farming systems. 4th ed. East Melbourne, Australia, Pp: 23-31.

Masoumi A.S. 2006. A number of new and interesting new species from Iran. Iranian Botanical Garden, 101 p. (In Persian).

McCue K.F., Hanson A.D. 1990. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. Trends Biotechnology, 83: 58-62.

Mishra M., Patjoshi A.K., Jena D. 1998. Effect of biofertilization on production of maize (*Zea mays*). Indian Journal of Agronomy, 43: 307-310.

Mishustin E.N., Naumova A.N. 1982. Bacterial fertilizers, their effectiveness and mode of action. Journal of Microbiologiya, 31: 545-555.

Moghimi J. 2006. Introduction of some important species suitable for development and improvement of Iranian rangelands. Aaronomy Publications, 672 p. (In Persian).

Mushtaghian M., Keshtkar H., Ismaili Sharif M., Razavi S. 2009. Evaluation of the effect of planting method on establishment of species of *Astragalus*

cyclophyllon forages. Iranian Range and Desert Research, 16: 88-79. (In Persian).

Ngumbi E., Kloepper J. 2016. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. Applield Soil Ecology, 105: 109-125.

Radnejad H., Behtarri B., Naghipour Borj A.A., Haj Agha Memar Sh. 2017. Effects of seed biopriming with azospirillum and azotobacter on performance and drought resistance in Festuca arundinacea Schreb. Iranian Journal of Range and Desert Research, Pp: 760-771. (In Persian).

Rejeb I., Pastor V., Mauch-Mani B. 2014. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress. Molecular Mechanisms, 3: 458-475.

Rudrappa T., Czymmek K.J., Pare P.W., Bais H.P. 2008. Rootsecreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. Plant Physiology, 148: 1547-1556.

Saharan B.S., Nehra V. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria. Life Sciences and Medicine Research, Pp: 1-30.

Sarcheshmepur M., Savaghebi G.H.R., Siadat H., AliKhani H.A. 2013. Effect of growth stimulator rhizospores on improvement and nutrition of pistachio seedlings in drought stress conditions. Journal of Soil Research, 1: 107-119. (In Persian).

Seyed Sharifi R., khavazi K. 2012. Effect of growth stimulating bacteria on germination components and maize seedling growth (*Zea mays* L.). Journal of Ecology, Pp: 506-513. (In Persian).

Shaharoona B., Jamro G.M., Zahir Z.A., Arshad M., Memon K.S. 2007. Effectiveness of various *Pseudomonas spp.* and *Burkhaldaria caryophylli* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat. (*Triticum aestivum L.*). Journal of Microbiology and Biotechnology, 17: 1300-1307.

Sheikhi Ghahfarokhi F. 2015. Effect of seed insemination with growth stimulating bacteria on improvement of germination indices, growth and yield of flower almond (*Calendula officinalis* L.). M.Sc. Thesis in Seed Science and Technology, Shahrekord University Iran. (In Persian).

Spanlow M., Syadat H. 2000. Effect of water stress on wheat growth and production and comparison of the resistance of different lines to drought. M.Sc. Thesis in Tarbiat Modares University, Iran. (In Persian).

Torfi V. 2015. The effect of biopriming treatments on improvement of germination, growth and function of medicinal plant in phaseolus. M.Sc. Thesis in Science and Technology in Seeds, Shahrekord University, 114 p. (In Persian).

Vessy J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil, 3: 255-258.

Wang W., Vinocur B., Altman A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 218: 1-14.

Wellburn A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology, 144: 307-313.

Yousefzadeh K., Houshmand S., Zamani Dadane G. 2010. Karyotype analysis of *Astragalus effusus Bunge* (Fabaceae). Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics, 3: 257-261.