دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
بوم‌شناسی جنگل‌های ایران

"مقاله پژوهشی"

بررسی اثر تلقیح بذر بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر برخی صفات فیزیولوژیک نهال تحت سطوح مختلف تنش کم‌آبی

مهری خسروی[۱]، مهدی حیدری[۲]، حسینعلی علیخانی[۳] و اصغر مصلح آرانی[۴]

۱- دانشجوی دکتری علوم جنگل، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام
۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، (نویسنده مسوول: m.heidari@ilam.ac.ir)
۳- استاد، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
۴- دانشیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یزد، یزد
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۱۹
صفحه: ۶۷ تا ۷۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: استفاده از کودهای زیستی همانند باکتری‌های محرک رشد گیاه به‌منظور کاهش صدمات ناشی از تنش کم‌آبی در گیاهان و بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و در نتیجه بالا بردن میزان رشد گیاه در مناطق خشک و نیمه‌خشک از اقدامات ضروری برای کنترل تنش کم‌آبی می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر همزمان سطوح مختلف تنش کم‌آبی و تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه بر برخی صفات فیزیولوژیک در نونهال‌های بلوط ایرانی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه و سطوح مختلف آبیاری بر برخی از صفات فیزیولوژیک نونهال‌های بلوط ایرانی، آزمایشی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با پنج تکـرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یزد اجرا شد. فاکتور اصـلی شـامل سه سطح آبیاری (۸۰ درصد آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، ۶۰ و ۴۰ درصد آبیاری کامل) و فاکتور فرعـی در شش سطح کاربرد باکتری محرک رشد گیاه (عدم تلقیح باکتریایی به‌عنوان شاهد و تلقیح بذر با بـاکتری‌هـای *Bacillus anthracis*، *B. licheniformis*، *Stenotrophomonas maltophilia*، *B. cereus* و BMix (ترکیب چهار سویه) بود.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سطوح تنش کمبود آب، تیمارهای باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها بر تمامی صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل با افزایش سطوح کم‌آبی کاهش می‌یابد. در مقابل، میزان پرولین، فنل کل و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در نونهال‌های بلوط ایرانی تحت تنش به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. میزان تجمع مالون‌دی‌آلدئید (MDA) که میزان تخریب و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را نشان می‌دهد نیز با افزایش تنش کم‌آبی افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد داشت ولی با اضافه‌کردن باکتری‌ها به تیمارهای خشکی میزان تجمع آن کاهش یافت که این نشان می‌دهد باکتری آثار منفی خشکی بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را کم کرده و بدین‌ترتیب باعث افزایش مقاومت نونهال‌ها به شرایط تنش شده است.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی از بـین تیمارهـای باکتریـایی، تیمار باکتری (BMix) باعث افزایش میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید و تیمار باکتری *Bacillus anthracis* باعث افزایش میزان پرولین، فنل کل و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد تحت تنش شدید کم‌آبی شدند.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های ریزوسفری، بلوط، تنش آبی، جنگل‌های زاگرس، کود زیستی

مقدمه

خشکی یکی از شایع‌ترین تنش‌های محیطی است و پراکنش گیاهان در سراسر دنیا تا حدود زیادی متأثر از میزان آب قابل دسترس می‌باشد. به‌طورکلی از بین عوامل محیطی تنش‌زا، خشکی دومین (بعد از شوری) عامل اصلی کاهش رشد و عملکرد گیاهان است (۹). تنش کم‌آبی حالتی از شرایط محیطی می‌باشد که در آن وضعیت آب قابل دسترس در خاک از نظر مقدار و یا توزیع، نامناسب و به‌گونه‌ای است که موجب آسیب به گیاه می‌شود و در نتیجه آن گیاه نمی‌تواند حداکثر عملکرد خود را داشته باشد (۱۰). جنگل‌های زاگرس با مساحت حدود پنج میلیون هکتار، ۴۰ درصد از کل جنگل‌های ایران را در برگرفته‌اند. این جنگل‌ها بیش‌ترین تأثیر بر کنترل بارش‌ها از جمله در کاهش روان‌آب، افزایش محتوای آب خاک، حفاظت از خاک در برابر فرسایش آبی، تعدیل آب و هوا و تعادل اقتصادی- اجتماعی را دارند (۵۲). گونه‌های بلوط (*Quercus* spp.) در بیشتر نقاط زاگرس به‌صورت غالب حضور دارند و می‌توان گفت جنس بلوط مشخص‌کننده سیمای ظاهری این جنگل‌ها است. بلوط ایرانی (*Q. brantii* var. *persica*) در قسمت‌های مرکزی و جنوبی زاگرس گونه غالب را تشکیل می‌دهد (۲۹). خشکیدگی درختان بلوط موسوم به زوال بلوط در بیش‌تر جنگل‌های زاگرس از جمله جنگل‌های بلوط استان ایلام در چند سال اخیر روند صعودی داشته است. خشکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای غیرزیستی مؤثر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است (۵) و عاملی محدودکننده برای زندگی گیاهان در اکوسیستم‌های خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود (۲۴). تنش خشکی اثر فیزیولوژیکی و بیولوژیکی متنوعی را در گیاه ایجاد کرده و می‌تواند منجر به ممانعت از انجام فرآیندهای بیوشیمیایی بسیار مهم نظیر فتوسنتز، تنفس و اسیمیلاسیون عناصر غذایی شود. گیاهان در صورت بروز تنش خشکی، با ایجاد تغییراتی در برخی از رفتارهای فیزیولوژیک خود ازجمله افزایش پرولین به این تنش محیطی واکنش نشان می‌دهند.

امروزه معرفی نهاده‌هایی که بتوانند از طریق بهبود وضعیت فیزیولوژیکی در گیاه سبب ارتقای سطح مقاومت به تنش کم آبی شوند، از جمله ضرورت‌های پژوهشی می‌باشد. روش‌های بیولوژیک و ازجمله استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه اولویت بیش‌تری دارند که می‌تواند از طریق بهبود رشد درختان موجب غنای اکوسیستم‌های جنگلی گردد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند علاوه بر ایجاد مقاومت به تنش خشکی، افزایش زیست‌فراهمی عناصر غذایی، ارتقاء

توان زنده‌مانی[1] و جوانه‌زنی بذور، ترشح مواد تحریک‌کننده رشد و تسریع رشد مراحل اولیه نهال‌ها مفید واقع شوند (۳۴)، به‌طورکلی یکی از تکنیک‌های زیستی برای تولید نهال سالم و قوی برای ترمیم رویشگاه‌های جنگلی تخریب‌یافته، مهندسی ریشه نهال است که در آن بذور یا نونهال‌های درختان جنگلی با باکتری‌های ریزوسفری تلقیح می‌شوند. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR[2]) باکتری‌هایی هستند که آشیانه بوم‌شناختی[3] آن‌ها ریزوسفر گیاه می‌باشد. PGPRs می‌توانند به‌طور مستقیم (تثبیت زیستی نیتروژن، تولید فیتوهورمون‌های رشد، آمینواسیدها و دیگر مواد محرک رشد گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصرغذایی مختلف به‌ویژه آهن، مس و روی برای گیاه) و یا غیرمستقیم (تولید آنزیم‌های هضم‌کننده دیواره سلولی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، ایجاد مقاومت در گیاه، افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیر زنده از طریق تولید آنزیم ACC-deaminase) موجب بهبود سلامت و افزایش رشد گیاه در برابر تنش‌های محیطی از جمله خشکی در گیاهان شوند (۳۵). این باکتری‌ها به‌علاوه موجب بهبود کیفیت فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک می‌گردند (۱۳). باکتری‌های جنس‌های *Azotobacter*، *Azospirillum*، *Pseudomonas* و *Bacillus* از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند (۲۳). در پژوهشی فتحی و همکاران (۱۵) در بررسی کارایی سویه‌های *سودوموناس* در تعدیل تنش خشکی روی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی ارقام پسته به این نتیجه رسیدند که تنش خشکی سبب افزایش میزان پرولین هم در نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های باکتریایی و هم در نهال‌های بدون مایه‌زنی شد با این تفاوت که این افزایش در نهال‌های مایه‌زنی شده بیش‌تر بود، هم‌چنین تنش خشکی موجب کاهش میزان رنگیزه‌های گیاهی گردید اما این کاهش در گیاهان مایه‌زنی شده کم‌تر بود. اما با توجه به این‌که تاکنون تحقیقی در رابطه با تلقیح باکتری‌های محرک رشد تحت شرایط تنش کم‌آبی روی گونه بلوط ایرانی با این روش (جداسازی ریزوسفر از گونه‌های درختی و درختچه‌ای توسط خود محقق) و با بررسی این صفات فیزیولوژیک (پرولین، کلروفیل، فنل کل، درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و مالون‌دی‌آلدئید) در جنگل‌های زاگرس انجام نشده است، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر همزمان سطوح مختلف تنش کم‌آبی و تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه بر این صفات فیزیولوژیک در نونهال‌های بلوط ایرانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

جداسازی، خالص‌سازی، اندازه‌گیری توان تحمل به تنش کم‌آبی و ویژگی‌های محرک رشد گیاهی جدایه‌ها

در این تحقیق، نمونه‌برداری به‌صورت تصادفی از خاک ریزوسفری درختان بلوط ایرانی سالم، بلوط ایرانی نیمه خشکیده (تعیین خشکیدگی بر اساس معیار کابریک (۲۲))، یکی از گونه‌های سالم همراه بلوط در شهرستان ایلام که خشکیدگی آن در عرصه‌های استان ثبت نشده (دافنه؛ *Daphne mucronata*) و دو گونه درختچه‌ای خشکی‌پسند (اسکنبیل؛ *Calligonum comosum* و استبرق؛ *Calotropis procera*) واقع در شهرستان دهلران، (از هر گونه ۱۰ نمونه خاک و جمعاً ۵۰ نمونه خاک ریزوسفری) انجام شد. ابتدا ۳۰۰ جدایه باکتری جداسازی شد، سپس از میان این جدایه‌ها ۱۰۰ جدایه برتر مقاوم به تنش کم‌آبی برای انجام آزمون‌های مربوط به تعیین توان تحریک رشد گیاه، انتخاب شدند. غربالگری و انتخاب جدایه‌های برتر بر اساس آزمون تعیین میزان تحمل جدایه‌ها به سطوح مختلف تنش خشکی در محیط کشت نوترینت‌براث (NB) حاوی غلظت‌های مختلف PEG ۶۰۰۰ (پتانسیل‌های آبی صفر، ۵-، ۱۰- و ۱۵- بار)، توانایی تولید آنزیم ACC- دآمیناز، توان تولید IAA، توان حل‌کنندگی فسفات معدنی نامحلول (تری‌کلسیم-فسفات، TCP) و تولید سیانیدهیدروژن (HCN) جدایه‌های ریزوسفری به‌ترتیب بر طبق روش پیشنهادی علی و همکاران (۲)، پنروز و گلیک (۳۸)، پتن و گلیک (۳۷)، اسپربر (۵۱) و دونت و همکاران (۱۴) انجام گرفت و در نهایت چهار جدایه انتخاب شدند و شناسایی مولکولی به‌روش توالی‌یابی ژن رمزکننده 16S rRNA انجام شد (۷) و در سایت NCBI ثبت گردید؛ که نتایج آزمون‌های انجام شده برای این جدایه‌ها در (جدول ۱) آورده شده است.

جدول ۱- توان تحمل به تنش کم‌آبی و برخی ویژگی‌های محرک رشد گیاهی جدایه‌های برتر
Table 1. Ability to tolerate water-deficit stress and some plant growth-promoting properties of superior isolates

تیمار باکتری	نام علمی و شماره دسترسی باکتری‌ها در سایت NCBI	تحمل به کم‌آبی (bar)	تولید آنزیم ACC-d	تولید HCN	تولیدIAA ($mg\ l^{-1}$)	حلالیت تری‌کلسیم فسفات
B1	*Bacillus anthracis* strain St2 (MW547514)	۰/۸۵۶	+	–	۱۷/۷۳	۱/۲۸۲
B2	*B. licheniformis* strain Sk2 (MW547525)	۰/۴۸۹	+	–	۱۱/۴۵	–
B3	*Stenotrophomonas maltophilia* Strain Bs1 (MW647657)	۰/۱۶	–	–	۲۵/۸۴	۱/۵۸
B4	*B. cereus* strain St3 (MW547529)	۰/۲۳	+	–	۴۲/۹۳	۱/۵۷

توانایی تولید: + و عدم تولید: –

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری برخی از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک مورد استفاده در گلدان‌ها

خاک مورد استفاده در این آزمایش از خاک طبیعی عرصه جنگل‌های بلوط ایرانی (شهرستان لردگان در استان چهار محال و بختیاری) از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر نمونه‌برداری شد. پس از هوا خشک کردن نمونه خاک و عبور از الک دو میلی‌متری، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن شامل: بافت خاک، درصد رطوبت‌های اشباع خاک (SP)، ظرفیت مزرعه

1- Vitality 2- Plant Growth Promoting Rhizobacteria 3- Nich

(FC) و نقطه پژمردگی دائم (PWP)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع خاک (ECe)، ماده آلی، pH گل اشباع، نیتروژن کل، کربنات‌کلسیم و منیزیم معادل، فسفر و پتاسیم قابل دسترس بر اساس روش‌های استاندارد تعیین شد (۵۰) و نتایج آن در (جدول ۲) بیان شد.

جدول ۲- برخی از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک مورد استفاده در گلدان‌ها
Table 2. Some physical, chemical and biological properties of soil used in pots

بافت	pH	SP (%)	FC (%)	PWP (%)	EC (dS/m)	کربنات کلسیم (%)	کربنات منیزیم (%)	ماده آلی (%)	کربن آلی	نیتروژن کل (%)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	جمعیت باکتری (CFU/g)
لوم رسی	۷/۹۸	۴۱/۶	۳۴	۱۳	۰/۸۸	۲۴/۵	۲۴/۵	۴/۰۵	۲/۳۵	۰/۳۶	۱/۲	۴۱۰	۱/۳۹ × ۱۰^{۳}

طرح و تیمارهای آزمایش

آزمایش به‌صورت فاکتوریل (دو فاکتور) و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی (CRD[1]) با پنج تکرار انجام شد. فاکتور اول: تیمارهای تنش رطوبتی خاک در سه سطح شامل ۸۰٪ (بدون تنش)، ۶۰٪ (تنش ملایم) و ۴۰٪ (تنش شدید) ظرفیت مزرعه (W40, W60, W80)؛ فاکتور دوم: تیمار باکتری در شش سطح شامل B0 (بدون باکتری) و مایه‌کوبی با جدایه‌های (B1)، (B2)، (B3)، (B4) و (BMix) که (BMix) ترکیبی از باکتری‌های (B1، B2، B3 و B4) بود.

ضدعفونی سطحی و جوانه زنی بذرهای بلوط ایرانی

بذرهای بلوط ایرانی از رویشگاه منطقه دالاب شهرستان ایلام جمع‌آوری شدند. بذرهای سالم و هم‌اندازه جداسازی و به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ غوطه‌ور و سپس به‌مدت سه دقیقه در هیپوکلریت‌سدیم ۰/۵٪ تیمار و درنهایت بذرها با سرم فیزیولوژیک استریل شش بار شستشو شدند (۴۷). برای جوانه‌دار کردن بذرهای ضدعفونی سطحی شده از ظروف یک‌بار مصرف حاوی کاغذ صافی در شرایط استریل استفاده گردید، در هر ظرف تعداد ۲۵ بذر ضدعفونی شده و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه و ظروف برای جوانه‌دار شدن در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه درنظر گرفته شد (۴۱).

تهیه زادمایه باکتری‌های برتر محرک رشد

ظروف ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت NB آماده و توسط اتوکلاو (۳۰ دقیقه با ۱۲۱^{o}C) استریل شد. ظروف حاوی محیط کشت استریل هر کدام با یک حلقه[2] از کلنی باکتری تازه رشدیافته تلقیح و به‌مدت یک هفته بر روی شیکر با سرعت دورانی ۱۲۰ دور در دقیقه گرماگذاری شد. برای تهیه تیمار مخلوط باکتری، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون با جمعیت یکسان از هر نمونه باکتری رشدیافته برداشت و درون ظرف ارلن استریل به یکدیگر اضافه گردید. پس از رشد کافی باکتری درون محیط کشت NB، با استفاده از روش مک‌فارلند جمعیت باکتری با مقداری سرم فیزیولوژیک استریل (با در نظر گرفتن جمعیت اولیه سوسپانسیون باکتری) در حد CFU/ml ۱۰^{۹}× ۵ تنظیم شد (۳۱).

کاشت بذرهای جوانه‌دار شده در گلدان و اعمال تیمارهای آزمایشی

درون هر گلدان یک بذر جوانه‌دار شده کشت و طبق طرح آزمایشی، هر گلدان با پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر باکتری با جمعیت یکسان (CFU/ml ۱۰^{۹}× ۵) تلقیح و آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر در حد ۸۰٪ ظرفیت مزرعه به‌صورت وزنی و روزانه انجام شد. دو ماه پس از کشت بذرهای تلقیح یافته در گلدان و در حالت چندبرگی‌شدن تیمار تنش رطوبتی ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه نیز طبق طرح آزمایشی به صورت وزنی با استفاده از ترازوی دیجیتال اعمال شد و تا برداشت نهال‌ها (شش ماه) به‌صورت روزانه ادامه یافت (۵۸). هم‌چنین در طول دوره آزمایش، گلدان‌ها در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یزد با بیشینه دمای ۳۰ و کمینه ۱۸ درجه سانتی‌گراد، بیشینه رطوبت نسبی ۵۰ و حداقل ۲۰ درصد، نگهداری شدند.

اندازه‌گیری برخی صفات فیزیولوژیکی نونهال‌های بلوط ایرانی

برای این‌منظور، بعد از اتمام دوره تنش (۶ ماه) و در هنگام برداشت نهال‌ها از هر تیمار ۳ نهال انتخاب شد و برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی آن‌ها از جمله مقدار پرولین از روش بیتس و همکاران (۸)، محتوای کلروفیل شامل کلروفیل a، b و کلروفیل کل از روش آرنون (۶)، مقدار مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید غشاء طبق روش هیث و پاکر (۱۸)، مقدار فنل کل با استفاده از معرف فولین–سیوکالتیو و از روش وودیلو و همکاران (۵۷) و در نهایت تعیین درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به‌کمک دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) به‌روش ساها و همکاران (۴۵) مورد سنجش قرار گرفت.

آنالیز آماری داده‌ها

برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با توجه به نرمال‌بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها برای بررسی اثر تنش خشکی و تلقیح باکتری بر خصوصیات نهال‌های بلوط ایرانی از روش تجزیه واریانس دوطرفه (GLM) و برای مقایسه میانگین‌ها از تحلیل چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS ۲۳ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه‌واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح تنش کم آبی، تیمارهای باکتریایی و هم‌چنین اثر متقابل آن‌ها بر مقدار تمامی صفات فیزیولوژیک مورد بررسی معنی‌دار بود (جدول ۳).

1- Complete Randomized Design
2- Loop

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر اصلی و متقابل تیمارهای باکتری و تنش کم‌آبی بر برخی صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در گونه بلوط ایرانی

Table 3. Analysis of variance (mean squares) the main and interaction effect of bacterial treatments and water-deficit stress on some physiological traits measured in oak (*Quercus brantii*)

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین	فنل کل	درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد	مالون‌دی‌آلدئید
باکتری	۵	۱۲۸/۸۳۷**	۴/۹۴۶**	۱۸۲/۹۶۲**	۵۵۱۲/۳۶**	۰/۰۵۵**	۳۵۹/۲۵۸**	۰/۰۸۳**
تنش کم‌آبی	۲	۲۴۰/۸۵۲**	۱۳/۹۵۹**	۳۶۸/۵۴۴**	۲۵۷۸۵/۰۴۱**	۰/۶۶۴**	۱۰۲۵/۷۳**	۲/۰۲۰**
باکتری× تنش	۱۰	۳۷/۲۵۴**	۴/۳۰۹**	۶۲/۴۰۸**	۵۷۹/۰۱۸**	۰/۰۲۶**	۱۹۵/۴۷۷**	۰/۱۰۴**
خطا	۳۶	۶/۶۲۶	۱/۳۷	۱۰/۸۹۸	۱۴۹/۸۱۵	۰/۰۰۸	۳۵/۶۷	۰/۰۱۶
ضریب تغییرات (٪)	–	۳/۵۱	۴/۶۷	۳/۶	۱۰	۱/۴۷	۲/۹۷	۳/۸۴

**: نشانه معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک درصد می‌باشد

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثر گونه‌های باکتری بر صفات فیزیولوژیک مورد بررسی تحت سطوح مختلف تنش کم‌آبی

Table 4. Comparison of the mean effects of bacterial species on the studied physiological traits under different levels of water-deficit stress

تنش کم‌آبی (٪)	تیمار باکتری	کلروفیل a (mg g^{-1})	کلروفیل b (mg g^{-1})	کلروفیل کل (mg g^{-1})	پرولین (mg g^{-1})	فنل کل (mg g^{-1})	مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (%)	مالون‌دی‌آلدئید (µmol g-1)
۴۰	B0	۱۰/۸۵±۰/۷۲^{f}	۲/۷۵±۰/۵۵^{de}	۱۳/۶±۱/۰۸^{f}	۸۸/۵±۱/۳۵^{cd}	۱/۵۲±۰/۰۵$^{b-d}$	۵۷/۹۶±۱/۰۴^{ab}	۱/۵۴±۰/۱^{ab}
	B1	۲۰/۵۲±۱/۵۲^{de}	۳/۸۶±۱/۰۲$^{b-d}$	۲۴/۳۸±۱/۷۵^{de}	۱۴۸/۰۸±۲۴/۰۲^{a}	۱/۷۸±۰/۰۵^{a}	۶۴/۴۶±۰/۷۸^{a}	۱/۵±۰/۱۹^{bc}
	B2	۲۳/۹۷±۲/۰۱$^{b-d}$	۴/۱۱±۱/۰۱$^{b-d}$	۲۸/۴±۱/۸۹$^{b-e}$	۷۴/۴۸±۸/۹۳^{d}	۱/۶۵±۰/۰۶^{ab}	۵۸/۸۷±۳/۵۱^{ab}	۱/۳۸±۰/۰۱^{bc}
	B3	۱۸/۴۳±۰/۰۷^{e}	۴/۶۴±۰/۱۱$^{b-d}$	۲۳/۰۸±۰/۱۸^{e}	۷۵/۶±۸/۹^{d}	۱/۴۷±۰/۰۳^{cd}	۵۶/۳۵±۰/۲۱^{ab}	۱/۷۳±۰/۱۵^{a}
	B4	۱۱/۵۲±۰/۶۹^{f}	۱/۳۸±۰/۰۳^{e}	۱۲/۹±۰/۷۳^{f}	۱۰۵/۳۸±۱/۲۹^{bc}	۱/۶۳±۰/۰۶$^{a-c}$	۶۰/۲۶±۰/۰۱^{ab}	۱/۳±۰/۰۵^{c}
	Bmix	۲۴/۲۸±۱/۵$^{b-d}$	۵/۷۶±۰/۵۲^{ab}	۲۹/۷۴±۲/۵۳$^{b-d}$	۹۴/۵۵±۱/۱۵^{cd}	۱/۴۲±۰/۰۲^{de}	۵۰/۴۲±۴/۶۷^{b}	۱/۰۸±۰/۰۷^{d}
۶۰	B0	۱۳/۷۱±۰/۰۷^{f}	۳/۴۱±۰/۱۴$^{c-e}$	۱۷/۱۲±۰/۲۲^{f}	۴۰/۸۴±۵/۵۵^{ef}	۱/۲۶±۰/۰۱^{ef}	۵۵/۶۸±۱/۱۲^{ab}	۱/۰۴±۰/۰۲^{d}
	B1	۲۲/۴۲±۰/۵۲$^{c-e}$	۴/۹۷±۰/۸۲$^{b-d}$	۲۷/۴±۰/۸۳$^{b-e}$	۱۱۷/۵۵±۱^{b}	۱/۲۴±۰/۰۵^{f}	۵۰/۸۹±۲/۲۷^{b}	۱±۰/۰۱^{de}
	B2	۲۶/۰۴±۱/۴۸$^{a-c}$	۵/۹۵±۰/۱۹^{ab}	۳۲/۰۲±۲/۸۳^{b}	۳۲/۴۹±۳/۷۱$^{e-g}$	۱/۴۷±۰/۰۵^{cd}	۶۰/۳۲±۲/۵۳^{ab}	۰/۷۱±۰/۰۴$^{f-h}$
	B3	۲۰/۱۸±۱/۸۴^{de}	۴/۶۲±۰/۷۵$^{b-d}$	۲۴/۸۱±۱/۰۸^{de}	۲۷/۹۵±۴/۱۲$^{e-g}$	۱/۱۵±۰/۰۱^{f}	۵۳/۷۱±۱/۳^{ab}	۰/۷۶±۰/۰۳$^{e-h}$
	B4	۲۰/۹۳±۱/۳۱^{de}	۴/۴۵±۰/۶۳$^{b-d}$	۲۵/۳۸±۱/۹۴$^{c-e}$	۳۱/۶۷±۱/۱۷$^{e-g}$	۱/۴۱±۰/۰۹^{de}	۶۰/۸۱±۱/۰۷^{ab}	۱/۰۱±۰/۰۶^{d}
	Bmix	۲۷/۷۹±۰/۰۹^{ab}	۵/۹۷±۱/۳۵^{ab}	۳۳/۷۵±۰/۰۹^{ab}	۱۹/۸۱±۰/۶۹^{fg}	۱/۱۹±۰/۰۱^{f}	۵۵/۸۹±۰/۰۹^{ab}	۰/۸۵±۰/۰۷$^{d-g}$
۸۰	B0	۲۳/۸۱±۲/۰۶$^{b-d}$	۵/۲۳±۰/۲۱^{bc}	۲۹/۰۵±۲/۲۸$^{b-e}$	۲۳/۶۷±۴/۷۱^{fg}	۱/۱۷±۰/۰۲^{f}	۲۸/۹۳±۵/۶۹^{c}	۰/۷۷±۰$^{e-h}$
	B1	۳۰/۷۲±۰/۱^{a}	۷/۵۶±۰/۱۵^{a}	۳۸/۲۹±۰/۲۵^{a}	۴۹/۰۶±۸/۱۵^{e}	۱/۲۹±۰/۰۲^{ef}	۵۵±۰/۵۶^{ab}	۰/۶۱±۰/۰۲^{g}
	B2	۲۳/۴۳±۱/۷۶$^{b-d}$	۴/۶۷±۰/۵۲$^{b-d}$	۲۸/۱۱±۲/۲۸$^{b-e}$	۲۱/۶۶±۱/۱۲^{fg}	۱/۲۲±۰/۰۸^{f}	۵۶/۸۸±۰/۲۱^{ab}	۰/۶±۰/۰۲^{h}
	B3	۲۳/۰۵±۲/۰۸$^{b-e}$	۴/۷±۰/۹۶$^{b-d}$	۲۷/۷۶±۳/۰۴$^{b-e}$	۱۰/۴۸±۱/۲۹^{g}	۱/۲±۰/۰۲^{f}	۴۹/۵۳±۴/۶۷^{b}	۰/۹۳±۰/۰۳$^{d-f}$
	B4	۲۶/۰۳±۲/۳$^{a-c}$	۵/۸۹±۰/۵۵^{ab}	۳۱/۹۳±۲/۸۶^{b}	۲۳/۸۶±۰/۵۷^{fg}	۱/۱۸±۰/۰۶^{f}	۵۲/۰۶±۲/۲۴^{b}	۰/۹۶±۰/۰۴^{de}
	Bmix	۲۶/۴۲±۲/۳۳$^{a-c}$	۴/۸۳±۰/۶۳$^{b-d}$	۳۱/۲۵±۲/۹۶^{bc}	۱۷/۴۱±۰/۹۸^{fg}	۱/۲۳±۰/۰۳^{f}	۲۲/۵۴±۳/۴^{c}	۰/۹۳±۰/۰۳$^{d-f}$

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه می‌باشند تفاوت معنی‌دار ندارند.

مقدار پرولین

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار پرولین در نونهال‌های بلوط افزایش یافت، به‌طوری‌که در تنش کم‌آبی ۴۰٪ مقدار پرولین به‌طور معنی‌داری به بیش از صد درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ هم مقدار پرولین ۷۲/۵۳ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ولی این تفاوت نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. در فاکتور تلقیح باکتریایی، در تیمار ظرفیت مزرعه، فقط سویه باکتری (B1) باعث افزایش معنی‌دار بیش از صد درصدی مقدار پرولین نسبت به تیمار شاهد شد ولی سایر تیمارهای باکتری اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ نیز نتایج مشابه تیمار ظرفیت مزرعه به‌دست آمد و سویه باکتری (B1) باعث افزایش معنی‌دار بیش از صد درصدی مقدار پرولین نسبت به تیمار شاهد شد. در تنش کم‌آبی ۴۰٪ نیز فقط سویه باکتری (B1) باعث افزایش معنی‌دار ۶۷/۳۲ درصدی مقدار پرولین نسبت به تیمار شاهد شد، هم‌چنین تیمارهای (B4) و (BMix) نیز باعث افزایش مقدار پرولین نسبت به تیمار شاهد شدند ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. پس بنابراین به‌نظر می‌رسد در شرایط تنش کم‌آبی به‌خصوص در حضور باکتری (B1) مقدار پرولین در نونهال‌های بلوط ایرانی به‌عنوان یک مکانیسم تحمل یا سازش به اثرات منفی تنش افزایش یافته است. نظرات متفاوتی دررابطه با افزایش پرولین در برگ در شرایط تنش خشکی ذکر گردیده است که مهم‌ترین آن را تجزیه پروتئین‌ها در این شرایط و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی بیان نموده‌اند (۴۳). در تحقیقی مشابه تنش خشکی منجر به افزایش غلظت پرولین در ارقام پسته شد (۱۵). در شرایط تنش خشکی، پرولین در حفظ پتانسیل اسمزی، حذف رادیکال‌های آزاد گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS)،

حفاظت ماکرومولکول‌ها و تنظیم pH سلولی نقش دارد، همچنین برای گیاهان تحت تنش شدید، پرولین به‌عنوان منبع نیتروژن و کربن نیز عمل می‌کند و تحمل گیاه در برابر تنش را افزایش می‌دهد (۴). بنابراین افزایش پرولین در سلول‌های گیاه یک مکانیسم دفاعی برای کاهش یا در امان بودن گیاهان از اثرات منفی تنش است (۴۰). مایه‌کوبی گیاهان تحت تنش با PGPRs در اغلب موارد باعث افزایش پرولین گیاهان می‌شود. بنابراین مقاومت گیاهان درمقابل تنش افزایش یافته و درنهایت رشد و عملکرد گیاهان مایه‌کوبی شده با این باکتری‌ها نیز بهبود می‌یابد. هورمون اکسین (ایندول–۳– استیک‌اسید) تولید شده توسط باکتری‌ها از نقش مستقیم در افزایش رشد اعم از ریشه برخوردار است. این هورمون، اثرات قوی بر رشد ریشه و ساختار آن به‌لحاظ گسترش تعداد و طول ریشه‌های فرعی داشته که منجر به افزایش جذب مواد مغذی ازجمله نیتروژن شده و نیتروژن هم می‌تواند از طریق متابولیسم نیتروژن به پرولین تبدیل شود. پرولین با متابولیسم نیتروژن ساخته می‌شود بدین‌صورت‌که در گیاه نیترات به نیتریت و سپس به آمونیاک تبدیل و در ادامه با گلوتامین و گلوتامات به آمینواسیدها تبدیل می‌شود (۱۲). بر این اساس، باکتری‌های محرک رشد گیاه با تثبیت نیتروژن می‌توانند به‌این‌روند کمک کنند و باعث افزایش پرولین در گیاه شوند. مطالعات گذشته نشان می‌دهند که سویه باکتری *Bacillus anthracis* (B1) تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشد (۳۳)، بنابراین افزایش پرولین در نهال بلوط را می‌توان به افزایش مقدار نیتروژن توسط سویه باکتری *Bacillus anthracis* در نهال بلوط نسبت داد که طبق (جدول ۱) دارای توانایی تولید ایندول‌استیک‌اسید، آنزیم ACC–دآمیناز و انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی می‌باشد.

مقدار کلروفیل a

نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار کلروفیل a در نونهال‌ها کاهش یافت، به‌طوری‌که در تنش کم‌آبی ۴۰٪ مقدار کلروفیل a به‌طور معنی‌داری ۵۴/۴۳ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ هم مقدار کلروفیل a به‌طور معنی‌داری ۴۲/۴۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ولی مقدار کلروفیل a در سطوح تیمار تنش کم‌آبی ۴۰ و ۶۰ درصد با هم اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. در فاکتور تلقیح باکتریایی، در تیمار ظرفیت مزرعه، فقط سویه باکتری (B1) باعث افزایش معنی‌دار ۲۹ درصدی مقدار کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد شد ولی سایر تیمارهای اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. در تنش کم آبی ۶۰٪ تمامی تیمارهای باکتری باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد شدند که بیش‌ترین مقدار این صفت مربوط به تیمار باکتری (BMix) بود که باعث افزایش معنی‌دار بیش از صد درصدی مقدار کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد شد. در تنش کم‌آبی ۴۰٪ نیز تمامی تیمارهای باکتری باعث افزایش مقدار کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد شدند ولی این افزایش مقدار کلروفیل a در سویه باکتری (B4) نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. بیش‌ترین مقدار این صفت مربوط به تیمار باکتری (BMix) بود که باعث افزایش معنی‌دار بیش از صد درصدی مقدار شاخص کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۴).

مقدار کلروفیل b

نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار کلروفیل b در نونهال‌های بلوط کاهش یافت، به‌طوری‌که در تنش کم‌آبی ۴۰٪ مقدار کلروفیل b به‌طور معنی‌داری ۴۷/۴۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ هم مقدار کلروفیل b به ۳۴/۷۹ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ولی این کاهش نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود، همچنین مقدار کلروفیل b در سطوح تیمار تنش کم‌آبی ۴۰ و ۶۰ درصد با هم اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. در فاکتور تلقیح باکتریایی، در تیمار ظرفیت مزرعه، فقط سویه باکتری (B1) باعث افزایش معنی‌دار ۴۴/۵۵ درصدی مقدار کلروفیل b نسبت به تیمار شاهد شد ولی سایر تیمارهای باکتری اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. در تنش کم آبی۶۰٪ تمامی تیمارهای باکتری باعث افزایش مقدار کلروفیل b نسبت به تیمار شاهد شدند ولی این تفاوت فقط در تیمارهای (B2) و (BMix) نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود و بیش‌ترین مقدار این صفت مربوط به تیمار باکتری (BMix) بود که باعث افزایش معنی‌دار ۷۵ درصدی مقدار کلروفیل b نسبت به تیمار شاهد شد. در تنش کم‌آبی ۴۰٪ نیز تمامی تیمارهای باکتری (به استثنای سویه باکتری B4) باعث افزایش مقدار کلروفیل b نسبت به تیمار شاهد شدند که بیش‌ترین مقدار این صفت مربوط به تیمار باکتری (BMix) بود که باعث افزایش معنی‌دار بیش از صد درصدی مقدار کلروفیل b نسبت به تیمار شاهد شد، البته کاهش مقدار کلروفیل b در سویه باکتری (B4) نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۴).

مقدار کلروفیل کل

نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار کلروفیل کل نونهال‌های بلوط کاهش یافت، به‌طوری‌که در تنش کم آبی ۴۰٪ مقدار کلروفیل کل به‌طور معنی‌داری ۵۳/۱۸ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ هم مقدار کلروفیل کل به‌طور معنی‌داری ۴۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ولی مقدار کلروفیل کل در سطوح تیمار تنش کم‌آبی ۴۰ و ۶۰ درصد با هم اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. در فاکتور تلقیح باکتریایی، در تیمار ظرفیت مزرعه، فقط سویه باکتری (B1) باعث افزایش معنی‌دار ۳۱/۸ درصدی مقدار کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد شد ولی سایر تیمارهای باکتری اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ تمامی تیمارهای باکتری باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد شدند که بیش‌ترین مقدار این صفت مربوط به تیمار باکتری (BMix) بود که باعث افزایش معنی‌دار ۹۷/۱۳ درصدی مقدار کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد شد. در تنش کم‌آبی ۴۰٪ تمامی تیمارهای باکتری (به استثنای سویه باکتری B4) باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل نهال نسبت به تیمار شاهد شدند که بیش‌ترین مقدار این صفت مربوط به تیمار باکتری (BMix) بود که باعث افزایش

معنی‌دار بیش از صد درصدی مقدار کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد شد، البته کاهش مقدار کلروفیل کل در سویه باکتری (B4) نیز نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۴). تنش خشکی به‌دلیل ایجاد اختلال در مسیر سوخت‌وساز سلولی و تولید مواد سمی و گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر باعث آسیب‌دیدن بسیاری از مولکول‌های آزاد و ساختمانی سلول می‌شود. غشاء اندامک‌هایی مانند کلروپلاست نیز به وسیله ROS آسیب می‌بیند و درنهایت باعث کاهش میزان کلروفیل برگ گیاهان می‌شود. به‌نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی به‌علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌شوند (۴۸). یکی دیگر از عوامل کاهش کلروفیل‌ها، رقابت آنزیم گلوتامیل‌کیناز (آنزیم کاتالیزکننده پرولین) و آنزیم گلوتامات‌لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) در شرایط تنش خشکی است که باعث شده تا پیش‌ساز گلوتامات، بیش‌تر به مصرف پرولین برسد و در نتیجه بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه شود (۴۲). هم‌چنین طبق نظر بعضی از محققین (۴۸،۲۱)، کاهش سطوح کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌تواند به‌افزایش فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز)، مربوط باشد. همانند پژوهش حاضر کاهش میزان کلروفیل کل در نتیجه کاهش مقدار هر دو کلروفیل a و b تحت شرایط تنش کم‌آبی در درختان زیتون گزارش شده است (۴۹). ولی براساس نتایج پژوهش‌ها، در اغلب موارد مایه‌کوبی گیاهان با PGPRs در شرایط تنش و بدون تنش، این صفت در گیاهان افزایش یافت (۵۵،۲۸) زیرا این ریزموجودات با مکانیسم‌های مختلف باعث کاهش اثرات منفی تنش‌ها در گیاهان شده و شاخص‌های کمی و کیفی گیاهان را بهبود می‌بخشند (۱). پژوهشگران گزارش نمودند که افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در تیمارهای تلقیحی را می‌توان به‌دلیل جذب فسفر و منیزیم توسط باکتری‌های محرک رشد نسبت داد، چراکه رهاشدن و بیرون آمدن تریوزفسفات‌ها از کلروپلاست به‌وسیله فسفر تنظیم می‌شود و هم‌چنین عنصر منیزیم نیز جزء هسته مرکزی کلروفیل می‌باشد در نتیجه میزان سبزینگی برگ توسط این عناصر افزایش می‌یابد (۲۵). باکتری‌های با توانایی انحلال فسفات با تولید ترکیبات اسیدی نه‌تنها حلالیت فسفر را افزایش می‌دهند، بلکه باعث افزایش جذب آهن و منیزیم که از عناصر ضروری برای ساخت کلروفیل است نیز می‌شوند (۱۹)، پس می‌توان افزایش میزان کلروفیل در حضور باکتری‌های محرک رشد گیاه مورد مطالعه در این تحقیق را به این مورد نسبت داد. طبق بررسی‌های انجام شده عنصر نیتروژن علاوه بر شرکت در ساختار اسیدهای آمینه و آنزیم‌ها، یکی از عناصر اصلی تشکیل‌دهنده حلقه تتراپیرول کلروفیل می‌باشد. به‌علاوه افزایش این عنصر در گیاه از یک‌سو سبب افزایش میزان آمونیوم و از سوی دیگر سبب افزایش آنزیم‌های گلوتامات سنتتاز و گلوتامین‌سنتتاز دخیل در تولید کلروفیل شده و باعث افزایش میزان آن در گیاه می‌گردد (۳۶)، بنابراین استفاده از باکتری‌های محرک رشد با تثبیت نیتروژن هوا (جدایه BMix)، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. در گزارشی دیگر افزایش در محتویات کلروفیل برگ‌ها در گیاهان تیمار شده با جدایه‌های باکتری محرک رشد، به‌فعالیت آنزیم ACC–دآمیناز و به‌تبع کاهش سطح اتلین تنشی و کاهش خسارت به کلروفیل نسبت داده شد (۵۳). اکسین نیز نقش قابل توجهی در افزایش محتوای کلروفیل ایفا می‌کند (۱۶). در پژوهش حاضر، جدایه (BMix) بیش‌ترین افزایش در میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل را باعث شده که علت اصلی این اثرات مثبت را می‌توان به ویژگی‌های چندگانه محرک رشدی این سویه‌ها (جدول ۱) نسبت داد.

مقدار فنل کل

نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی میزان فنل کل در نونهال‌های بلوط افزایش یافت، به‌طوری‌که در تنش کم‌آبی ۴۰٪ مقدار فنل کل به‌طور معنی‌داری ۲۹/۹۱ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ هم مقدار فنل کل افزایش یافت ولی این تفاوت نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. در فاکتور تلقیح باکتریایی، در تیمار ظرفیت مزرعه، هیچ‌کدام از تیمارهای باکتری اختلاف آماری معنی‌داری با شاهد خود نداشتند. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ فقط سویه باکتری (B2) باعث افزایش معنی‌دار ۱۶/۶۷ درصدی مقدار فنل کل نسبت به تیمار شاهد شد، هم‌چنین سویه باکتری (B4) نیز باعث افزایش مقدار فنل کل نسبت به تیمار شاهد شد ولی این تفاوت معنی‌دار نبود، سایر جدایه‌های باکتری اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. در تنش کم‌آبی ۴۰٪ فقط سویه باکتری (B1) باعث افزایش معنی‌دار ۱۷/۱ درصدی مقدار فنل کل نسبت به تیمار شاهد شد، هم‌چنین تیمارهای (B2) و (B4) نیز باعث افزایش مقدار فنل کل نسبت به تیمار شاهد شدند ولی این تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۴). تغییر در مقدار غلظت ترکیبات فنلی از جمله سازگاری‌های بیوشیمیایی است که درختان بلوط برای مقاومت در برابر کم‌آبی از خود بروز می‌دهند (۵۴). بررسی‌های انجام شده نشان داده است که هر گونه تنش در گیاه مقدار ترکیبات فنلی را افزایش می‌دهد، ترکیبات فنلی گیاهان از متابولیت‌های ثانویه هستند که طی مسیر فنیل پروپانوئید تولید می‌شوند و به‌دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن به‌کمک آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز دارند (۲۶). افزایش ترکیبات فنلی در اثر تنش خشکی، احتمالاً به‌دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد تولید شده می‌باشد. تحقیقی روی نهال‌های گونهٔ *Pinus ponderosa* نشان داد که ترکیبات فنلی در شرایط آبیاری معمول یا کنترل نسبت به زمانی‌که نهال‌ها تحت تنش قرارگرفته بودند، کم‌تر شد (۵۶). در این تحقیق سویه باکتری *Bacillus anthracis* توانست باعث افزایش معنی‌دار میزان فنل کل تحت شرایط تنش کم‌آبی شود علت اصلی این اثر مثبت را می‌توان به ویژگی‌های چندگانه محرک رشدی این سویه نسبت داد که در (جدول ۱) آمده است. وجود IAA در یک باکتری بیان‌گر اثربخشی مناسب جهت مقاومت در برابر تنش در گیاه می‌باشد

(۱۱). تخمین زده شده است که ۸۰ درصد باکتری‌های ایزوله شده از ریزوسفر قادر به تولید IAA هستند. مشخص شده است که بین میزان فنل کل و هورمون اکسین برهم کنش‌هایی وجود دارد که می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً به همین دلیل سویه باکتری *Bacillus anthracis* منجر به افزایش فنل در نونهال‌های بلوط می‌شود (۳۹). ازآن‌جایی‌که ترکیبات فنلی از جمله فنل کل از طریق مسیر فنیل‌پروپانوئید ساخته می‌شود و آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز آنزیم کلیدی این مسیر متابولیکی مهم است می‌توان تجمع این مواد را مربوط به القای این آنزیم توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه دانست (۳۹،۳۰).

مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد

نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد نونهال‌ها افزایش یافت، به طوری‌که در تنش کم‌آبی ۴۰٪ مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به‌طور معنی‌داری به بیش از صد درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ هم مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به‌طور معنی‌داری ۹۲/۴۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ولی مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در سطوح تیمار تنش کم‌آبی ۴۰ و ۶۰ درصد با هم اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. در فاکتور تلقیح باکتریایی، در تیمار ظرفیت مزرعه، تمامی تیمارهای باکتری (به استثنای تیمار باکتری BMix) باعث افزایش معنی‌دار مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد نونهال‌ها نسبت به تیمار شاهد شدند که بیش‌ترین مقدار این صفت مربوط به سویه باکتری (B2) بود که باعث افزایش معنی‌دار ۹۶/۶۱ درصدی مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد نسبت به تیمار شاهد شد، البته کاهش مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در تیمار باکتری (BMix) نیز نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. در تنش کم آبی ۶۰٪ و ۴۰٪ هیچ‌کدام از جدایه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری نسبت به شاهد خود نداشتند (جدول ۴). در شرایط تنش خشکی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند به علت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در محیط سلول و افزایش میزان پراکسیدهیدروژن باشد که باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیک سلول می‌شود و سیستم ضداکسیداتیو را فعال می‌کند (۴۴). هر چقدر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه زیاد باشد آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در اثر تنش تولید می‌شود کم‌تر خواهد شد (۲۷). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن (از جمله تبدیل O_2^- به H_2O_2 و سپس H_2O) از اکسیداسیون مولکول‌های زیستی حیاتی سلول جلوگیری کرده و مانع بروز تنش اکسیداتیو و یا تخفیف اثرات آن در سلول‌های گیاه می‌شوند (۱۷). در پژوهشی مشابه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، با افزایش شدت تنش خشکی در برگ و ریشه درختان زیتون افزایش یافت (۴۹). ریزوباکتری‌های تحریک کننده رشد گیاهان با ترکیباتی که در شرایط تنش تولید می‌کنند ازجمله سیتوکنین و آنتی‌اکسیدان از تجمع آبسزیک اسید ممانعت و موجب تخریب گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند و از این طریق سبب بهبود رشد گیاه تحت شرایط خشکی می‌شوند (۳). لازم به‌ذکر است که همانند نتایج تحقیق حاضر صالحی و همکاران (۴۶) در بررسی اثر باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* 1732 دریافتند که باکتری اثر معنی‌داری بر روی مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد نداشت.

مقدار مالون‌دی‌آلدئید

نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار مالون‌دی آلدئید در نونهال‌ها افزایش یافت، به‌طوری‌که در تنش کم‌آبی ۴۰٪ مقدار مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری ۱۰۰ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در تنش کم‌آبی ۶۰٪ هم مقدار مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری ۳۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در فاکتور تلقیح باکتریایی، در تنش کم‌آبی ۶۰٪، جدایه‌های باکتری (B2) و (B3) باعث کاهش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد خود شدند و در تنش کم‌آبی ۴۰٪ جدایه‌های باکتری (B4) و (BMix) باعث کاهش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد خود شدند (جدول ۴). گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاهای سلولی باعث شکسته‌شدن پیوندهای بین مولکول گلیسرول و اسیدهای چرب شده که به‌دنبال آن بیومارکر مالون‌دی‌آلدئید تولید می‌شود که هرچه میزان آن در گیاه افزایش یابد نشان‌دهنده شدت آسیب تنش‌ها ازجمله تنش خشکی است. جهت مقابله با گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی، گیاه با استفاده از سیستم دفاع آنزیمی باعث جاروب‌کردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. همانند نتایج پژوهش حاضر، در تحقیقی مقدار مالون‌دی‌آلدئید در دو جمعیت بلوط ایرانی، تحت تأثیر تنش خشکی افزایش یافت (۲۰). با وجود این‌که فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در نونهال‌های بلوط در اثر تنش خشکی افزایش یافت، به‌نظر می‌رسد دلیل افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید کافی‌نبودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده باشد. پایین بودن میزان بیومارکر MDA در تیمار مصرف توأم باکتری‌ها به‌دلیل استفاده این باکتری‌ها از سازوکارهای مختلف جهت بهبود رشد و تحمل نونهال‌ها در شرایط تنش کم‌آبی می‌باشد. احتمالاً این نتیجه نشان‌دهنده این مطلب است که باکتری‌ها اثر تنش خشکی را از طریق مکانیسم دفاعی دیگری به‌غیر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاهش می‌دهند که از بالارفتن حجم MDA جلوگیری کرده است (۴۴). از سوی دیگر علت کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه را می‌توان در نتیجه عملکرد ایندول‌استیک‌اسید تولید شده توسط این جدایه‌ها (جدول ۱) در از بین‌بردن رادیکال‌های فعال‌اکسیژن دانست، که احتمال می‌رود این هورمون با تأثیر بر روی فعالیت آنزیم‌های پالاینده رادیکال‌های آزاد موجب کاهش در محتوای رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسیدهیدروژن گردیده است و از فعالیت لیپوکسیژناز و تجزیه اسیدهای چرب غشاء جلوگیری کرده است (۳۲).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق آشکار کرد که تنش کم‌آبی در نونهال‌های بلوط ایرانی باعث کاهش کلروفیل a، b و کلروفیل کل و افزایش دیگر صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه شد، اما تلقیح ریشه با باکتری‌های محرک رشد گیاه حتی در شرایط تنش کم‌آبی شدید می‌تواند باعث بهبود قابل ملاحظه‌ای در رشد و عملکرد این نهال‌ها در شرایط تنش آبی (و نیز بدون تنش آبی) شود. به‌طورکلی از بین تیمارهای باکتریایی، تیمار باکتری (BMix) باعث افزایش میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و تیمار باکتری *Bacillus anthracis* باعث افزایش میزان پرولین، فنل کل و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد تحت تنش شدید کم‌آبی شدند. از این رو، استفاده از آن‌ها به‌عنوان یک استراتژی مفید و مقرون‌به‌صرفه می‌تواند برای تلقیح نهال این گونه با اهداف تولید نهال در نهالستان‌ها مدنظر قرار گیرد. چنین تحقیقی می‌تواند در عرصه‌های طبیعی در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور انجام شود تا در صورت حصول نتایج مساعد، کاشت آن در شرایط طبیعی رویشگاه به‌کار گرفته شود. ازآن‌جایی‌که عوامل اکولوژیکی که بر روی فیزیولوژی نونهال‌های بلوط ایرانی تأثیر می‌گذارد در سال‌ها و مکان‌های مختلف، متفاوت ظاهر می‌شود، پس تکرار آزمایش‌ها برای درک جامع‌تر رفتار این باکتری‌ها در شرایط تنش کم‌آبی توصیه می‌شود.

منابع

1. Ahkami, A., R.A. White, P.P. Handakumbura and C. Jansson. 2017. Rhizosphere engineering: enhancing sustainable plant ecosystem productivity in a challenging climate. Rhizosphere, 3: 233-243.
2. Ali, S.Z., V. Sandhya and L.V. Rao. 2014. Isolation and characterization of drought-tolerant ACC deaminase and exopolysaccharide- producing *fluorescent Pseudomonas* sp. Annals of Microbiology, 64(2): 493-502.
3. Al-Karaki, G.N. 1998. Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. Mycorrhiza, 8: 41-45.
4. Amini, S., C. Ghobadi and A. Yamchi. 2015. Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. Journal of Plant Molecular Breeding, 3(2): 44-55.
5. Andrew, K.B., G.L. Hammer and R.G. Henzell. 2000. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. Crop Science, 40(4): 1037-1048.
6. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112-121.
7. Awais, M., M. Tariqa, A. Ali, Q. Ali, A. Khan, B. Tabassum, I.A. Nasir and T. Husnain. 2017. Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizingbacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 11: 312-21.
8. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant soil, 39(1): 205-207.
9. Biglouie, M.H., M.H. Assimi and A. Akbarzadeh. 2010. Effect of water stress at different stages on quantity and quality traits of Virginia (flue cured) tobacco type. Plant Soil Environment, 2: 67-75.
10. Blum, A. 2011. Plant Breeding for Water-Limited Environments. Springer, New York.
11. Boiero, L., D. Perrig, O. Masciarelli, C. Pena, F. Cassán and V. Luna. 2007. Phyto-hormone production by strains of *Bradyrhi-zobium japonicum* and possible physiologi-cal and technological implications. Applied Microbiology of Biotechnology, 74(4): 874-880.
12. Barraclough, P.B., H. Kuhlmann and A.H. Weir. 1980. The effects of prolonged drought and nitrogen fertilizer on root and shoot growth and water uptake by winter wheat. Journal of Agronomy and Crop Science, 163(5): 352-360.
13. Cardoso, I.M. and T.W. Kuyper. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agriculture, Ecosystems and Environment, 116: 72-84.
14. Donate-Correa, J., M. Leon-Barrios and R. Perez-Galdona. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage treeshrub legume endemic to the Canary Island. Plant Soil, 266: 261-272.
15. Fathi, F., R. Saberi-Riseh and M. Moradi. 2016. Efficacy of Pseudomonas strains on moderate drought stress on growth and physiological characteristics of pistachio cultivars. Control Biological of Pests and Plant Diseases, 5(2): 163-176 (In Persian).
16. Hanaa, H. and A. Safaa. 2019. Foliar application of IAA at different growth stages and their influenced on growth and productivity of bread Wheat (*triticum aestivum* l.). Journal of Physics, 1294(9): 920-929.
17. Hasanuzzaman, M., M. Bhuyan, T.I. Anee, K. Parvin, K. Nahar, J.A. Mahmud and M. Fujita. 2019. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. Antioxidants, 9(8): 384-390.
18. Heath, R.L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives Biochemistry Biophysics, 125: 850-857.
19. Honma, M. and T. Shimomura. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Agricultural and Biological Chemistry, 42(10): 1825-1831.

20. Jafarnia, S., M. Akbarinia, B. Hosseinpour, S.A.M. Modarres Sanavi and S.A. Salami. 2018. Effect of drought stress on some growth, morphological, physiological, and biochemical parameters of two different populations of *Quercus brantii*. Forest-Biogeosciences and Forestry, 11: 212-220.
21. Jiang, Y. and N. Huang. 2001. Drought and heat stress injury to two cool season furfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41(2): 436-442.
22. Kabrick, J.M., D.C. Dey, R.G. Jensen and M. Wallendorf. 2008. The role of environmental factors in oak decline and mortality in the Ozark Highlands. Forest Ecology and Management, 255(5-6): 1409-1417.
23. Karlidag, H., A. Esitken, M. Turan and F. Sahin. 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient elements contents of leaves of apple. Scientia Horticulture, 114: 16-20.
24. Karmer, P.G. and T.T. Koslovski. 1979. Physiology of woody plants. Academic Press, New York.
25. Khaldbarin, B. and T. Islamzadeh. 2005. Mineral nutrition of excellent plants. 2st edn, Shiraz University Press. 902 pp (In Persian).
26. Ksouri, R., W. Megdiche, H. Falleh, N. Trabelsi, M. Boulaba, A. Srnaoui and C. Abdelly. 2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. Comptes Rendus Biologies, 331(11): 865-873.
27. Lata, C., J. Sarita, N. Sreenivasulu and M. Prasad. 2011. Differential antioxidative responses to ehydration-induced oxidative stress in core set of foxtail millet cultivars. Protoplasma, 248(4): 817-828.
28. Li, H., P. Lei, X. Pang, S. Li, H. Xu, Z. Xu and X. Feng. 2017. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant *Enterobacter cloacae* HSNJ4. Applied Soil Ecology, 119: 26-34.
29. Marvi Mohajer, M.R. 2012. Silviculture. University of Tehran Press, 417 pp (In Persian).
30. Maxwell, C.A., U.A. Hartwig, C.M. Joseph and D.A. Phillips. 1989. Chalcone and two related flavonoids from alfalfa roots induce nog genes of Rhizobium meliloti. Plant Physiology, 91: 842-847.
31. Moreira, H., S.I.A. Pereira, A.P.G.C. Marques, A.O.S.S. Rangel and P.M.L. Castro. 2019. Effects of soil sterilization and metal spiking in plant growth promoting rhizobacteria selection for phytotechnology purposes. Geoderma, 334: 72-81.
32. Motohashi, N. 2006. The lutein preventation and treatment for age-related diseseases. Biological Sciences, 8: 187-256.
33. Mustafa, Y. and S.B. Canbolat. 2006. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. Biology and Fertility of Soils, 42(4): 350-357.
34. Nagananda, G.S., A. Das, S. Bhattacharya and T. Kalpana. 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (*Azotobacter* and *Rhizobium*) on seed germination and development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. International Journal of Botany, 6: 394-403.
35. Naseem, H. and A. Bano. 2014. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. Journal of Plant Interaction, 9: 689-701.
36. Nepomuceno, A.L., D. Oosterhuis, J. Stewart, R. Turley, N. Neumaier and J.R.B. Farias. 2002. Expression of heat shock protein and trehalose-6-phosphate synthase homologues induced during water deficit in cotton. Brazilian Journal of Plant Physiology, 14(1): 11-20.
37. Patten, C.L. and B.R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of host plant root system. Applied and environmental microbiology, 68(8): 3795-3801.
38. Penrose, D.M. and B.R. Glick. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiologia Plantarum, 118: 10-15.
39. Petter, N.K. and D.P.S. Varma. 1990. Phenolic compounds as regulators of gene expression in plant-microbe interaction. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal, 3: 4-8.
40. Qaseem, M.F., R. Qureshi and H. Shaheen. 2019. Efects of pre-anthesis drought, heat and their combination on the growth, yield and physiology of diverse wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes varying in sensitivity to heat and drought stress. Scientific reports, 9(1): 1-12.
41. Rahiminasab, A. and A. Tabandeh Saravi. 2017. Effect of seed source on germination and morphology of seed and seedlings of *Quercus brantii* Lindl. Forest Research and Development, 3(3): 249-262 (In Persian).
42. Ramak, M., R. Khavari Nejad, H. Hidari Sharifabad, M. Rafiee and K. Khademi. 2014. The effect of water stress on dry weight and photosynthetic pigments in two sainfoin species. Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14(2): 80-91 (In Persian).
43. Ramroudi, M. and A.R. Khomr. 2013. Interaction effects of salicylic acid spraying and different irrigation levels on some quantity and quality traits, and osmoregulators in basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology, 1(1): 19-31.
44. Reddy, A.R., K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161(11): 1189-1202.

45. Saha, K., N.H. Lajis, D.A. Israf, A.S. Hamzah, S. Khozirah, S. Khamis and A. Syahida. 2004. Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plant. Journal of Ethnopharmacology, 92: 263-267.
46. Salehi, K., M. Solouki and M. Tanha. 2017. Tudy the effects of plant prowth promoting bacteria and salicylic acid in green mint (*Mentha spicata* L.) under drought stress conditions. Journal of Modern Genetics, 12(2): 241-252 (In Persian).
47. Salem, G., M.E. Stromberger, P.F. Byrne, D.K. Manter, W. El-Fekid and T.L. Weir. 2018. Genotype-specific response of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) to irrigation and inoculation with ACC deaminase bacteria. Rhizosphere, 8: 1-7.
48. Schutz, M. and A. Fangmeir. 2001. Growth and yield responses of spring wheat to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution, 114(2): 187-194.
49. Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis and A. Masia. 2005. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology, 32: 45-53.
50. Sparks, D.L. 1996. Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. SSSA, Madison, WI., USA.
51. Sperber, J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research, 9(6): 778-781.
52. Talebi, M., Kh. Sagheb-Talebi and H. Jahanbazi. 2006. Site demands and some quantitative and qualitative characteristics of Persian Oak (*Quercus brantii* Lindl.) in Chaharmahal & Bakhtiari Province (western Iran). Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 14(1): 67-79 (In Persian).
53. Teng, S., Y. Liu and L. Zhao. 2010. Isolation, identification and characterization of ACC deaminase-containing endophytic bacteria from halophyte *Suaeda salsa*. Journal of Acta Microbiologica Sinica, 50(11): 1503-1509.
54. Thomas, F.M. and C. Schafellner. 1999. Effects of excess nitrogen and drought on the foliar concentrations of allelochemicals in young oaks (*Quercus robur* L. and *Q. petraea*) [Matt.]. Liebl. Journal of Applied Botany, 76(3): 222-227.
55. Vimal, S.R., V.K. Patel and J.S. Singh. 2018. Plant growth promoting *Curtobacterium albidum* strain SRV4: An agriculturally important microbe to alleviate salinity stress in paddy plants. Ecological Indicators, 105: 553-562.
56. Wagner, M.R. 1986. Influence of moisture stress and induced resistance in ponderosa pine, Pinus ponderosa Dougl. Ex. Laws, on the pine sawfly, Neodiprion autumnalis Smith. Forest Ecology and Management, 15(1): 43-53.
57. Wojdylo, A., J. Oszmianski and R. Czemerys. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, Food Chem, 105: 940-949.
58. Zarik, L., A. Meddich, M. Hijri, M. Hafidi, A. Ouhammou, L. Ouahmane, R. Duponnois and A. Boumezzough. 2016. Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica* G. Comptes Rendus Biologies, 339: 185-196.

The Effect of Inoculation Brant's Oak (*Quercus brantii* L.) Seed with Plant Growth-Promoting Bacteria on Some Physiological Traits of Seedling under Different Levels of Water-Deficit Stress

Mehri Khosravi[1], Mehdi Heydari[2], Hossein Ali Alikhani[3] and Asghar Mosleh Arani[4]

1- Ph.D. Student of forestry, Faculty of Agricultural, Ilam University, Ilam, Iran
2- Associate Professor, Faculty of Agricultural, Ilam University, Ilam, Iran,
(Corresponding author: m.heidari@ilam.ac.ir)
3- Professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran
4- Associate Professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Yazd University, Iran
Received: 1 March, 2021 Accepted: 10 July, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: The use of biofertilizers such as plant growth-promoting bacteria to reduce damage caused by water-deficit stress in plants and improve physiological factors and thus increase plant growth in arid and semi-arid regions is an essential management to control water-deficit stress. Therefore, this study was conducted to investigate the simultaneous effect of different levels of water-deficit stress and inoculation of plant growth-promoting bacteria on some physiological traits of Brant's Oak (*Quercus brantii* L.) seedlings.

Material and Methods: In order to investigate the effect of plant growth-promoting bacteria and different levels of irrigation on some physiological traits of oak) Quercus *brantii* L.) seedlings, an experiment was conducted in a complete randomized design with five replications in the research greenhouse of Yazd University. The main factor was three irrigation levels (80 % of full irrigation as control, 60 and 40 % of full irrigation) and the sub-factor was six levels of plant growth promoting bacteria (no inoculation as control and seed inoculation with *Bacillus anthracis*, *B. licheniformis, Stenotrophomonas maltophilia, B. cereus* and BMix (combination of 4 strains)).

Results: The results of analysis of variance showed a significant effect of water deficit stress levels, bacterial treatments and their interaction on all studied traits. The results of comparison of means showed that the amount of chlorophyll a, b and total chlorophyll decreases with increasing levels of water-deficit. In contrast, the amount of proline, total phenol and percentage of free radical scavenging in oak seedlings under stress increased significantly compared to the control sample. The accumulation of malondialdehyde (MDA) that shows the rate of degradation and peroxidation of membrane lipids were significantly increased by water-deficit treatments, while application of PGPRs caused reduction in malondialdehyde content. These results showed that PGPRs can reduce negative effects on lipids peroxidation and thus increases the resistance of seedlings to water-deficit stress conditions.

Conclusion: In general, among the bacterial treatments, (BMix) bacterial treatment increased chlorophyll a and b, total chlorophyll and decreased malondialdehyde and *Bacillus anthracis* bacterial treatment increased proline, total phenol and percentage of free radical scavenging under water-deficit severe stress.

Keywords: Biofertilizer, Oak, Rhizobacteria, Water stress, Zagros forests