

Research Article

Effect of *Bacillus simplex* as a Growth Promoting Bacterium on Some Growth Characterisite of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Seedling at Different Water Conditions

E Karimi^{*1}, AA Aliloo², S B Mosavi³

Received: October 21, 2023

Accepted: June 5, 2024

Revised: May 17, 2024

Published online: September 22, 2024

1-Assist. Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Soil Science Department, University of Maragheh, Iran.

2-Associ. Prof. of Crop Physiology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran.

3-Associ. Prof. of Soil Genesis, Classification and Evaluation, Soil Science Department, University of Maragheh, Iran.

* Corresponding Author' Email: sm_ka80@yahoo.com

Abstract

Background and Objectives

Water shortage and the occurrence of drought is a major challenge in agriculture. By 2050, Iran will experience a 2.6 °C increase in temperature and a 35% decrease in rainfall. Plant growth promoting bacteria could alleviate the water stress effect on crops. Auxin and ACC-deaminase produced by bacteria, are best known for their mechanisms of action, but recently the bacterial extracellular polysachrids (EPS) were also considered. EPS could support bacterial life by absorbing water and keeping the hydrative environment around bacteria. In such situations, plants are indirectly affected by increasing available water as well as getting enough time to genetic responses to water deficit. Bacteria of the genus *Bacillus* are considered as one of the most important microbes in the rhizosphere of plants. Their ability to form dormant spores resistant to heat and dehydration makes them a desirable option in biofertilizers production. Moreover, using extracellular polymer producing strains for plants inoculation may be more successful compared to other bacteria. So far, no study has been reported on the effect of EPS producing *Bacillus simplex* inoculation on plants growth. Therefore, this research was carried out to investigate the effect of this bacterium on pepper seedling under different watering regims.

Methodology

Bacillus simplex selected as a plant growth promoting bacterium (PGPB) due to the ability of auxin and ACC-deaminase production. This bacterium was obtained from the Soil Biology Lab Collection at the University of Maragheh. Its tolerance to water shortage and EPS production was evaluated by culturing it on nutrient agar medium amended with polyethylene glycol (PEG) to simulate water stress conditions. To assess the effects of EPS-producing *B. simplex* on pepper growth, a greenhouse experiment was conducted. The experiment was conducted as factorial completely randomised design with three replications. The experimental treatments consisted of *B. simplex* inoculation and three different soil water status, namely 80%, 60%, and 40% of the soil field capacity water content.

The plants were harvested after 50 days of planting and various parameters were recorded. These included total dry weight, leaf surface area, leaf dry weight, root dry weight, root fresh weight, root volume, specific leaf area (SLA), specific leaf weight (SLW), leaf weight ratio (LWR), root length, root surface area, root diameter, and root surface area density.



Findings

Based on visual evaluations, it was observed that the bacterial colonies of *B. simplex* exhibited significant changes under water stress conditions compared to non-stressed conditions. The colony color changed from milky to semi-transparent, and its fluidity and stickiness increased in PEG nutrient agar containing PRG compared to nutrient agar medium.

Its inoculation could significantly increase the total dry weight of aerial organs by 23%, 27% and 46% and the dry weight of the leaves by 15%, 19% and 37%, respectively, under normal watering, moderate and severe water stress conditions. The leaf area increased respectively by 12% and 29% just in the conditions of moderate and severe water stress. Bacterial inoculation in normal watering and medium water stress conditions increased the root dry weight by 37% and 42%, respectively, but the wet weight of root in severe water stress decreased by 28%. The inoculation of studied bacterium caused to increase root volume by 27%, 31% and, 51% and root surface by 16%, 20% and 38% respectively, under normal watering and moderate and severe water stress conditions. Root diameter, root tissue density and root surface density increased by 38%, 29% and 17%, respectively, at severe water stress conditions by bacterial inoculation. The regression relationship between root traits and the total dry weight of the aerial part of pepper showed that there is a direct and significant correlation between them. Root dry weight, root fresh weight, root volume, explanation factor, root length, root surface density, root tissue density, and root surface area showed positive correlations with the total dry weight of the pepper seedlings. The coefficients of determination (R^2) for these relationships were 0.86, 0.86, 0.86, 0.90, 0.91, 0.91, 0.60, and 0.91, respectively. However, there was no correlation between the total dry weight and leaf indicators.

Conclusion

Based on the correlation coefficients between the total dry weight of pepper seedlings and their root and leaf traits, it appears that the increase in yield by *B. simplex* is associated with improvement in the characteristics of both leaves and roots, particularly under severe water stress conditions. Bacterial metabolites, such as auxin, are known to stimulate root growth, root size, weight, and branching, which ultimately leads to a larger soil volume accessible to the plant and improved nutrient availability, thus enhancing overall plant yield. Therefore, based on the results, the use of *B. simplex* might improve the establishment of pepper plants in all soil water conditions, particularly under water deficit conditions.

Keywords: Bacterial morphology, Polyethylene glycol, Root dry weight, Root surface, Water stress

مقاله پژوهشی

تأثیر مایه‌زنی باکتری محرک رشد *Bacillus simplex* بر برخی ویژگیهای رشدی گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.) در شرایط مختلف رطوبتی

اسماعیل کریمی^{۱*}، علی اصغر علیلو^۲، سید بهمن موسوی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۶

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۸ تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

- ۱- استادیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه.
- ۲- دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه.
- ۳- دانشیار پیدایش، رده بندی و ارزیابی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه.

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sm_ka80@yahoo.com

چکیده

باسیلوس‌های محرک رشد با قابلیت تولید پلی‌ساکاریدهای برون سلولی می‌توانند نقش مهمی را در القای مقاومت به تنش کم‌آبی به عنوان شایع‌ترین تنش محیطی در گیاهان ایفا نمایند. برای بررسی این موضوع آزمایشی گلدانی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با مایه‌زنی بذور فلفل قرمز با باکتری محرک رشد *باسیلوس سیمپلکس* با قابلیت تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی در سه سطح رطوبتی شامل ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد گنجایش مزرعه‌ای در گلخانه انجام شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده هر چند تنش خشکی منجر به کاهش وزن خشک گیاه شد، اما مایه‌زنی باکتری باعث افزایش وزن خشک گیاهچه‌های فلفل به میزان ۲۷٪ و ۴۶٪ در شرایط تنش متوسط و تنش شدید آبی نسبت به شرایط شاهد هر تیمار آبی شد. سطح برگ به میزان ۱۲٪ و ۲۹٪ به ترتیب در شرایط تنش متوسط و تنش شدید آبی در اثر مایه‌زنی افزایش یافت. مایه‌زنی باکتریایی در سطوح آبی مطلوب و تنش متوسط به ترتیب باعث افزایش ۳۷٪ و ۴۲٪ وزن خشک ریشه در مقایسه با شرایط بدون مایه‌زنی گردید ولی وزن تر ریشه فقط در تنش شدید آبی با مایه‌زنی باکتری ۲۸٪ کاهش یافت. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات وزن خشک ریشه (۰/۸۶)، وزن تر ریشه (۰/۸۶)، حجم ریشه (۰/۹۰)، طول ریشه (۰/۹۱)، تراکم سطح ریشه (۰/۹۱)، چگالی بافت ریشه (۰/۶۰) و سطح ریشه (۰/۹۱) با عملکرد ماده خشک کل فلفل و همبستگی منفی بین قطر ریشه (۰/۶۱-) با عملکرد ماده خشک کل فلفل وجود داشت. تمامی صفات ریشه‌ای مذکور تحت تأثیر مایه‌زنی باکتریایی در سطوح مختلف رطوبتی قرار گرفتند. بنابر این به نظر می‌رسد مایه زنی باسیلوسهای محرک رشد با قابلیت ترشح پلیمرهای خارج سلولی می‌توانند در روند بهبود رشد در شرایط تنش رطوبتی در گیاه فلفل موثر باشند.

واژه‌های کلیدی: پلی‌اتیلن گلیکول، تنش آبی، سطح ریشه، مرفولوژی کلونی باکتری، وزن خشک ریشه.

مقدمه

پیش‌بینی‌ها حکایت از آن دارند که کمبود آب چالشی جدی برای تولید محصول در بیش از ۵۰ درصد از اراضی قابل کشت دنیا خواهد بود و بروز تغییرات اقلیمی شدت، فراوانی و مدت زمان دوره‌های کم آبی را افزایش خواهد داد (وینکور و آلتمن ۲۰۰۵). تا سال ۲۰۵۰ میلادی کشور ایران ۲/۶ درجه سلسیوس افزایش دما و ۳۵٪ کاهش در بارندگی‌ها را تجربه خواهد نمود (واقفی و همکاران ۲۰۱۹). کمبود آب با تاثیر بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان خسارات زیادی را در کشاورزی ایجاد نموده و امنیت غذایی را با مشکل مواجه خواهد ساخت (مانکوسو و همکاران ۲۰۱۵) بنابراین درک و بهبود بقای گیاهان زراعی در شرایط محدودیت آب از موارد مهمی است که بایستی مورد توجه و مطالعه قرار گیرد (خان و همکاران ۲۰۱۹). صرف‌نظر از توانایی ذاتی گیاهان در مواجهه با تنش کم‌آبی، باکتری‌های فراگرد ریشه که به عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاهان از آنها یاد می‌شود، می‌توانند بر توانایی گیاه در تحمل شرایط سخت محیطی مانند کم آبی اثرگذار باشند. میکروب‌های ریزوسفری جزء جدایی‌ناپذیر از گیاهان بوده و زندگی گیاه را متاثر می‌سازند. تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول ۲-استیک اسید، تولید ACC-دآمیناز برای کاهش سطح اتیلن در ریشه، ایجاد مقاومت سیستمیک ناشی از متابولیت‌های ثانویه و پلیمرهای خارج سلولی به‌ویژه پلی‌ساکاریدهای برون سلولی باکتریایی از شناخته شده‌ترین سازوکارهای اثر آنها به شمار می‌روند (دیمکپا و همکاران ۲۰۰۹). پلی‌ساکاریدهای برون سلولی و کپسولی اجزای اصلی بیوفیلم باکتری‌ها بوده و با مشارکت در تجمع سلولی باکتری برای استقرار باکتری‌ها و چسبندگی به ریشه‌های گیاه محسوب می‌شود، بسیار مهم هستند (فضلی و همکاران ۲۰۱۴). پلیمرهای خارج سلولی با تاثیر بر چرخه آب در خاک می‌تواند بر رشد گیاهان

اثرگذار باشند چرا که پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی باکتریایی و کپسولی یک محیط آبکی در اطراف باکتری‌ها به وجود می‌آورند، که هدر رفت آب را کاهش داده و باعث بقای باکتری‌ها در شرایط تنش آبی می‌شوند (رابرسون و فایرستون ۱۹۹۲). علاوه بر این پلی‌ساکاریدهای اشباع از آب به دلیل افزایش آب قابل دسترس در ریزوسفر و نهایتاً افزایش زمان در دسترس گیاهان برای انجام تنظیمات متابولیکی برای مقابله با تنش آبی، مقاومت گیاه را به خشکی افزایش می‌دهند (دونوت و همکاران ۲۰۱۲). علی و همکاران (۲۰۱۴) با جداسازی باکتری‌های *Sorbusmoung* محرک رشد گیاه دریافتند که تولید پلی‌ساکاریدهای برون سلولی یکی از دلایل توانایی سویه‌های مقاوم در برابر کم‌آبی (پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰ با غلظت ۱۵٪ در شرایط محیط کشت آزمایشگاهی) می‌باشد.

رشد و عملکرد اندام هوایی گیاه بازتابی از توزیع و فعالیت ریشه گیاه در مراحل مختلف رشد بوده و چگونگی توسعه ریشه، در تولید محصولات گیاهی بسیار مهم می‌باشد (لابوسکی و همکاران، ۱۹۸۵ و منگل، ۱۹۸۳). ترشحات ریشه موجب چسبندگی ذرات خاک، تقویت فرآیند تشکیل و پایداری خاکدانه‌ها در خاک می‌شود، همچنین اثبات شده که پلی‌ساکاریدهای باکتریایی می‌توانند بیشتر از ترشحات ریشه همآوری ذرات خاک را تقویت کنند که مستقیماً بر چرخه آب در خاک اثرگذار است (قاسم‌زاده و همکاران ۲۰۲۳). کریمی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که مایه‌زنی جو با باکتری *Bacillus subtilis* سیمپلکس مقاوم به تنش کم‌آبی می‌تواند با بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی ریشه مانند وزن تازه، وزن خشک، حجم، سطح، طول، چگالی بافت و چگالی سطح (سطح ریشه نسبت به حجم ریشه) آن موجب افزایش عملکرد جو در شرایط تنش رطوبتی گردد. نتایج مشابهی با استفاده از مایه‌زنی باکتری *Bacillus subtilis* سیمپلکس محرک رشد گیاه برای گیاه نعنا فلفلی در شرایط تنش آبی با بهبود فعالیت های ریشه و

رشد تولید کننده پلیمرهای خارج سلولی می‌تواند در قیاس با سایر باکتری‌ها در افزایش عملکرد گیاه موفقیت آمیزتر باشد (کانوا و همکاران ۲۰۰۱). مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتری *Bacillus simplex* محرک رشد با ویژگی تولید پلیمر خارج سلولی بر گیاه فلفل در شرایط مختلف رطوبتی انجام شده است

مواد و روش‌ها

انتخاب باکتری و ارزیابی مقاومت آن در شرایط تنش

آبی

در این پژوهش از 31-2 *Bacillus simplex* استفاده شد. باکتری مذکور از ریزوسفر گرامینه‌های علفی و غیرزراعی جداسازی و شناسایی شده است که در حال حاضر در مجموعه باکتریایی آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه مراغه نگهداری می‌شود (کریمی و همکاران ۲۰۱۹). این باکتری می‌تواند به میزان ۶۲ میلی‌گرم بر لیتر ایندول استیک اسید در محیط کشت لوریا بریتانی حاوی ۵ میلی‌مولار تربیتوفان تولید نموده و فعالیت آنزیم ACC-دآمینازی آن به میزان ۰/۲ آلفا-کتوتیرات در ۳۶ ساعت در محیط کشت DF حاوی سوپسترای ۱-آمینوسیکلوپروپان ۱-کربوکسیلیک (ACC) گزارش شده است (کریمی و همکاران ۲۰۱۹).

برای ارزیابی مقاومت این باکتری به تنش آبی از محیط کشت‌های آگار مغذی و مایع مغذی حاوی پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ استفاده شد. جهت ارزیابی مقاومت باکتری در محیط کشت آگار مغذی، پلی‌اتیلن گلیکول با غلظت ۲۵ درصد (۷/۵- بار) به صورت مجزا اتوکلاو شده و بر روی محیط کشت آگار مغذی در زیر هود میکروبی قرار گرفت و پس از آنکه پلی‌اتیلن گلیکول جذب محیط آگار مغذی شد، مایع رویی دور ریخته شد. پس از خشک شدن کامل سطح محیط کشت باکتری به صورت نقطه‌ای در آن کشت شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شد و رشد کلنی‌های آن به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت

آنزیم‌های آنتی اکسیدانت گزارش شده است (کریمی ۲۰۲۲).

علاوه بر ریشه، برگ‌های گیاهان به عنوان منشأ فرآوری ماده خشک می‌تواند تحت تأثیر مایه‌زنی میکروبی قرار گرفته و عملکرد گیاه را متاثر سازد. مطالعات سه ساله نمسکری و همکاران (۲۰۲۲) که با مایه‌زنی گوجه‌فرنگی با کنسرسیون می از باکتری‌های محرک رشد در دو گروه B2 شامل: *Bacillus* sp. PAR11، *Bacillus* sp. BAR16، *Pseudomonas* sp. 3573 و *Alcaligenes* sp. B3 شامل *MUS04*، *Rhodococcus* sp. BAR03، *Variovorax* sp. BAR04 نشان داده است که فلورسانس کلروفیل، محتوای کلروفیل و دمای پوشش تاج در اثر مایه‌زنی باکتری گروه B3 تغییر پیدا می‌کند و عملکرد گروه B3 در حمایت از گیاه میزبان نسبت به گروه دیگر در شرایط تنش آبی مطلوبتر است.

فلفل قلمی^۱ یکی از محصولات مهم جالیزی در سراسر جهان از نظر اقتصادی به شمار می‌رود. به دلیل ماهیت تند آن معمولاً به عنوان سبزی یا ادویه تازه استفاده می‌شود. علاوه بر این، میوه آن دارای ارزش غذایی عمده و خواص ضد سرطانی است (کلارک و لی ۲۰۱۶). با این حال، این محصول به شدت در برابر تنش‌های غیرزیستی و زیستی، از جمله شوری، خشکی، و عوامل بیماری‌زا حساس است. بنابراین، عملکرد گیاه تحت تأثیر چنین تنش‌هایی قرار می‌گیرد که منجر به زیان اقتصادی می‌شود (داغدن و همکاران ۲۰۱۴).

باکتری‌های جنس *باسیلیوس* یکی از مهمترین میکروب‌های ریزوسفری گیاهان به شمار می‌روند و توانایی آنها در تشکیل اسپوره‌های دوره استراحتی مقاوم به گرما و کم‌آبی آنها را به عنوان گزینه‌ای مطلوب در تهیه کودهای زیستی مطرح می‌نماید (فراول ۲۰۰۵). بعلاوه چنانچه بتوان از انواع سویه‌های مولد پلیمرهای خارج سلولی نیز بهره برد با توجه به اثر تغییرات اقلیمی، مایه زنی گیاهان با انواع باکتری‌های محرک

¹*Capsicum annuum*

(ورسلوز و بری ۲۰۰۴). جهت ارزیابی مقاومت باکتری به تنش آبی در محیط کشت مایع مغذی، پلی اتیلن گلیکول در غلظت ۲۵ درصد به این محیط کشت اضافه و اتوکلاو گردید. ۰/۵ میلی لیتر از محیط کشت مغذی ۱۸ ساعته این باکتری و در حال شیکر برداشت شده و به ۵۰ میلی لیتر از محیط کشت مایع حاوی پلی اتیلن گلیکول اضافه شد. برای رشد در شیکر انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شده و هر دو ساعت ۰/۵ میلی لیتر از آن برداشت شده و OD آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر ثبت شد (گوش و همکاران ۲۰۱۹).

پژوهش‌های گلخانه‌ای

به منظور بررسی تأثیر مایه زنی باکتری بر رشد فلفل، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه انجام شد. تیمارهای این پژوهش شامل سه سطح آبی (۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد گنجایش مزرعه)، دو سطح باکتریایی (مایه زنی B.

simplex و عدم مایه زنی) بودند. خاک لوم شنی (جدول ۱) با اتوکلاو ضد عفونی و ۳ کیلوگرم از آن در گلدان‌های ۴ لیتری ریخته شد. شرایط محیطی گلخانه ۳۰۰۰ لوکس نور، رطوبت ۶۰ درصد، دما ۲۸ درجه سلسیوس بود. با توجه به نتایج تجزیه خاک کود آورده به میزان ۰/۵ گرم به هر گلدان (معادل ۶۰ کیلوگرم کود در یک هکتار خاک زراعی با جرم مخصوص ظاهری ۱/۳ گرم بر سانتی متر مکعب) پیش از کشت به خاک اضافه شد. بذور فلفل (توده محلی) قبل از کشت با وایتکس ۱۰ درصد مارک اکتیو به مدت ۱۰ دقیقه و الكل شرکت رازی به مدت ۴۰ ثانیه گندزدایی شده و به صورت بذر مال با باکتری مایه زنی شدند و هر گلدان حاوی سه گیاهچه بود. تنظیم رطوبت گلدان‌ها پس از تعیین رطوبت گنجایش مزرعه‌ای خاک مورد استفاده، بر اساس تیمارهای آبی این پژوهش به صورت وزنی و با ترازو انجام شد. پس از ظهور گیاهچه‌های فلفل یکسان سازی تعداد بوته‌ها در تمامی گلدان‌ها انجام شده و آزمایش تا مرحله ۸ برگی فلفل ادامه یافت.

جدول - برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش گلدانی.

بافت خاک	رطوبت ظرفیت مزرعه (%)	pH _e	OM (%)	EC _e (dSm ⁻¹)	CCE* (%)	Zn	Fe	K	P
						mg kg ⁻¹			
Sandy loam	24	7.3	0.87	0.85	14	0.97	5.7	297	19

* کربنات کلسیم معادل در خاک (Calcium carbonate equivalent)

اندازه‌گیری ویژگی‌های گیاهی

۵۰ روز پس از شروع آزمایش برداشت محصول هر گلدان به صورت کف بر انجام شد. برگ و ساقه تفکیک شده و پس از اندازه‌گیری وزن تر آنها، جهت اندازه‌گیری وزن خشک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه‌ی سلسیوس در آون قرار داده شدند. قبل از انتقال برگ‌ها به آون سطح برگ نیز اندازه گرفته شد. سطح ویژه برگ (Specific Leaf Area, SLA) با استفاده از رابطه ۱، وزن ویژه برگ (Specific leaf weight, SLW) از رابطه ۲ و نسبت وزن برگ

(Leaf weight ratio, LWR) از رابطه ۳ به عنوان شاخص - های مهم برگ، به شرح زیر محاسبه شدند (لین ۲۰۱۶).
 [۱] نسبت سطح ویژه برگ (LAR) = وزن خشک اندام هوایی (g) ÷ سطح برگ (cm²)
 [۲] سطح برگ (cm²) ÷ وزن خشک کل برگ (g) = وزن ویژه برگ (SLW)
 [۳] وزن خشک کل اندام هوایی (g) ÷ وزن خشک کل برگ (g) = نسبت وزن برگ (LWR)
 جهت مطالعه ریشه خاک گلدان‌ها درون الک دو میلی لیتری

نتایج و بحث

ارزیابی مقاومت باکتری نسبت به تنش آبی

بر اساس ارزیابی‌های چشمی از اشکال کلنی باکتری‌ها، در شرایط تنش آبی شکل ظاهری کلنی باکتری در مقایسه با شرایط بدون تنش به صورت قابل توجهی تغییر پیدا کرد. رنگ کلنی از حالت شیری رنگ به شکل نیمه شفاف تغییر پیدا کرده و سیالیت آن زیاده‌تر شد (شکل ۱). بررسی رشد باکتری در محیط کشت مایع (در شرایط تنش و بدون تنش آبی) نشان داد که باکتری در شرایط بدون تنش رشد بسیار خوبی نسبت به شرایط تنش آبی داشته و تنش آبی موجب طولانی‌تر شدن فاز تاخیری و فاز لگاریتمی رشد شده و همچنین در فاز سکون جمعیت باکتری کمتر از شرایط نرمال می‌باشد (شکل ۲). گوش و همکاران (۲۰۱۹) طبق نتایج مشابه با نتایج مطالعه حاضر، گزارش کردند که منحنی رشد باکتری‌های *Sordomonas* و *Basilus* در شرایط بروز تنش آبی دوره رشد باکتری طولانی‌تر شده و میزان جمعیت نهایی باکتری‌ها نسبت به شرایط عادی کاهش می‌یابد. آنها همچنین گزارش کردند که میزان تولید پلی‌ساکاریدهای برون سلولی در برخی از باکتری‌ها با مقادیر متفاوت زیاده‌تر شده است و در برخی دیگر مقدار پلی‌ساکارید تغییری نداشته است.

به آرامی با آب شهری شسته شدند. پس از حذف زایدات همراه آن، آب اضافی ریشه‌ها با دستمال کاغذی دولایه گرفته شد. وزن تازه ریشه‌ها با ترازوی دقیق تعیین شده و حجم ریشه‌ها با روش جابجایی سیال (آب) به دست آمد. وزن خشک ریشه‌ها پس از قرار گرفتن آن‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس با ترازو تعیین شده و سایر ویژگی‌های ریشه به شرح زیر محاسبه شدند (اخوان و همکاران ۲۰۱۲):

$$[۴] \text{ چگالی بافت ریشه (g cm}^{-3}\text{)} = \text{وزن خشک ریشه (g)} \div$$

$$\text{حجم ریشه (cm}^3\text{)}$$

$$[۵] \text{ طول ریشه}^1 \text{ (m)} = \text{وزن ریشه (g)} \times 0.189$$

$$[۶] \text{ سطح ریشه}^2 \text{ (cm}^2\text{)} = 2 \times 10^{-5} \times (\text{طول ریشه (cm)}) \times$$

$$\pi \times \text{حجم ریشه (cm}^3\text{)}$$

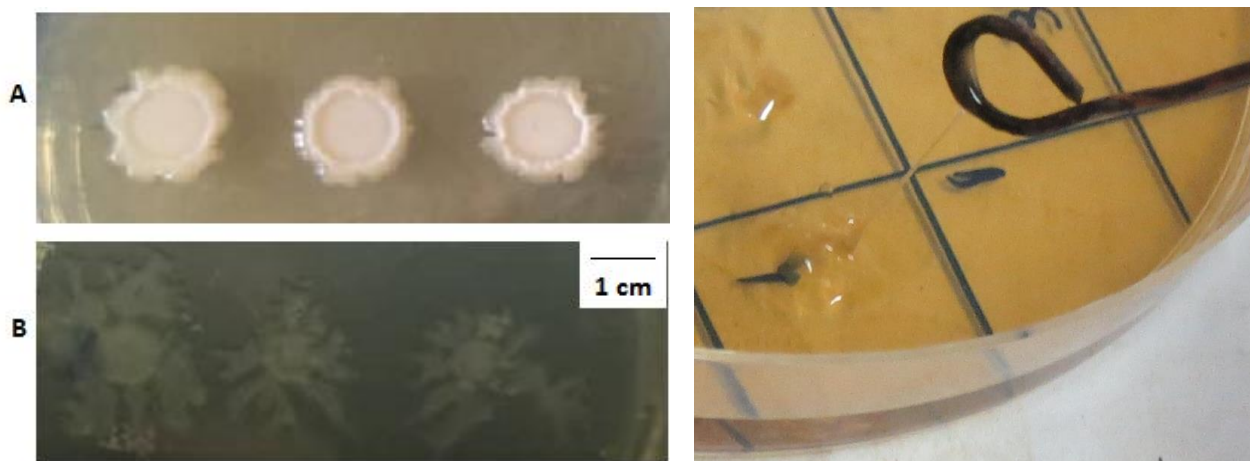
$$[۷] \text{ قطر ریشه}^3 \text{ (mm)} =$$

$$((\pi \times \text{طول ریشه (m)}) \div \text{وزن تازه ریشه (g)} \times 10^4)$$

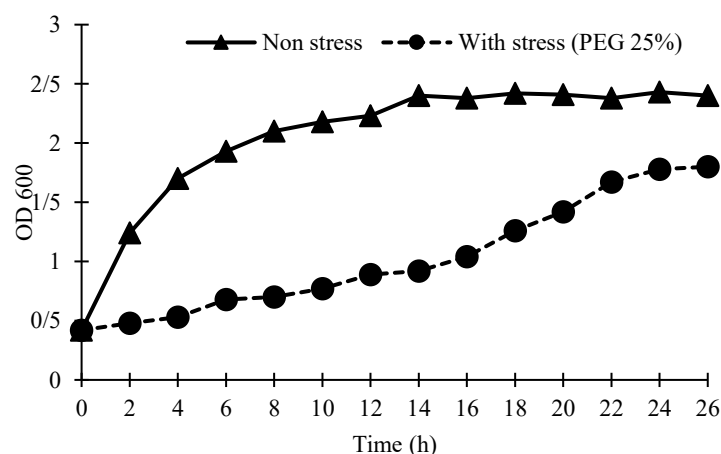
$$[۸] \text{ تراکم سطح ریشه}^4 \text{ (cm}^2\text{ cm}^{-3}\text{)} =$$

$$(\pi \times \text{طول ریشه (m)} \times \text{قطر ریشه (mm)})$$

داده‌های به دست آمده پس از آزمون نرمال بودن، با استفاده از نرم افزار MSTATC تجزیه آماری شدند و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.



شکل ۱- ارزیابی توانایی رشد *B. simplex* در محیط کشت آگار مغذی فاقد پلی اتیلن گلیکول (A) و همراه با پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (B) پس از ۳۶ ساعت (سمت چپ)؛ کشسانی پلیمر خارج سلولی تولید شده توسط باکتری (سمت راست) در شرایط استفاده از پلی اتیلن گلیکول. باکتری در سه تکرار در یک ردیف کشت شده است.

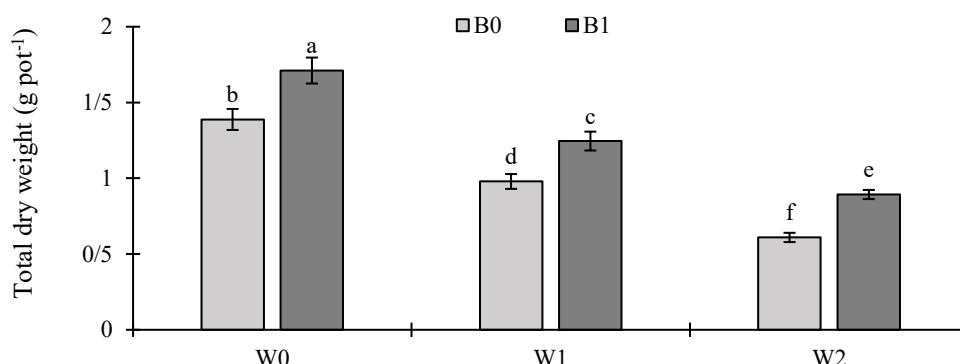


شکل ۲- ارزیابی میزان رشد باکتری *B. simplex* در محیط کشت مایع مغذی بدون پلی اتیلن گلیکول و همراه با ۲۵ درصد پلی اتیلن گلیکول.

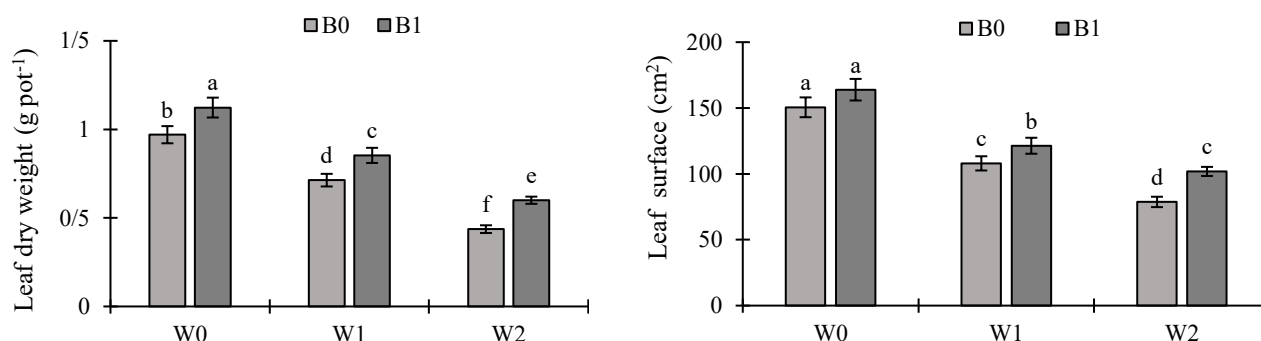
نتایج آزمون گلخانه‌ای

در سطح نرمال آبی از مایه زنی باکتری متاثر نشد ولی به میزان ۱۲٪ و ۲۹٪ به ترتیب در شرایط تنش متوسط و تنش شدید آبی در اثر مایه زنی نسبت به تیمار بدون مایه- زنی در شرایط آبی مشابه افزایش یافت (شکل ۴).

مایه زنی باکتری باعث افزایش معنی دار وزن خشک کل گیاه به میزان ۲۳٪، ۲۷٪ و ۴۶٪ و وزن خشک برگ گیاه به میزان ۱۵٪، ۱۹٪ و ۳۷٪ به ترتیب در شرایط نرمال و تنش متوسط و تنش شدید آبی شد (اشکال ۳ و ۴). سطح برگ

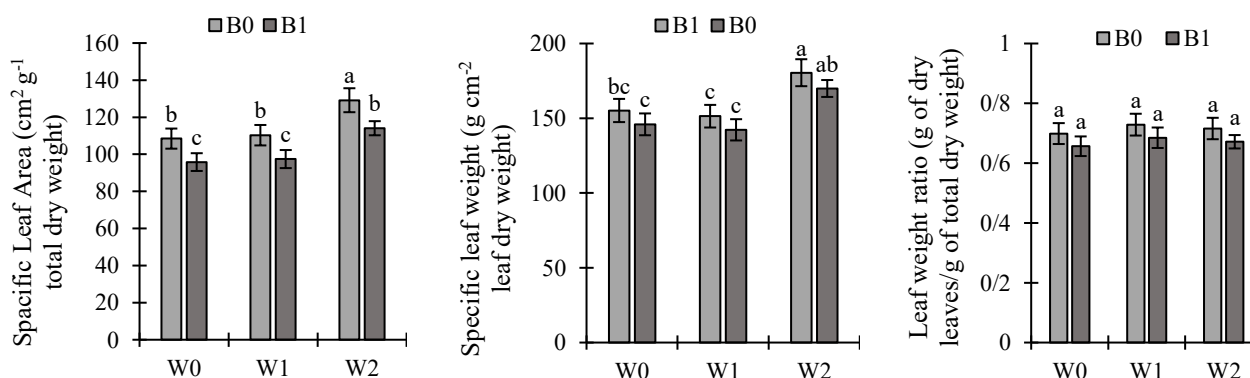


شکل ۳- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن ماده خشک کل نشا فلفل. W0، W1 و W2 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی می‌باشند. B0 بیانگر عدم مایه‌زنی و B1 بیانگر مایه‌زنی با باکتری می‌باشند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.



شکل ۴- میانگین وزن خشک و سطح برگ تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی. W0، W1 و W2 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی و B0 بیانگر عدم مایه‌زنی و B1 بیانگر مایه‌زنی با باکتری می‌باشند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشند.

نسبت وزنی برگ و نسبت سطح ویژه برگ در تمامی سطوح آبی به مایه‌زنی باکتریایی پاسخ ندادند؛ اما وزن ویژه برگ در تمامی تیمارهای آبی به طور متوسط ۱۱٪ در اثر مایه‌زنی باکتری در تمامی سطوح رطوبتی کاهش یافت (شکل ۵).



شکل ۵- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر نسبت سطح برگ (Specific leaf area)، وزن ویژه برگ (Specific leaf weight) و نسبت وزن برگ (Leaf weight ratio) نسبتاً فلغلی. W0، W1 و W2 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی و B0 بیانگر عدم مایه‌زنی و B1 بیانگر مایه‌زنی با باکتری می‌باشند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.

تغییر در ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی برگ‌ها مانند وزن، سطح برگ و محتوی آب برگ، بسته شدن روزنه‌های برگی و اختلال در تبادل گاز و جذب CO_2 ، وقوع تنش اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (لاولور و همکاران ۲۰۰۹) کاهش محتوای کلروفیل به دلیل آسیب به غشای سلول (موران و همکاران ۱۹۹۴) از نتایج وقوع تنش آبی در برگ است، که منجر به کاهش رشد، کاهش فعالیت فتوسنتزی، اختلال در تولید رنگدانه، افزایش کمبود مواد مغذی و تغییر در فعالیت‌های آنزیمی می‌شود (کیم و همکاران ۲۰۱۳). سطح ویژه برگ در پاسخ به تنش آبی کاهش یافته و اندازه برگها کوچکتر می‌شوند (کاسپر و همکاران ۲۰۰۱). با توجه به رابطه مستقیم بین سطح ویژه برگ و مقاومت به خشکی می‌توان از این شاخص جهت ارزیابی فنوتیپ‌های تحت تاثیر میکروارگانیسم‌ها استفاده کرد.

گونه‌هایی گیاهی با مقادیر سطح ویژه برگ پایین اغلب دارای دیواره‌های سلولی ضخیم هستند که با غلظت بالای متابولیت‌های ثانویه همراهی می‌شوند. این تغییرات مرفوفیزیولوژیک باعث افزایش عمر برگ گیاهان در شرایط تنش آبی می‌شوند (موران و همکاران ۲۰۰۳). در مطالعه حاضر افزایش سطح برگ در اثر مایه‌زنی باکتری در شرایط وقوع تنش آبی اتفاق افتاده است (شکل ۶) که نشان دهنده تولید فنوتیپ جدید از گیاه فلفل بود. نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های برگ (شکل ۵) نشان داد که، افزایش سطح فتوسنتز کننده توانسته است تولید ماده خشک را حمایت کند، این پدیده در افزایش وزن خشک گیاه نمایان شد. با توجه به کاهش هدر رفت آب همزمان با افزایش وزن خشک، به نظر می‌رسد مایه‌زنی باکتریایی توانسته است با القای مقاومت سیستمیک به ویژه از طریق کنترل روزنه‌ها به این مهم دست یابد. در مقاومت‌های سیستمیک سایر مکانیسم‌های مقاومت نیز فعال می‌گردد و بطور موازی با سایر عوامل تولیدی باعث بهبود وزن خشک گیاه می‌شوند (اوساکاب و همکاران ۲۰۱۴). بعلاوه مشخص شده که باکتری‌های تولید کننده پلی‌ساکاریدهای

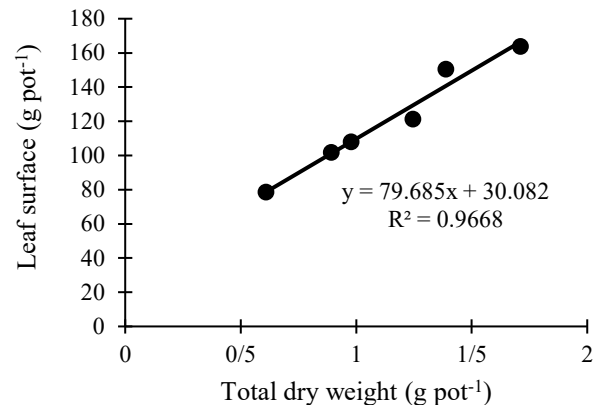
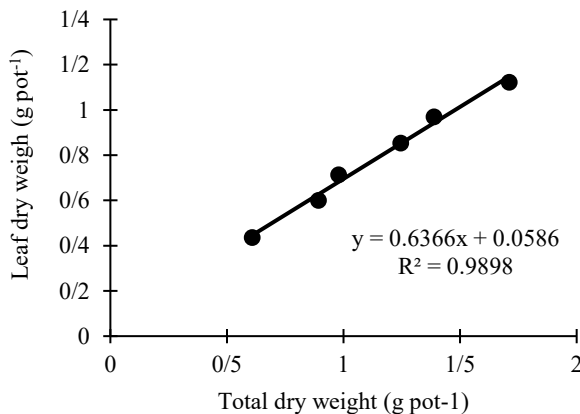
برون سلولی در بهبود کلنیزاسیون ریشه گیاه توسط باکتری‌ها و همچنین حفظ رطوبت و بهبود شرایط فیزیکی اطراف ریشه نقش موثری دارند (نسیم و همکاران ۲۰۱۸). با توجه به تغییرات مشاهده شده در کلنی باکتری مورد مطالعه (شکل ۱) در شرایط تنش آبی این چنین سازوکاری منجر به تعدیل اثرات تنش آبی شده و مانع کاهش سطح برگ و وزن خشک فلفل شود.

ژانگ و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که مایه‌زنی میکروبی می‌تواند شمار برگ در گیاهان را تحت تاثیر قرار دهد. تاکنون درک دقیقی از سازوکار این تغییرات توسط مایه‌زنی باکتری‌ها ارایه نشده است. بررسی روابط رگرسیونی میان وزن خشک کل اندام هوایی نشا فلفل با ویژگی‌های برگ نشان داد که بیشترین ضریب همبستگی با سطح و وزن خشک برگ را دارد (شکل ۶). نتایج مطالعات کریمی (۲۰۲۲) نشان داد که مایه‌زنی نعنا فلفلی با باکتری پری‌باسیلوس سیمپلکس توانست نسبت وزنی برگ و نسبت سطح برگ را افزایش داده و در شرایط تنش کم-آبی باعث افزایش عملکرد آن گردد.

سطح ویژه برگ (SLA) به عنوان نسبت سطح برگ به وزن خشک آن تعریف می‌شود (پورتر و همکاران ۲۰۰۹) و یک صفت مهم برگ است که ارتباط تنگاتنگی با سازوکار مصرف آب یا سازوکار بقا داشته و اغلب برای ارزیابی عملکرد گیاهان در شرایط خشکی استفاده می‌شود (بوشر و همکاران ۲۰۱۷). تغییرات در مقدار این شاخص بطور سیستماتیک بازتابی از توانایی کسب و استفاده از منابع محیطی و توانایی سازگاری با تغییرات در یک گونه، جامعه و اکوسیستم می‌باشد (لیو و همکاران ۲۰۱۷). شاخص SLR انعطاف‌پذیری زیادی در پاسخ به تغییرات محیطی دارد (سایفرت و همکاران ۲۰۱۵). به‌طور طبیعی این شاخص در شرایط نرمال بالاتر بوده و با وقوع تنش میزان آن کاهش پیدا می‌کند (لانگ و دینگ ۲۰۱۱). ژو و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی این شاخص در ذرت تحت تیمارهای تنش آبی گزارش کردند که میزان این شاخص در شرایط کم‌آبی کاهش می‌یابد و مقدار آن با توجه به زمان وقوع

صفات مرفولوژیک موثر در افزایش مقاومت به کم‌آبی توسط مایه زنی با باکتری *باسیلوس سیمپلکس* می‌باشد.

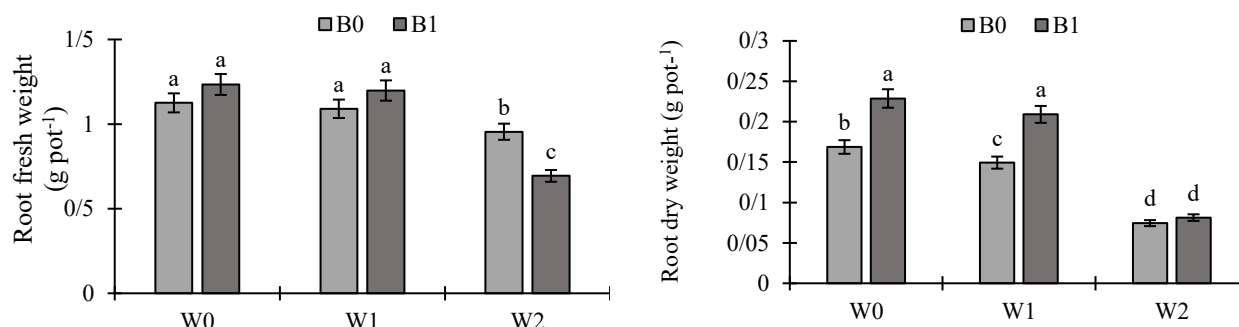
تنش و مرحله رشدی گیاه متغیر می‌باشد. بنابراین تغییرات مشاهده شده در صفات برگ‌گی مورد بررسی در این مطالعه و اهمیت آنها در مقاومت به تنش کم‌آبی، تاییدی بر بروز



شکل ۶ - رابطه رگرسیونی میان وزن خشک کل اندام هوایی نشا فلفل با سطح برگ و وزن خشک برگ. مدل رگرسیونی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار می‌باشند.

باکتری متاثر شده و ۲۸٪ کاهش یافت (شکل ۷). هر چند نتایج بررسی رابطه رگرسیونی بین وزن خشک ریشه و وزن تازه ریشه با وزن خشک کل اندام هوایی نشا فلفل نشان داد که ارتباط مستقیمی میان آنها وجود دارد، اما در شرایط تنش شدید رطوبتی وزن خشک ریشه بدون تغییر مانده ولی وزن تر آن کاهش یافت. با توجه به شکل ۱ و تغییرات کمی و کیفی احتمالی در ترشحات برون سلولی باکتری مایه‌زنی شده به نظر می‌رسد این امر با تشدید تولید این ترشحات در فراگرد ریشه مرتبط باشد. تغییرات وزن تازه علی‌رغم تغییر در وزن خشک ریشه می‌تواند ناشی از شستشوی این ترشحات در فرآیند اندازه‌گیری وزن تازه اتفاق افتاده باشد. بنابراین مطالعه دقیق‌تر با روشهای متناسب‌تر می‌تواند به رد یا قبول این احتمال کمک نماید.

وقوع تنش آبی متوسط و شدید در مقایسه با شرایط نرمال آبی توانست به ترتیب باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه به میزان ۱۱٪ و ۵۵٪ گردد. در حالی که وقوع تنش کم‌آبی متوسط بر وزن تر ریشه بی‌تاثیر ولی در شرایط تنش شدید ۱۵٪ کاهش داد (شکل ۷). ریشه‌ها نقش حیاتی در جذب آب و عناصر غذایی دارند و کاهش شدت فتوسنتز و کاهش سهم ریشه از آسیمیلات‌ها، در شرایط تنش کم-آبی موجب کاهش زیست‌توده ریشه می‌شود (لامبر و همکاران ۲۰۰۲) که برای این مطالعه در شرایط تنش رطوبتی شدید صدق می‌نماید (شکل ۷). مایه‌زنی باکتری در سطح آبی مطلوب و تنش متوسط به ترتیب باعث افزایش ۳۷٪ و ۴۲٪ وزن خشک ریشه در مقایسه با شرایط بدون مایه‌زنی متناسب با هر کدام از سطوح آبی گردید ولی وزن تر ریشه فقط در تنش شدید آبی از مایه‌زنی



شکل ۷- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان ماده خشک و تر ریشه فلفل. W0، W1 و W2 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی و B0 بیانگر عدم مایه زنی و B1 بیانگر مایه زنی با باکتری می باشند. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.

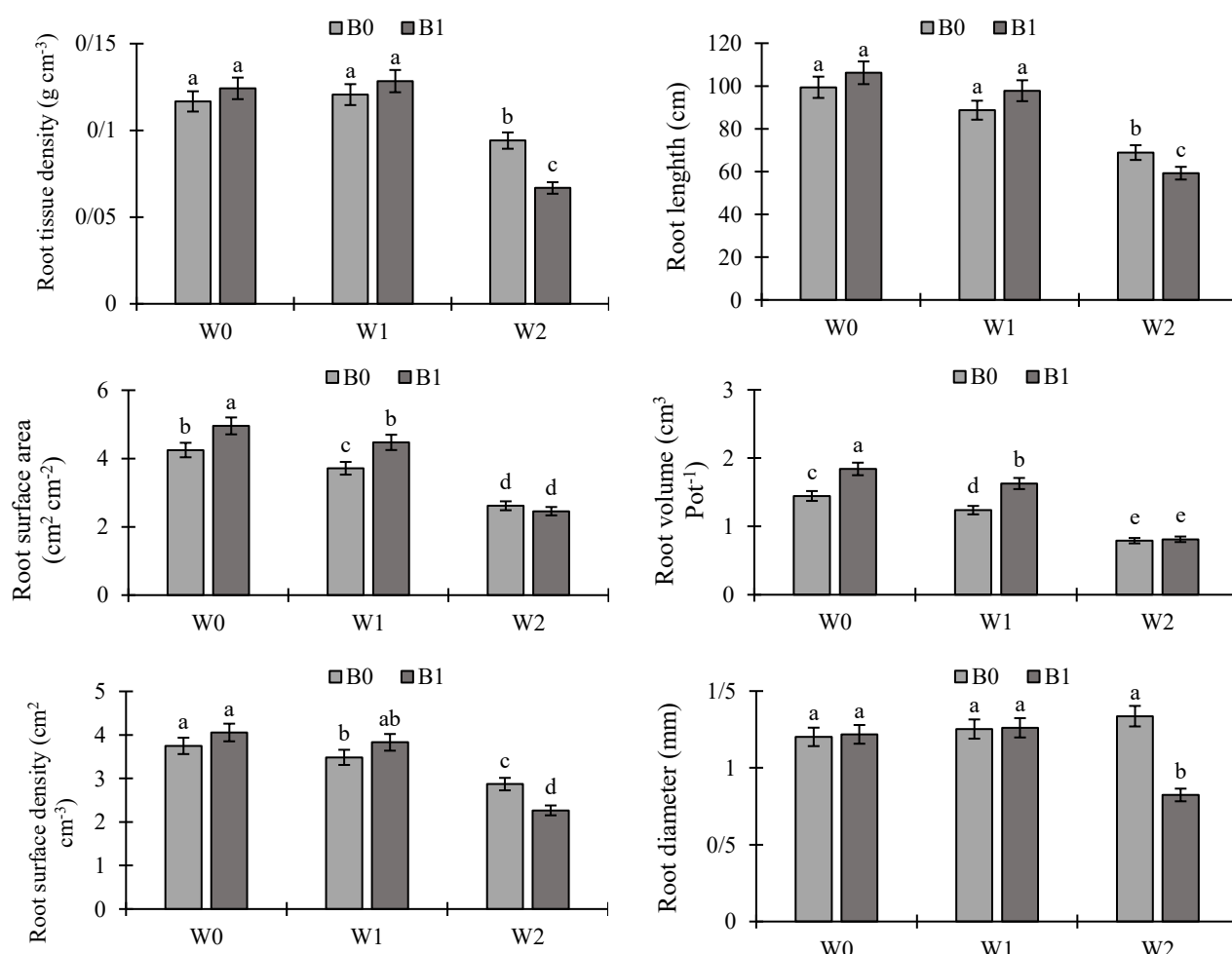
در شرایط تنش رطوبتی متوسط تا شدید به ترتیب ۱۴٪ و ۸۹٪ در مقایسه با شرایط مطلوب رطوبتی کاهش یافت و مایه زنی باکتری توانست باعث افزایش ۱۶٪، ۲۰٪ و ۳۸٪ سطح ریشه در سطح مطلوب، تنش کم آبی متوسط و شدید نسبت به شرایط رطوبتی مشابه باشد (شکل ۸). تراکم سطح ریشه در شرایط تنش کم آبی متوسط نسبت به شرایط نرمال رطوبتی تغییر نمی یابد ولی در شرایط تنش کم آبی شدید ۴۱٪ کاهش پیدا می کند، علی رغم اینکه مایه زنی باکتری در سطح آبی مطلوب و تنش متوسط بر تراکم سطح ریشه بی تاثیر است اما در شرایط تنش کم آبی شدید باعث افزایش ۱۷٪ تراکم سطح ریشه گردید (شکل ۸). گیاه برای تأمین آب مورد نیاز خود در شرایط تنش رطوبتی با تغییر معماری ریشه سعی در جذب آب از مناطق دورتر و منافذ ریزتر خاک دارد. بنابراین ریشه های باریک و طویل که دارای سطح ویژه بیشتری نیز هستند در این شرایط با کارایی بیشتری عمل می کنند. بنابراین مایه زنی باکتری های محرک رشد، با تغییر معماری ریشه به نفع گسترش طول ریشه و افزایش سطح ریشه، موجب افزایش جذب آب توسط ریشه گیاه می شوند (کربمی و همکاران ۲۰۲۲). افزایش سطح ریشه ها از طریق افزایش سطح جذب آب و عناصر غذایی می تواند کارایی جذب آب و عناصر غذایی را افزایش دهد (باحاس و میسر ۱۹۹۹). تغییرات فیتوهورمونی ناشی از مایه زنی

با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۸، تنش کم آبی متوسط بر چگالی بافت ریشه بی تاثیر بود ولی در شرایط تنش کم آبی شدید افت ۳۰٪ نسبت به شرایط مطلوب آبی را نشان داد. مایه زنی باکتریایی در تیمار تنش آبی شدید باعث افزایش ۲۹٪ این ویژگی در مقایسه با تنش شدید بدون مایه زنی شد و در سایر تیمارهای آبی تاثیری بر این صفت نداشت. چگالی بافت ریشه در شرایط وقوع تنش آبی کاهش یافت که یکی از دلایل آن تغییر در قطر آوندهای چوبی است (فورت و همکاران ۲۰۱۳). طول ریشه ۱۲٪ و ۵۴٪ به ترتیب در شرایط تنش آبی متوسط و تنش آبی شدید در مقایسه با شرایط مطلوب رطوبتی کاهش یافت و مایه زنی باکتری در شرایط مطلوب بر این صفت بی تاثیر بوده ولی در شرایط تنش کم آبی متوسط و شدید به ترتیب ۱۰٪ و ۲۶٪ طول ریشه را افزایش داد (شکل ۸).

بروز تنش رطوبتی متوسط و شدید به ترتیب باعث افت ۱۶٪ و ۱/۵ برابری حجم ریشه در مقایسه با شرایط مطلوب رطوبتی شد. مایه زنی باکتری توانست به ترتیب باعث افزایش ۲۷٪، ۳۱٪ و ۵۱٪ حجم ریشه در مقایسه با شرایط آبی هر سطح آبی بدون مایه زنی، گردد (شکل ۸). قطر ریشه در گیاه فلفل از تنش رطوبتی متاثر نشد و مایه زنی باکتری بجز در تنش شدید رطوبتی که باعث افزایش ۳۸٪ قطر ریشه در شرایط متناسب رطوبتی گردید در بقیه شرایط آبی تاثیری نداشت (شکل ۸). سطح ریشه

تغییراتی در ویژگی‌های مورفولوژیک ریشه‌ها مانند افزایش طول ریشه در واحد وزن ریشه (طول مخصوص ریشه) ایجاد می‌شود (کرون ۲۰۰۳). مشخص شده است که در پاسخ به تنش رطوبتی، در برخی از گرامینه‌ها قطر ریشه افزایش یافته ولی چگالی بافتی آن به دلیل تغییرات ساختاری در مقیاس سلول کاهش می‌یابد (لوزانو و همکاران ۲۰۲۰).

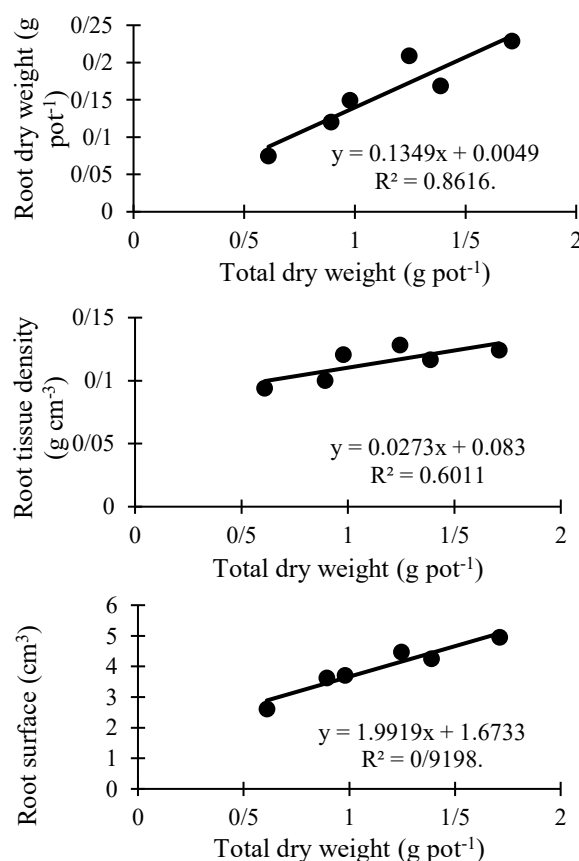
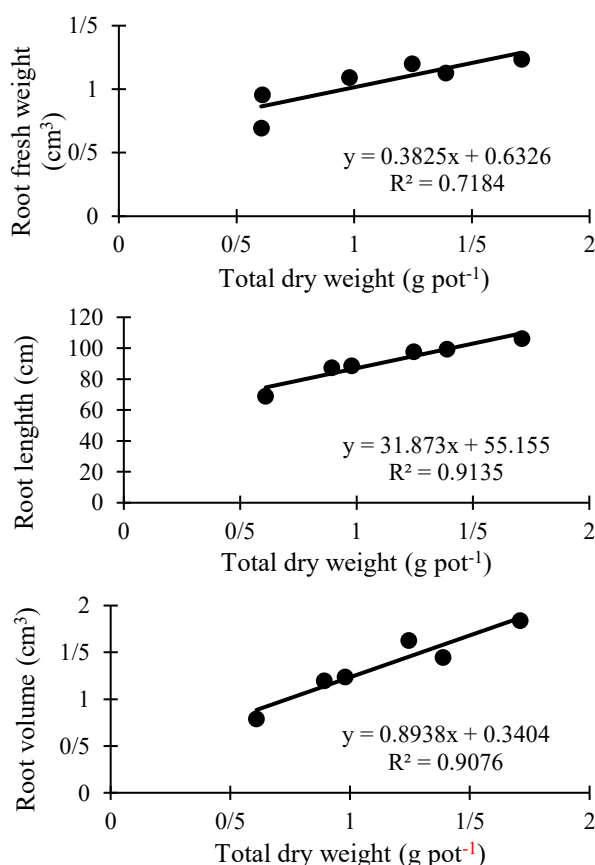
باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش تعداد ریشه‌های جانبی و ریشه‌های موئین (کیم و همکاران ۲۰۱۳) و همچنین افزایش سطح، وزن خشک و طول ریشه می‌شود (ژو و همکاران ۲۰۱۸) و این پدیده موجب فراهمی بیشتر آب و عناصر غذایی برای گیاه می‌شود. گیاه هنگام مواجه با تنش خشکی برای اینکه توانایی جذب ریشه‌ها را افزایش دهد ماده خشک بیشتری را به سیستم ریشه‌ای اختصاص می‌دهد، در نتیجه

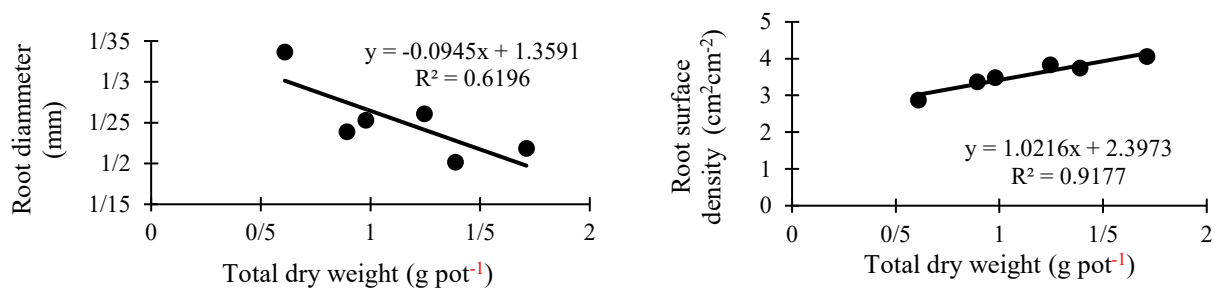


شکل ۸- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی ریشه فلفل. W0، W1 و W2 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی و B0 بیانگر عدم مایه‌زنی و B1 بیانگر مایه‌زنی با باکتری می‌باشند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن هستند.

دانست. افزایش اندازه، وزن و شمار انشعابات ریشه تحت تاثیر هورمون اکسین میکروبی در ریزوسفر بوده و با افزایش توسعه ریشه حجم بیشتری از خاک در اختیار گیاه قرار می‌گیرد؛ در نتیجه میزان دسترسی به عناصر و نهایتاً عملکرد گیاه افزایش می‌یابد (خان و لی، ۲۰۱۶). آنزیم ACC-دآمیناز حاصل از این باکتری‌ها میزان تولید اتیلن را در گیاهان در حال رشد و یا در معرض تنش کاهش می‌دهد؛ بنابراین کلونیزاسیون ریشه گیاهان با چنین باکتری‌هایی با کاهش سطح تولید اتیلن از تأثیر سوء تنش‌های محیطی مانند خشک جلوگیری می‌کند (نسیم و همکاران، ۲۰۱۸).

بررسی ارتباط رگرسیونی میان صفات ریشه و وزن ماده خشک کل فلفل (شکل ۹) نشان داد که همبستگی مستقیم و معنی‌داری میان آنها وجود دارد. بر این اساس وزن خشک ریشه با ضریب تبیین ۰/۸۶، وزن تر ریشه با ضریب تبیین ۰/۸۶، حجم ریشه با ضریب تبیین ۰/۹۰، طول ریشه با ضریب تبیین ۰/۹۱، تراکم سطح ریشه با ضریب تبیین ۰/۹۱، چگالی بافت ریشه با ضریب تبیین ۰/۶۰ و سطح ریشه با ضریب تبیین ۰/۹۱ و قطر ریشه با رابطه مستقیم منفی با ضریب تبیین ۰/۶۱ توانستند وزن ماده خشک گیاه را توجیه نمایند. بروز برخی از تغییرات در ریشه را می‌توان با تولید برخی از متابولیت‌ها توسط باکتری مرتبط





شکل ۹- میانگین وزن خشک و سطح برگ تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی و رابطه رگرسیونی این ویژگی‌ها با میزان عملکرد ماده خشک کل. W1، W2 و W3 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی می‌باشند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن بوده و مدل‌های رگرسیونی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار می‌باشند.

توانست باعث افزایش عملکرد فلفل در تمامی شرایط رطوبتی در خاک به ویژه در شرایط کمبود آب گردد. با این حال توصیه و استفاده از این باکتری در شرایط مزرعه‌ای نیازمند مطالعات تکمیلی‌تر می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

باکتری‌های جنس *باسیلیوس* از نوع محرک رشد گیاه می‌توانند باعث بهبود ویژگی‌های رشد در فلفل شوند و استفاده از باکتری *باسیلیوس سیمپلکس* احتمالاً خواهد

بیولوژی خاک دانشگاه مراغه در انجام کارهای آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری صمیمانه آزمایشگاه‌های شیمی،

منابع مورد استفاده

- Akhavan S, Shabanpour M and Isfahani M, 2012. The effect of soil density and texture on the growth of roots and shoots of wheat. *Journal of Water and Soil (Agricultural Science and Technology)* 26 (3): 735–727. (in Persian with English abstract)
- Ali SZ, Sandhya V and Rao LV, 2014. Isolation and characterization of drought-tolerant ACC deaminase and exopolysaccharide-producing fluorescent *Pseudomonas* sp. *Annals of Microbiology* 64: 493–502.
- Bauhus J and Messier C, 1999. Evaluation of fine root length and diameter measurements obtained using RHIZO image analysis. *Agronomy Journal* 91: 142–147.
- Boucher FC, Verboom GA, Musker S and Ellis AG, 2017. Plant size: a key determinant of diversification? *New Phytologist*. 216: 24.
- Casper BB, Forseth IN, Kempenich H, Seltzer S and Xavier K, 2001. Drought prolongs leaf life span in the herbaceous desert perennial *Cryptantha flava*. *Functional Ecology* 15 (6): 740–747.
- Clark R and Lee SH, 2016. Anticancer properties of capsaicin against human cancer. *Anticancer Research* 36: 837–850.
- Dagdelen N, Yilmaz E, Sezgin F and Gurbuz T, 2004. Effects of water stress at different growth stages on processing pepper (*Capsicum annum* Cv. Kapija) yield water use and quality characteristics. *Pakistan Journal of Biological Science* 7: 2167–2172.
- Dimkpa C, Weinand T and Asch F, 2009. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell and Environment* 32:1682-1694.
- Donot F, Fontana A, Baccou JC and Schorr-Galindo S, 2012. Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers* 87: 951–962.
- Fazli M, Almblad H, Rybtke ML, Givskov M, Eberl L and Tolker-Nielsen T, 2014. Regulation of biofilm formation in *P.seudomonas* and *B. urkholderia* species. *Environ. Microbiol.* 16: 1961–1981.
- Fort F, Jouany C and Cruz P. 2013. Root and leaf functional trait relations in Poaceae species: implications of differing resource- acquisition strategies. *Journal of Plant Ecology* 6: 211-219.
- Fravel D, 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 43: 337-359.

- Ghasemzadeh Z, Parhizkar M, Zomorodian M, Shamsi R, Meygooni SM and Shabanpour Ma, 2023. The role of extracellular polysaccharide produced by *Bradyrhizobium* strain in root growth, improvement of soil aggregate stability and reduction of soil detachment capacity. *Rhizosphere* 27:2452-2198
- Ghosh D, Gupta A and Mohapatra S, 2019. A comparative analysis of exopolysaccharide and phytohormone secretions by four drought-tolerant rhizobacterial strains and their impact on osmotic-stress mitigation in *Arabidopsis thaliana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 35: 90.
- Karimi E, Aliasgharzad N, Mousavi SB and Alilo A, 2022. The effect of growth promoting bacteria on barley yield and morphological root characteristics under different water conditions. *Journal of Soil and Plant Interactions* 13 (2):67-81. (in Persian with English abstract)
- Karimi E, Aliasgharzad N, Neyshabouri MR and Esfandiyari E, 2019. Isolation, molecular identification and assessing plant growth promoting activities of biofilm forming bacteria from gramineae rhizosphere in north west of Iran. *Journal of Soil Applied Research* 7(2): 14–28. (in Persian with English abstract)
- Karimi E, 2022. The effect of *Peribacillus simplex* bacterium on the growth of *Mentha piprita* L. in different watering regimes. *Journal of Plant Process and Function* 12 (54): 353-369. (in Persian with English abstract)
- Khan LA and Lee IJ, 2016. Indol acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology* 21: 58–64.
- Khan N, Bano A, Rahman MA, Rathinasabapathi B and Babar MA, 2019. UPLC-HRMS-based untargeted metabolic profiling reveals changes in chickpea (*Cicer arietinum*) metabolome following long-term drought stress. *Plant, Cell and Environment* 42, 115–132.
- Kim YC, Glick B, Bashan Y and Ryu CM, 2013. Enhancement of plant drought tolerance by microbes. In: Aroca R, (Ed.), *Plant Responses to Drought Stress*. Springer–Verlag, Berlin.
- Konnova SA, Brykova OS, Sachkova OA, Egorenkova IV and Ignatov VV, 2001. Protective role of the polysaccharide containing capsular components of *Azospirillum brasilense*. *Microbiology* 70: 436–440.
- Kroon H and Visser EJW, 2003. *Root Ecology*. Springer–Verlag, Berlin, 397 p.
- Lambers H, Atkin OK and Millenaar FF, 2002. Respiratory patterns in roots in relation to their functioning. Pp. 521–552. In: Waisel Y, Eshel A and Kafkaki K, (eds.), *Plant Roots, Hidden Half*, Ed 3 Marcel Dekker, New York.
- Lawlor DW and TezaraW, 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: A critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Annals of Botany* 103: 561–579.
- Lin LC, 2016. Growth effect of *Cinnamomum kanehirae* cuttings associated with its dark septate endophytes. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 19: 299-305.
- Liu M, Wang Z, Li S, Lu X, Wang X and Han X, 2017. Changes in specific leaf area of dominant plants in temperate grasslands along a 2500-km transect in northern China. *Scientific Reports* 7: 10780.
- Long W and Ding Y, 2011. Within- and among-species variation in specific leaf area drive community assembly in a tropical cloud forest. *Oecologia* 167: 1103–1113.
- Lozano YM, Aguilar-Trigueros CA, Flaig IC and Rillig MC, 2020. Root trait responses to drought are more heterogeneous than leaf trait responses. *Functional Ecology* 34: 2224–2235.
- Mancosu N, Snyder RL, Kyriakakis G and Spano D, 2015. Water scarcity and future challenges for food production. *Water* 7: 975-992.
- Marron N, Dreyer E, Boudouresque E; Delay D; Petit JM; Delmotte FM and Brignolas F, 2003. Impact of successive drought and re-watering cycles on growth and specific leaf area of two *Populus canadensis* (Moench) clones, "Dorskamp" and "Luisa Avanzo". *Tree Physiology* 23 (18): 1225–1235.
- Moran JF, Becana M, Iturbe-Ormaetxe I, Frechilla S, Klucas RV and Aparicio-Tejo P, 1994. Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta* 194: 346–352.
- Murata N and Takahashi S, 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends in Plant Science* 4: 178–182.
- Naseem H, Ahsan M, Shahid MA and Khan N, 2018. Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. *Journal of Basic Microbiology* 58:1009–1022.
- Nemeskéri E, Horváth KZ, Andryei B, Ilahy R, Takács S, Neményi A, Pék Z and Helyes L, 2020. Impact of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on the physiological response and productivity traits of field-grown tomatoes in Hungary. *Horticulturae* 8: 641.
- Osakabe Y, Osakabe K, Shinozaki K and Tran SP, 2014. Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant*

Science 5:86.

- Poorter H, Niinemets Ü, Poorter L, Wright IJ and Villar R, 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): A meta-analysis. *New Phytologist* 182: 565–588.
- Roberson EB and Firestone MK, 1992. Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in soil *Pseudomonas* sp. *Applied Environmental Microbiology* 58: 1284–1291.
- Siefert A, Violle C, Chalmandrier L, Albert CH, Taudiere A, Fajardo A, Aarssen LW, Baraloto C, Carlucci MB and Cianciaruso MV, 2015. A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecology Letters* 18: 1406–1419.
- Vaghefi SA, Keykhai M, Jahanbakhshi F, Sheikholeslami J, Ahmadi A, Yang H and Abbaspour KC, 2019. The future of extreme climate in Iran. *Scientific Reports* 9: 1464.
- Verslues PE and Bray EA, 2004. LWR1 and LWR2 are required for osmoregulation and osmotic adjustment in *Arabidopsis*. *Plant physiology* 136(1): 2831–2842.
- Vinocur B and Altman A, 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current Opinion in Biotechnology* 16: 123-132.
- Zhang HH, Tang M, Chen H and Wang YJ, 2012. Effects of dark septate endophytic isolate LBF-2 on medicinal plant *Lycium barbarum* L. *Journal of Microbiology* 50: 91-96
- Zhou G, Zhou X, Nie Y, Bai SH, Zhou L, Shao J and Fu Y, 2018. Drought-induced changes in root biomass largely result from altered root morphological traits: Evidence from a synthesis of global field trials. *Plant, Cell and Environment* 41: 2589–2599.
- Zhou H, Zhou G, He Q, Zhou L, Ji Y and Zhou M, 2020. Environmental explanation of maize specific leaf area under varying water stress regimes. *Environmental and Experimental Botany* 171: 103932.