

اثر روش‌های مصرف باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر محتوی پرولین و قندهای محلول گیاه دارویی بومادران (*Achillea millefolium* L.) در شرایط تنش خشکی

۱- گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

به منظور بررسی اثر روش‌های مصرف باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر محتوی پرولین و قندهای محلول گیاه دارویی بومادران (*Achillea millefolium* L.) در شرایط تنش خشکی، آزمایشی در فروردین ۱۳۹۳ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری انجام پذیرفت. این آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. عوامل آزمایشی شامل دوره‌های آبیاری به عنوان عامل اصلی در سه سطح آبیاری در ۵۰، ۹۰ و ۱۳۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A و روش‌های مختلف کاربرد باکتری‌های محرک رشد (PGPR) شامل عدم کاربرد باکتری، کاربرد ریشه مال باکتری، کاربرد باکتری در آب آبیاری و کاربرد ریشه مال+ کاربرد باکتری در آب آبیاری به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که اثر ساده تنش خشکی و باکتری‌های محرک رشد مورد آزمون معنی دار و فقط اثرات متقابل پرولین معنی دار گردید. در این شرایط تنش خشکی سبب افزایش میزان پرولین و قندهای محلول در گیاه دارویی بومادران گردید. بعلاوه، گیاهان تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد، نسبت به گیاهانی که در آنها این باکتری‌ها به کار نرفته بود، دارای محتوی پرولین و قندهای محلول کمتری بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد، اثرات مفیدی در جهت کاهش محتوی دو صفت ذکر شده داشت. به صورتی که کمترین مقدار پرولین (۲/۰۸۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار قندهای محلول (۸/۶۶۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) در شرایط عدم وجود تنش خشکی و مصرف باکتری‌های محرک رشد حاصل گردید.

واژه‌های کلیدی: بومادران، تنش خشکی، باکتری‌های محرک رشد، پرولین و قندهای محلول

مقدمه

بومادران متعلق به تیره Asteraceae با نام علمی *Achillea* L. گیاهانی هستند چند ساله، اغلب کرکدار، بیخ ساقه اغلب ضخیم و چوبی شونده. برگ‌ها متناوب، بدون بریدگی تا سه یا چهار بار شانه‌ای شده. کپه‌ها کوچک تا متوسط، کم و بیش با دم کپه بلند، بندرت بدون دم کپه، منفرد یا غالباً دیپیمی شکل هستند (Rechinger, 1963).

تنش خشکی تغییراتی در خصوصیات ظاهری، ناشی از تغییرات پتانسیل آب می باشد به طوری که کمبود آب باعث کاهش فشار آماس شده و باعث کاهش نمو سلول‌ها و کوچک شدن آنها می گردد. هر مرحله از رشد و نمو گیاه نسبت به تنش رطوبتی به طور یکسان دچار خسارت نمی شوند، بعضی از مراحل نسبت به تنش خیلی حساس و بعضی حساسیت کمتری دارند. برای نمونه در مورد گیاه بومادران، کاهش رطوبت در خاک ارتفاع، وزن ریشه، اندام هوایی و تعداد ساقه در گیاه را کاهش داد (شریفی عاشور آبادی و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین افزایش در شدت تنش تعداد گل راکاهش داده و قطر ساقه را کم می کند و درصد وزن برگ‌ها هم افزایش پیدا می کند که این افزایش به دلیل متوقف شدن رشد گیاه است. در آزمایش

دیگری بر روی بومادران، افزایش شدت تنش خشکی، طول ریشه و ساقه کاهش نشان دادند و با افزایش بیشتر شدت تنش وزن ماده خشک نیز کاهش نشان داد. در مراحل اولیه رشد، گیاه به دلیل کاهش توسعه سلولی و تقسیم سلولی و کاهش فتوسنتز رشدش کاهش می یابد (غنی و همکاران، ۱۳۸۸-1992-Irigoyenet al.);).

پرویلین یک اسید آمینه قابل حل در آب بوده که دارای دو نقش اساسی در شرایط تنش می باشد. اول این که افزایش سنتز و تجمع پرویلین به عنوان یک پاسخ متابولیکی در گیاهان در شرایط تنش می باشد. ثانیاً افزایش پرویلین محلول به عنوان یک نشانه برای سازگاری و افزایش مقاومت گیاهان به شرایط نامساعد است. همچنین پرویلین در تنظیم روابط آب درون سلولی نقش دارد. در شرایط تنش غلظت اسید آمینه پرویلین نسبت به سایر اسیدهای آمینه افزایش می یابد، پرویلین به عنوان مخزن ذخیره ای نیتروژن و یا ماده محلولی که پتانسیل اسمزی سیتوپلاسم را کاهش می دهد عمل می نماید و گیاه را در تحمل به تنش یاری می کند (Bian et al., 1988). پرویلین، پروتئین ها و غشاهای سلولی را از آسیب غلظت های زیاد یون ها حفظ می نماید.

قندهای محلول به واسطه ی حفظ آماس در برگ های تحت تنش، از دهیدراسیون پروتئین ها و غشاهای سلولی جلوگیری می کنند (Crowe et al., 1990). (Campos et al., 1999) پیشنهاد کردند که تجمع قندهای محلول نتیجه ی برخی فعل و انفعالات متابولیکی است که تشکیل و یا انتقال قند را در برگ متأثر می سازند. آنها گزارش کردند که این پاسخها منجر به ممانعت از فتوسنتز در تنش کم آبی می گردد. در حقیقت تجمع قندها در برگها از فتوسنتز جلوگیری می کند (Golodschmidt and Huber, 1992).

تغییر در مقدار قندهای محلول برگ در نتیجه تنش خشکی، اهمیت بالایی دارد و مقاومت به تنش خشکی را در گیاه افزایش می دهند. آزمایشات متعددی افزایش میزان قندهای محلول برگ را تحت شرایط تنش خشکی در گیاهان مختلف نشان داده اند. به طور کلی، در شرایط تنش خشکی با وجود کاهش نرخ آسیمیلایسیون کربن، محتوای قند افزایش می یابد. (Shaw et al., 2002) گزارش کردند که تجمع قندهای محلول مانیتول و سوربیتول در شرایط تنش خشکی تا ۸۰٪ افزایش داشته است.

باکتری های ریزوسفری که با ریشه گیاه و خاک در ارتباط هستند و بر هم اثر می گذارند و اثری سودمند بر رشد گیاه دارند را عموماً باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه یا اصطلاحاً PGPR می گویند. این واژه اولین بار توسط Kloepper and Schroth (1987) ارائه شد (Sharma, 2006).

همچنین گزارش شده است که کاربرد باکتری های محرک رشد با پاکسازی رادیکال های آزاد اکسیژن سبب کاهش خسارت به اسیدهای چرب، پروتئین ها شده و در نتیجه اثر مخرب تنش را کاهش می دهند و لذا سنتز و تجمع پرویلین به عنوان یک عکس العمل گیاه به تنش کاهش می یابد (Singh and Kapoor, 1999).

بطور کلی هدف از این تحقیق بررسی امکان ایجاد مقاومت به خشکی همراه با مصرف باکتری های محرک رشد (PGPR) به منظور ممانعت از کاهش عملکرد گیاه بومادران در شرایط تنش خشکی بوده است.

مواد و روش ها

طرح آزمایشی و مشخصات عامل ها

آزمایش به صورت اسپلینت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و در ۳ تکرار اجرا گردید. آبیاری به عنوان عامل اصلی در سه سطح شامل: دور آبیاری بر اساس ۵۰، ۹۰ و ۱۳۰ میلی متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A به عنوان عامل اصلی و روش های مصرف باکتری های محرک رشد در ۴ سطح الف) عدم مصرف ب) مصرف ریشه مال باکتری های محرک رشد ج) کاربرد باکتری های محرک رشد در آب آبیاری د) کاربرد ریشه مال + کاربرد در آب آبیاری به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. آبیاری پس از ۵۰ میلی متر تبخیر از تشتک کلاس A به عنوان تیمار بدون تنش در نظر گرفته شد. هر کرت آزمایشی شامل ۵ خط کاشت با فاصله ۳۵ سانتی متر خواهد بود؛ که خط اول، آخر و ۵۰ سانتی متر ابتدا و انتهای خطوط به عنوان حاشیه در نظر گرفته شده و از خطوط میانی پس از رعایت حاشیه های ذکر شده اقدام به نمونه گیری شد.

سنجش غلظت پرولین

برای اندازه گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش (Bates et al., 1973) استفاده شد. برای اندازه گیری پرولین، ابتدا مقدار ۰/۲ گرم گیاهچه توزین شد و در هاون چینی در ۳ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ به خوبی سائیده شد و هموژنات حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۸۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گشت. آنگاه ۲ میلی لیتر از عصاره های صاف شده را به لوله های در دار منتقل نموده و به تمام لوله ها مقدار ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. پس از بستن در لوله ها به مدت یک ساعت در آب 100 °C قرار داده شدند. پس از سرد کردن لوله ها به هر کدام مقدار ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه گشت و با استفاده از دستگاه ورتکس به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه لوله ها تکان داده شد. سرانجام فاز روئی را که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولوئن بوده برداشته و همزمان با نمونه های استاندارد در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار گرفت و اعداد در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. واحد به صورت میلی گرم بر گرم وزن تر بیان می شود.

نحوه تهیه محلول های استاندارد پرولین

برای تهیه محلول های استاندارد پرولین، مقدار ۰/۵ گرم پرولین خالص در ۵۰۰ میلی لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد (۳/۳ گرم از اسید سولفوسالیسیلیک خشک در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) حل می شود. بدین ترتیب محلول 100 ppm پرولین به دست می آید. از محلول 100 ppm برای تهیه سایر غلظت های استاندارد استفاده می شود. بدین ترتیب که در بالن ژوژه های ۱۰۰ میلی لیتری به ترتیب مقادیر ۰، ۰/۵، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، میلی لیتر از محلول 100 ppm اضافه و با محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به حجم

رسانده می شوند. محلول های حاصل حاوی غلظت های ۰، ۰/۵، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ ppm پرولین می باشند.

اندازه گیری قندهای محلول

از نمونه های منجمد شده به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی لیتر آب مقطر عصاره گیری شده و سپس محلول همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف گردید. برای اندازه گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی لیتر فنل ۰/۵٪ و ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه شد. بلافاصله بعد از افزودن اسید سولفوریک، یک واکنش گرمازا همراه با تولید رنگ نارنجی ایجاد می شود که تولید حرارت زیادی می کند. لذا ضروری است بعد از افزودن اسید، مخلوط واکنش ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شود. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت های مختلف گلوکز از ۰ تا ۲۰ میکروگرم در میلی لیتر ترسیم گردید. جذب استانداردها به همراه جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۰ نانومتر اندازه گیری شده و مقدار کل قندهای محلول، بر مبنای میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه تعیین شد. (Dubois et al., 1956)

نتایج و بحث

پرولین و قندهای محلول

اثرات اصلی دور آبیاری و روش های کاربرد باکتری های محرک رشد بر محتوی پرولین و قندهای محلول معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر رژیم های آبیاری نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان پرولین و قندهای محلول موجود در برگ افزایش می یابد که منجر به مشاهده بالاترین میزان پرولین و قندهای محلول در سطح خشکی ۱۳۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر گردید (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر دور آبیاری و روشهای مصرف باکتریهای محرک رشد بر محتوی پرولین و قندهای محلول بومادران

منابع تغییرات	پرولین	قندهای محلول
بلوک	۰/۰۵	۴۰/۰۸
دور آبیاری (a)	۱۳/۴۷**	۹۵۴/۷۸**
خطای a	۰/۴۲	۶/۹۰
باکتری (b)	۰/۹۳**	۸۶/۵۲**
ab	۰/۱۳*	۹/۱۵
خطای b	۰/۱۵	۱/۶۶
C.V (%)	۹/۶۵	۱۱/۶۲

* و ** به ترتیب نشانگر معنی دار بودن در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشند.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر دور آبیاری و روشهای مصرف باکتریهای محرک رشد بر محتوی پرولین و قندهای محلول بومادران

قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	صفات تیمارها
		دور آبیاری
۱۱/۵۱c	۲/۳۰c	۵۰ میلی متر تبخیر
۱۹/۸۳b	۳/۱۱b	۹۰ میلی متر تبخیر
۲۹/۳۳a	۴/۴۰a	۱۳۰ میلی متر تبخیر
باکتری PGPR		
۲۴/۰۷a	۳/۶۳a	عدم مصرف
۱۶/۵۴c	۳/۳۲a	ریشه مال
۲۰/۶۳b	۳/۲۷a	آب آبیاری
۱۹/۶۵b	۲/۸۵b	تلقیح ریشه ای + آب آبیاری

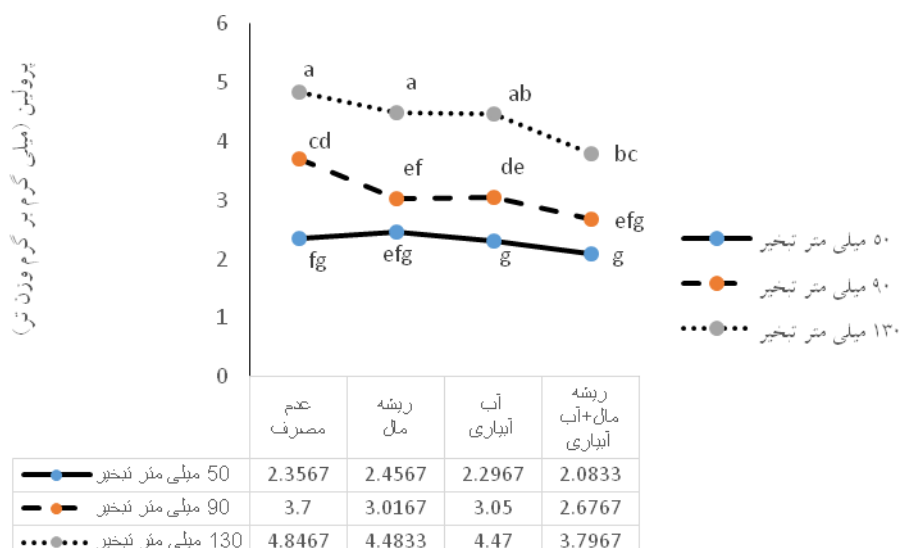
تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، با هم دارای اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.

همچنین میزان پرولین و قندهای محلول در سطح آبیاری 130 میلی متر تبخیر به طور معنی داری بالاتر از سطح آبیاری ۹۰ و ۵۰ میلی متر تبخیر بود. در بین سطوح مختلف روشهای کاربرد باکتریهای محرک رشد نیز کاربرد باکتریهای محرک رشد در مقایسه با عدم مصرف به طور معنی داری سبب کاهش میزان پرولین و قندهای محلول گردید (جدول ۲) کمترین میزان پرولین در سطح کاربرد ریشه مال باکتری + کاربرد باکتری در آب آبیاری مشاهده شد که با سایر سطوح کاربرد باکتری دارای اختلاف معنی دار بود. کمترین میزان قندهای محلول نیز در سطح کاربرد ریشه مال باکتری مشاهده شد که با سطح کاربرد ریشه مال باکتری + کاربرد باکتری در آب آبیاری اختلاف معنی داری داشت (جدول ۲).

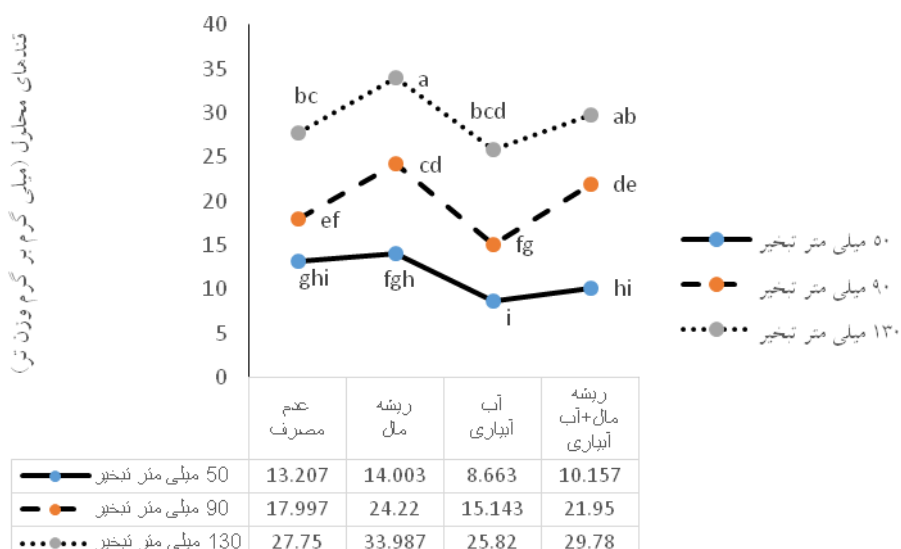
مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری در کاربرد باکتریهای محرک رشد بر میزان پرولین نشان داد که کمترین میزان پرولین (۲,۰۸۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) در سطح کاربرد ریشه مال باکتری + کاربرد باکتری در آب آبیاری و سطح آبیاری بدون تنش یعنی ۵۰ میلی متر تبخیر، و بیشترین میزان پرولین (۴,۸۴۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) نیز در سطح عدم کاربرد باکتری و سطح آبیاری ۱۳۰ میلی متر تبخیر (تنش شدید) مشاهده شد. در هر یک از سطوح آبیاری، کاربرد باکتریهای محرک رشد منجر به کاهش تولید پرولین گردید. همچنین کاربرد ریشه مال باکتری + کاربرد باکتری در سطح آبیاری ۱۳۰ میلی متر تبخیر در مقایسه با سطح آبیاری ۹۰ میلی متر تبخیر در افزایش میزان پرولین مؤثرتر بود (شکل ۱).

مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری در کاربرد باکتری های محرک رشد بر میزان قندهای محلول نیز نشان داد که کمترین میزان قندهای محلول (۸,۶۶۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار کاربرد باکتری در آب آبیاری و سطح آبیاری ۵۰ میلی متر تبخیر مشاهده شد و بالاترین مقدار این صفت (۳۳,۹۸۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) در سطح کاربرد ریشه مال باکتری و تنش خشکی شدید یعنی ۱۳۰ میلی متر تبخیر بدست آمد که با سطح کاربرد ریشه مال باکتری+کاربرد باکتری در آب آبیاری در شرایط تنش شدید خشکی (۱۳۰ میلی متر تبخیر) اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۲).

(Sanchez *et al.*, 1998) نیز با بررسی تنش خشکی روی ارقام مختلف نخود تجمع کربوهیدرات های محلول را مشاهده کردند. افزایش کربوهیدرات های محلول در فرآیند سازگاری گیاه به تنش اهمیت به سزائی دارد. همچنین (Bajji *et al.*, 2001) تجمع بیشتر این مواد را در ارقام مقاوم تر با اعمال تنش در مورد ارقام مختلف گندم گزارش کرده اند.



شکل ۱- اثر متقابل سطوح آبیاری و روش های کاربرد باکتری های محرک رشد بر میزان پرولین در برگ بومادران



شکل ۲- اثر متقابل سطوح آبیاری و روش‌های کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر میزان قندهای محلول در برگ بومادران

منابع

شریفی عاشورآبادی، ا.، لباسچی، م.، متین، ا.، نادری، ب.، رضایی، م.، گلی پور، م.، الهوردی، ب.، علیزاده انارکی، ک. ۱۳۸۸. تأثیر آبیاری و کشت دیم بر شاخصهای فیزیولوژیک رشد بومادران (*Achillea millefolium* L.) در منطقه کرج. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۵ (۳)، ۳۶۳-۳۴۷

غنی، ع.، عزیزی، م. و تهرانی-فر، ع.، ۱۳۸۸. ارزیابی پتانسیل های زینتی پنج گونه وحشی بومادران (*Achillea*) کشت شده در شرایط آب و هوایی مشهد. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۳ (۲): ۳۱-۲۵.

Bajji, M. Lutts, S. and Kinet J. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*. 160: 669-681.

Bates, L.S. Waldern R.P. and Teave I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*.39: 205-207.

Bian, Y.M. Chen S.Y. Liu S.K. Xie M.Y. 1988. Effects of HF on praline of some plants. *Plant Physiology Communications*. 6: 19-21.

Campos, P.S. Ramalho J.C. Lauriano J.A. Silva M.J. and Matos M.C. 1999. Effect of drought on photosynthetic performance and water relation of four vigna genotypes. *Photosynthetics*, 36: 79-87.

Crowe, J.H. Carpenter J.F. Crowe L.M. and Anchrology T.J. 1990. Are freezing and dehydration similar stress vectors? A comparison of modes of interaction of stability solutes within biomolecules. *Cryobiology*. 27: 219-231.

Dubois, M. Gilles K.A. Hamilton J.K. Rebers P.A. and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*. 28:350-356

Golodschmidt, EE. Huber, SC. 1992. Regulation of photosynthesis by endproduct accumulation in leaves of plants storing starch, Sucrose, and hexose sugars. *Plant Physiology*. 99: 1443-1448.

Irigoyen, J., J. Emerich, D. W. Sanchez-Diaz, M.1992. Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and athylene evolution. *Physiologia Plantarum*. 84: 67-72.

Rechinger, K.H. (1963). *Flora Iranica*. No. 158. Akademische Druke-U, Verlagsanstalt Wien Austria, 234p.

Sanchez, F.J. Manzanares M. De Andres E.F. Tenorio J.L. and Ayerbe L. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivar in response to water stress. *Field Crops Res.* 59: 225-232.

Sharma, A.K. 2006. *Biofertilizers for sustainable agriculture*. Agrobios, India. 407 pp.

Shaw B., Thomas TH. Cooke DT. 2002. Responses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to drought and nutrient deficiency stress. *Plant Growth Regulation.* 37: 77-83.

Singh, S. and Kapoor, K.K. 1999. Inoculation with phosphate –solubilizing microorganisms and a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biology and Fertility of soils.* 28: 139-144.

Effects of PGPR application methods on Proline and soluble sugars content of Yarrow (*Achillea millefolium* L.) under drought stress conditions

Ahmad Mirjalili^{1*}, Alireza Pazoki¹, Abolfazl Rashidi Asl¹

1-Department of Agronomy, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-Rey Branch, Tehran, Iran

Abstract

In order to study the Effects of PGPR application methods on Proline and soluble sugars content of Yarrow (*Achillea millefolium* L.) under drought stress conditions an experiment was performed at Islamic Azad University, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-Rey Branch. This experiment was carried out in a split plot arrangement with randomized complete block design in three replications. Experimental factors were included irrigation regimes as the main plot in three levels including 50, 90 and 130 mm evaporation from A class pan, and PGPR application methods in four levels including, Non application, root inoculation, application in irrigation water, and root inoculation+irrigation in irrigation water methods as the subplot. The results indicated that, simple effects of irrigation and PGPRS were significant on experimented traits but the interaction effects were meaningful only on Proline content at 5% level of Probability. In this case, drought stress increased Proline and soluble sugars in yarrow. The treated plants with PGPRS had less Proline and soluble sugars compare to control. The results revealed that root inoculation + application in irrigation water were more effective than without application methods for decreasing harmless effects of drought. So the lowest Proline (2.0833 mg/g FW) belonged to non-stress and root inoculation+irrigation PGPR application methods treatment and the lowest soluble sugars (8.663 mg/g FW) belonged to non-stress and PGPR application in irrigation water methods treatment.

* Corresponding Author (ahmad.mirjalili@hotmail.com)

Key words: Yarrow, Drought stress, Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), Proline, soluble sugars