

تأثیر تلقیح دو قارچ میکوریزی و دو باکتری محرک رشد بر بهبود صفات نهال‌های تحت تنش خشکی مورد (*Myrtus communis* L.)

صغری عزیزی^۱، مسعود طبری کوچکسرایبی^{۲*}، علی‌رضا فلاح نصرت‌آباد^۳، سید علی محمد مدرس ثانوی^۴

۱. دانشجوی دکتری علوم جنگل، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲. استاد گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۳. دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴. استاد گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۳، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۱

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر دو قارچ میکوریزی و دو باکتری محرک رشد بر زنده‌مانی و صفات رویشی نهال‌های مورد (*Myrtus communis* L.) در شرایط کم‌آبی، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی اجرا شد. تیمارهای تنش خشکی در سه سطح شامل ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (بدون تنش)، ۶۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش ملایم) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید)، و تیمارهای کود زیستی در هفت سطح شامل شاهد (بدون تلقیح)، قارچ *Funneliformis mosseae* و قارچ *Rhizophagus intraradices* ترکیب این دو قارچ، باکتری *Pseudomonas fluorescens* و باکتری *P. putida* ترکیب این دو باکتری، در سه تکرار در نظر گرفته شد. نتایج آشکار کرد که تنش خشکی سبب کاهش، و تلقیح کودهای زیستی (به‌ویژه ترکیب قارچ‌ها، ترکیب باکتری‌ها) سبب افزایش صفات بررسی شده شد. در تنش کم‌آبی شدید، تیمارهای ترکیبی قارچ یا باکتری نسبت به شاهد، رویش ارتفاعی را ۳۱-۲۸ درصد، زی‌توده برگ را ۵۲-۵۱ درصد، زی‌توده ریشه را ۴۲-۳۶ درصد، زی‌توده کل را ۴۱-۳۷ درصد و زنده‌مانی را ۵۰ درصد بهبود بخشیدند. نهال مورد توانست در شرایط خشکی شدید، بدون تلقیح نزدیک به ۵۰ درصد و با تلقیح ۱۰۰-۹۰ درصد زنده‌مانی داشته باشد. به‌طور کلی، با توجه به کاهش اثر مخرب تنش کم‌آبی با کودهای زیستی بر متغیرهای نهال مورد، استفاده از این کودها به‌ویژه ترکیب دو قارچ میکوریزی و یا ترکیب دو باکتری محرک رشد می‌تواند در بهبود شاخص‌های رشد آن مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری محرک رشد، زی‌توده، رویش ارتفاعی، قارچ میکوریزی، نهال مورد.

مقدمه

در طبیعت، گیاهان به‌طور مداوم در معرض شرایط محیطی نامطلوب هستند که بر بقا، توسعه و عملکرد گیاه تأثیر منفی دارند. تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاه در مناطق خشک و نیمه‌خشک

محسوب می‌شود [۱]. خشکی سبب کاهش جذب آب توسط ریشه‌ها و کاهش آب بافت‌های گیاهی و تنش اسمزی می‌شود. تنش اسمزی ناشی از خشکی، بر رشد و نمو طبیعی گیاهان در اثر تغییر فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دخالت می‌کند و در نتیجه بر زنده‌مانی و بهره‌وری آنها تأثیر می‌گذارد. با افزایش تنش خشکی، قطر ساقه و ارتفاع گیاه کاهش می‌یابد و به کوچک ماندن

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۲۲۴۶۲۵۰

Email: mtabari@modares.ac.ir

زی توده و مقدار پروتئین محلول در شرایط تنش خشکی می‌شود. همچنین گونگ و همکاران [۷] نتیجه گرفتند که تنش خشکی مانع توسعه کلنیزاسیون میکوریزی، رشد، عملکرد و متابولیسم اکسیژن فعال در گیاه شد، درحالی که تلقیح قارچ *G. intraradices* در نهال‌های تحت تنش خشکی سبب افزایش ارتفاع، قطر یقه، کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن شد. در تحقیقی دیگر، امیری و همکاران [۸] با قرار دادن گیاه در معرض کم‌آبی دریافتند که تلقیح با قارچ‌های میکوریزی مانع کاهش پارامترهای رویشی و فیزیولوژیک شد.

گیاه دارویی مورد *Myrtus communis* (L.) درختچه‌ای همیشه‌سبز (به ارتفاع ۱ تا ۳ متر) از خانواده Myrtaceae و بومی جنوب اروپا و غرب آسیاست که اقلیم نیمه‌مدیترانه‌ای دارند. در ایران در استان‌های گیلان، کرمانشاه، ایلام، لرستان، چهارمحال و بختیاری، خوزستان، یزد، فارس، هرمزگان و منطقه بلوچستان حضور دارد، اما بهره‌برداری غیراصولی آن توسط سودجویان، رویشگاه‌های طبیعی آن را تا مرز انقراض پیش برده است [۹]. تا کنون در جهان در خصوص استفاده از همزیستی میکروارگانیسم‌هایی مانند قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های محرک رشد روی نهال مورد، پژوهش خاصی گزارش نشده است. نبود اطلاعات علمی در خصوص نحوه تأثیرپذیری از تنش خشکی و تلقیح میکروارگانیسم‌ها و اثرهای متقابل آنها بر نهال این گونه کاملاً مشهود است، به طوری که تحقیق در این زمینه را اجتناب‌ناپذیر می‌کند. از این رو، هدف پژوهش حاضر این است که برای اولین بار اثر تلقیح قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های محرک رشد بر بهبود برخی صفات رویشی و مورفولوژیکی نهال مورد را در شرایط کم‌آبی بررسی کند.

مواد و روش‌ها

محل آزمایش و گونه گیاهی

برای این تحقیق در اواخر اردیبهشت ۱۳۹۶ نهال‌های

سلول‌ها می‌انجامد. همچنین با کاهش پتانسیل آب برگ، تعداد و سطح برگ کاهش پیدا می‌کند. اثر رایج تنش خشکی بر گیاهان، کاهش وزن خشک و تر گیاه است [۲]. میکروارگانیسم‌های مفید خاک با سازوکار همزیستی در خاک و ریشه سبب جذب آب و مواد مغذی می‌شوند و مقاومت گیاه را در برابر تنش خشکی بهبود می‌بخشند. مهم‌ترین این میکروارگانیسم‌ها، قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد هستند. میکوریزا از انواع کود زیستی و همزیستی انواعی از قارچ‌های خاکری با ریشه گیاهان است. این قارچ‌ها اثرهای نامطلوب تنش خشکی را در گیاهان از طریق سازوکارهای مختلف مانند افزایش جذب عناصر غذایی کم‌تحرک یا غیرمتحرک مانند فسفر، روی و مس، افزایش فعالیت فتوسنتزی، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اصلاح ریزوسفر تعدیل می‌کنند و با گسترش ریشه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه را افزایش می‌دهند [۳]. باکتری‌های محرک رشد نیز که سبب تعدیل تأثیر منفی تنش خشکی می‌شوند، گروه دیگری از میکروارگانیسم‌های خاکری هستند که از طریق سازوکارهایی مانند تثبیت نیتروژن، حل کردن فسفات‌های نامحلول، تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها، تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها و کم کردن اتیلن می‌توانند به شکل مستقیم سبب بهبود و افزایش رشد گیاه شوند [۴].

از جمله تحقیقات در زمینه تلقیح قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های محرک رشد گیاهان تحت تنش خشکی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد. بنابر نتایج پژوهش بهمنی و همکاران [۵] در تنش‌های خشکی شدید، ریزوباکتر سودوموناس مانع کاهش اندازه برخی پارامترهای رویشی در نهال استبرق (*Calotropis procera* Ait.) شد. ایران‌خواه و همکاران [۶] مشاهده کردند که باکتری *Pseudomonas putida* و قارچ *Glomus intraradices* از طریق افزایش جذب عناصر غذایی و حفظ و نگهداری آب سبب افزایش

شدند. سپس در اوایل تیر به گلدان‌های پلاستیکی ۵ لیتری (با قطر دهانه ۲۶، ارتفاع ۲۸ و قطر کف ۲۰ سانتی‌متر) دارای خاک مخلوط (خاک، کود دامی + شن + کوکوپیت با نسبت ۱:۱:۲) منتقل شدند. اطلاعات خاک در جدول ۱ آمده است.

گلدانی دو ساله مورد (همگن از نظر قطر یقه و ارتفاع) از نهالستان شهرستان ایذه استان خوزستان به گلخانه دانشگاه کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. برای سازگار شدن نهال‌ها با محیط جدید، گلدان‌ها یک ماه در فضای جداگانه نگهداری و تا اواخر خرداد آبیاری

جدول ۱. برخی مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

Texture	Sand (%)	Clay (%)	Silt (%)	Bulk density (g.cm ⁻³)	FC (m ³ .m ⁻³)	PWP (m ³ .m ⁻³)	EC (ds.m ⁻¹)	pH
Clay-loam	۳۳	۲۹	۳۸	۱/۵۹	۰/۳۴	۰/۱۳	۱/۶۱	۷/۹
%N	%P	%K	O.C	O.M	Fe	Zn	Mn	
(%)	(ppm)	(ppm)	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	
۰/۱۸	۵/۶	۴۵۸	۱/۷۷	۳/۰۶	۹/۷	۳/۳۶	۱۰	

را با ریشه‌های نهال داشته باشد. برای تلقیح ریزوباکترها از ۱۵ سی سی مایه تلقیح استفاده شد. برای تلقیح تیمارهای ترکیبی دو قارچ، ۸۰ گرم پودر قارچی (*F. mosseae* + ۴۰ گرم *R. intraradices*) و دو باکتری ۳۰ سی سی مایه تلقیح (۱۵ سی سی *P. fluorescens* + ۱۵ سی سی *P. putida*) به کار رفت.

اعمال تنش خشکی

آبیاری نهال‌ها با اعمال تنش خشکی در سه سطح ۱۰۰ درصد (شاهد)، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی به مدت ۶ ماه انجام گرفت. برای این کار ابتدا یک کیلوگرم خاک خشک هر گلدان پس از توزین (p_1) با آب اشباع شد، به طوری که آب اضافی به صورت ثقلی از گلدان‌ها خارج شد. برای جلوگیری از تبخیر، گلدان‌های آبیاری شده با نایلون سیاه پوشانده شدند و ۴۸ ساعت در شرایط گلخانه‌ای مرطوب قرار گرفتند تا کل آب اضافی از گلدان خارج شود. سپس خاک اشباع شده گلدان‌ها وزن شد (p_2) و تفاوت p_2 و p_1 به عنوان مقدار آبی که نیاز است خاک از آب اشباع شود به عنوان ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد. برای تعیین مقدار آبیاری هر گلدان در هر وعده، برای هر یک از سطوح رطوبتی ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به صورت زیر عمل شد:

$$1) 30\%FC = 0.30 \times (p_2 - p_1)$$

$$2) 60\%FC = 0.60 \times (p_2 - p_1)$$

طرح آزمایش و تیمارهای بررسی شده

این آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۷ در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و با تعداد کل ۲۵۲ نهال صورت گرفت. تیمار تنش خشکی به عنوان فاکتور اول به صورت سه سطح ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (بدون تنش)، ۶۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) و تیمار تلقیح کود زیستی به عنوان فاکتور دوم در هفت سطح (شاهد یا بدون تلقیح، تلقیح با قارچ میکوریزی *Funneliformis mosseae*، تلقیح با قارچ میکوریزی *Rhizophagus intraradices*، تلقیح با ترکیب *R. intraradices* + *F. mosseae*، تلقیح با *Pseudomonas fluorescens*، تلقیح با باکتری *P. putida*، تلقیح با ترکیب *P. putida* + *P. fluorescens*) در ۳ تکرار (در هر تکرار ۴ اصله نهال) انجام گرفت.

تلقیح قارچ میکوریزی و ریزوباکتر

قارچ‌های میکوریزی و ریزوباکترهای سودوموناس از بانک میکروبی بخش میکروبیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران تهیه و عمل تلقیح در اواسط تیرماه آغاز شد و ۶ ماه به طول انجامید. برای تلقیح قارچ، خاک سطح گلدان تا عمق ۵ سانتی متری کنار زده شد، به طوری که بیشترین حجم ریشه‌های نهال نمایان شوند. سپس برای هر گلدان ۴۰ گرم پودر قارچی به گونه‌ای به خاک اضافه شد که بیشترین تماس

به دست آمد؛ سپس سطح ویژه برگ (سطح برگ بر روی وزن خشک برگ) محاسبه شد [۱۱].

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel صورت گرفت. به منظور بررسی نرمال بودن و همگن بودن داده‌ها به ترتیب از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف و لون استفاده شد. مقایسه تیمارهای اعمال شده و مقایسه میانگین‌ها به ترتیب با آزمون‌های تجزیه واریانس دوطرفه و دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس دوطرفه نشان داد که اثر تنش خشکی بر تمام صفات و اثر تلقیح کود زیستی (قارچ میکوریز آربسکولار و ریزوباکتریایی سودوموناس) بر همه صفات به جز نسبت زی توده ریشه به اندام هوایی در سطح آماری ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح کود زیستی، همه صفات رویشی نهال مورد به جز رویش قطری، سطح ویژه برگ، زی توده ساقه و نسبت زی توده ریشه به اندام هوایی را در سطح آماری ۱ درصد تحت تأثیر قرار داد (جدول ۲).

$$3) 100\%FC = 0.10 \times (p_2 - p_1)$$

در طول دوره تنش، هر گاه رطوبت خاک گلدان از حد مورد نظر کمتر می‌شد (مدت زمان آن با توجه به تبخیر آب از خاک گلدان و خشک شدن آن متفاوت بود)، به همان مقدار آب به خاک اضافه می‌شد تا به وزن مورد نظر در هر یک از سطوح تنش برسد [۱۰].

پارامترهای بررسی شده در انتهای دوره آزمایش

در انتهای دوره آزمایش، زنده‌مانی نهال‌ها ثبت شد. برای اندازه‌گیری قطر یقه و ارتفاع نهال‌ها از دستگاه کولیس دیجیتالی و متر نواری استفاده شد. برای اندازه‌گیری زی توده، از هر تکرار، یک نهال از خاک خارج شد و پس از شست‌وشوی خاک اطراف ریشه، طول ریشه اندازه‌گیری و حجم ریشه از تغییر حجم آب در استوانه مدرج اندازه‌گیری شد. سپس سه قسمت ریشه، ساقه و برگ در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد و اندام‌های خشک شده با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد. بدین ترتیب، زی توده ریشه، ساقه، برگ و زی توده کل نهال تعیین شد و نسبت زی توده ریشه به اندام هوایی (root/shoot) محاسبه شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ ابتدا شش برگ کاملاً توسعه یافته از بالاترین قسمت هر نهال چیده شد و با استفاده از دستگاه Leaf Area Meter سطح هر برگ

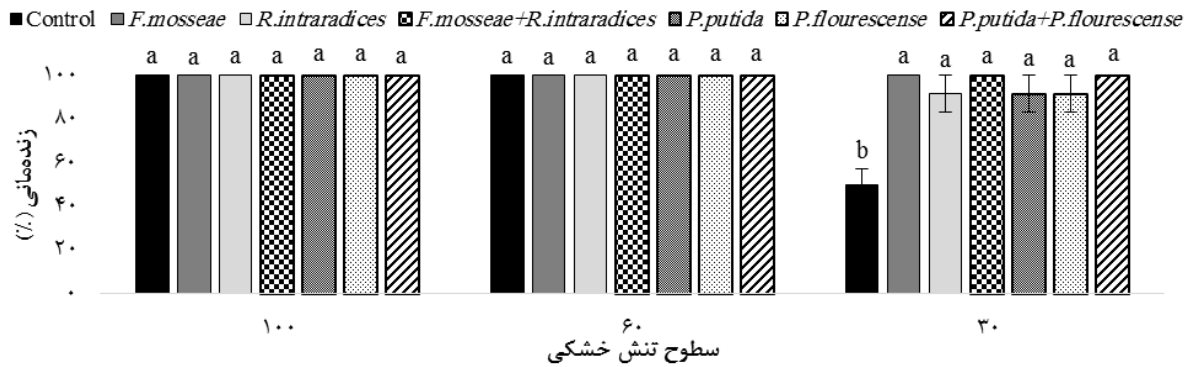
جدول ۲. تجزیه واریانس دوطرفه اثرهای تلقیح کود زیستی بر زنده‌مانی و صفات رویشی نهال‌های تحت تنش خشکی

خطا	خشکی × تلقیح		تلقیح		خشکی		صفات	
	میانگین	درجه آزادی	میانگین	درجه آزادی	میانگین	درجه آزادی		
۵۹/۵۲	۳۲	۳۱۷/۴۶*	۱۲	۳۱۷/۴۶*	۶	۵۷۳/۸۰*	۲	درصد زنده‌مانی
۰/۶۱	۳۲	۰/۵۶ ^{NS}	۱۲	۴/۷۶*	۶	۶۱/۷۸*	۲	رویش قطری
۷/۱۵	۳۲	۲/۳۷*	۱۲	۲۳/۱۱*	۶	۱۳۶۸/۸۷*	۲	رویش ارتفاعی
۰/۰۱	۳۲	۰/۲۱*	۱۲	۱/۹۷*	۶	۲۴/۷۱*	۲	سطح برگ
۷/۱۱	۳۲	۲/۵۱ ^{NS}	۱۲	۱۲۵/۴۳*	۶	۱۹۶۶/۴۹*	۲	سطح ویژه برگ
۲/۷۸	۳۲	۸/۰۹*	۱۲	۷۱/۰۵*	۶	۱۱۴۹/۹۱*	۲	طول ریشه
۲/۶۸	۳۲	۱۶/۳۰*	۱۲	۱۰۹/۸۵*	۶	۹۷۶/۸۰*	۲	حجم ریشه
۱/۵۶	۳۲	۳/۱۹*	۱۲	۳۰/۹۶*	۶	۲۳۳/۷۷*	۲	زی توده برگ
۱/۹۱	۳۲	۱/۱۲ ^{NS}	۱۲	۲۰/۴۷*	۶	۱۷۶/۱۹*	۲	زی توده ساقه
۲/۶۰	۳۲	۸/۶۵*	۱۲	۷۸/۶۷*	۶	۹۴۹/۹۹*	۲	زی توده ریشه
۶/۵۴	۳۲	۱۸/۸۰۳*	۱۲	۳۵۷/۰۲*	۶	۳۵۱۴/۲۰*	۲	زی توده کل
۰/۰۱	۳۲	۰/۰۱ ^{NS}	۱۲	۰/۰۳ ^{NS}	۶	۰/۱۱*	۲	زی توده ریشه به اندام هوایی

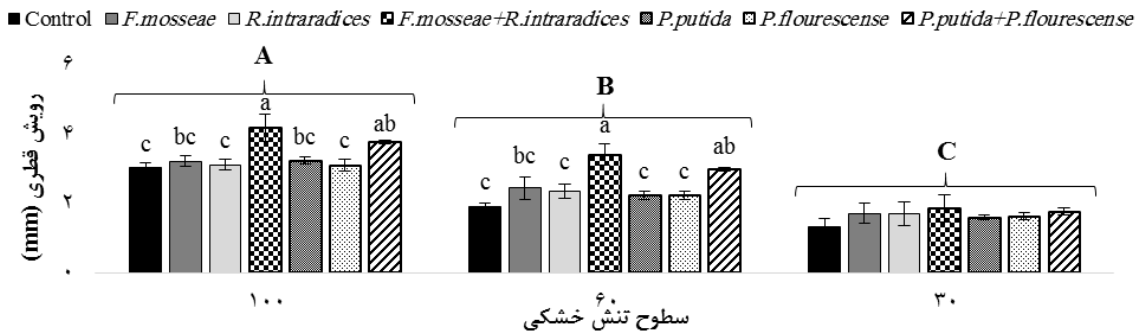
توضیح: علامت * و NS به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی دار و نبود اختلاف معنی دار آماری در سطح ۱ درصد است.

(عدم تلقیح) شدند (جدول ۳) و در تنش ملایم، رویش قطری را به ترتیب ۴۳ و ۳۶ درصد افزایش دادند (شکل ۲-حروف کوچک). افزایش رشد طولی و قطری نهال‌های میکوریزی و باکتریایی در مقایسه با نهال شاهد در پژوهش محققان دیگر نیز تأیید شده است [۷، ۸]. همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه (از راه توسعه هیف‌های خود) از طریق جذب آب و عناصر غذایی سبب افزایش فتوسنتز، زی‌توده و بهبود رشد (مانند رشد ارتفاع) گیاه می‌شود [۱۲]. افزایش قطر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های محرک رشد را می‌توان به نیتروژن حاصل از باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن نسبت داد که با مصرف کربوهیدرات‌ها در سلول‌های رویشی، سبب افزایش قطر ساقه می‌شوند. از طرفی، این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول استیک اسید (IAA) تأثیر زیادی در افزایش طول سلول‌های گیاهی، تحریک تقسیم سلولی و تمایز گیاه دارند [۱۳].

تنش خشکی ضمن تأثیر معنی‌دار (جدول ۲) موجب کاهش صفات زنده‌مانی (شکل ۱) و قطر یقه (شکل ۲-حروف بزرگ) و رویش طولی (جدول ۳) نهال‌های مورد شد. کاهش رویش قطری و طولی نهال‌ها با افزایش شدت خشکی نتیجه سازگاری گیاه در مقابل خشکی است، زیرا گیاه در این شرایط انرژی خود را صرف افزایش قطر و ارتفاع نمی‌کند و برای افزایش حجم و طول ریشه از آن بهره می‌برد تا بتواند در مقابل خشکی مقاومت کند. تلقیح میکوریزی و ریزوباکتریایی به‌خصوص ترکیب دو گونه قارچ و ترکیب دو گونه باکتری، این کاهش‌ها را تا حد زیادی جبران کردند؛ به طوری که در تنش خشکی شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی)، نهال‌ها بدون تلقیح، ۵۰ درصد و با تلقیح ۹۰ تا ۱۰۰ درصد زنده‌مانی خود را حفظ کردند. تیمارهای ترکیبی قارچ و باکتری در تنش شدید، به ترتیب سبب افزایش ۲۸ و ۳۱ درصدی رویش طولی نسبت به شاهد



شکل ۱. اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر درصد زنده‌مانی نهال



شکل ۲. اثر سطوح مختلف تنش خشکی (حروف بزرگ) و سطوح مختلف کود زیستی (حروف کوچک) بر رویش قطری نهال

در این پژوهش، با افزایش شدت خشکی از اندازه‌های سطح برگ (جدول ۳) و سطح ویژه برگ (شکل ۳-حروف بزرگ) کاسته شد؛ به طوری که بیشینه آنها در نهال‌های تلقیح شده با دو قارچ یا دو باکتری رشد یافته در ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد و کمینه آن در نهال‌های تلقیح نشده رشد یافته در تنش خشکی شدید مشاهده شد. در تنش کم‌آبی شدید، تلقیح دو باکتری (همانند تلقیح دو قارچ) سطح برگ را ۴۴-۴۲ درصد بهبود بخشید (جدول ۳). یکی از راهکارهای گیاهان در زمان تنش خشکی، کاهش سطح برگ است که به کاهش از دست رفتن آب از طریق تعرق منجر می‌شود و نخستین سازوکار دفاعی گیاه می‌یابد [۱۵].

در این پژوهش، با افزایش شدت خشکی از اندازه‌های سطح برگ (جدول ۳) و سطح ویژه برگ (شکل ۳-حروف بزرگ) کاسته شد؛ به طوری که بیشینه آنها در نهال‌های تلقیح شده با دو قارچ یا دو باکتری رشد یافته در ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد و کمینه آن در نهال‌های تلقیح نشده رشد یافته در تنش خشکی شدید مشاهده شد. در تنش کم‌آبی شدید، تلقیح دو باکتری (همانند تلقیح دو قارچ) سطح برگ را ۴۴-۴۲ درصد بهبود بخشید (جدول ۳). یکی از راهکارهای گیاهان در زمان تنش خشکی، کاهش سطح برگ است که به کاهش از دست رفتن آب از طریق تعرق منجر می‌شود و نخستین سازوکار دفاعی گیاه می‌یابد [۱۵].

جدول ۳. اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر خصوصیات ریشه، زی توده برگ و زی توده کل نهال

تنش خشکی	تلقیح	رویش طولی (cm)	سطح برگ (cm ²)	طول ریشه (cm)	حجم ریشه (cm ³)	زی توده ریشه (g)	زی توده برگ (g)	زی توده کل (g)	
۱۰۰ درصد	C	۱۰/۲±۱/۰ ^b	۳/۲±۰/۰۳ ^d	۲۶/۷±۰/۶ ^{bc}	۲۵/۵±۱/۰ ^{bc}	۲۳/۴±۰/۵ ^{cde}	۱۴/۰±۱/۰ ^{cd}	۵۲/۲±۱/۱ ^c	
	F.m	۱۱/۱±۰/۹ ^{ab}	۳/۶±۰/۰۴ ^b	۲۸/۵±۱/۰ ^b	۳۱/۸±۰/۸ ^b	۲۵/۷±۰/۵ ^{dc}	۱۵/۶±۰/۷ ^{bc}	۵۸/۹±۰/۶ ^b	
	R.i	۱۱/۲±۰/۵ ^{ab}	۳/۶±۰/۱ ^b	۲۸/۲±۰/۹ ^b	۳۱/۵±۰/۵ ^b	۲۵/۱±۰/۱ ^{bcd}	۱۵/۵±۱/۰ ^{bc}	۵۷/۸±۱/۰ ^b	
	F.m+R.i	۱۳/۲±۱/۱ ^a	۵/۰±۰/۱ ^a	۳۶/۸±۰/۵ ^a	۴۱/۹±۱/۳ ^a	۳۴/۴±۰/۵ ^a	۲۰/۱±۱/۰ ^a	۷۴/۶±۱/۰ ^a	
	P.p	۱۱/۰±۱/۰ ^{ab}	۳/۶±۰/۰۴ ^b	۲۷/۹±۱/۲ ^b	۳۱/۴±۱/۰ ^b	۲۶/۴±۱/۲ ^b	۱۴/۹±۰/۵ ^{bcd}	۵۷/۶±۰/۵ ^b	
	P.f	۱۰/۲±۱/۲ ^b	۳/۷±۰/۱ ^b	۲۷/۷±۰/۶ ^b	۳۱/۱±۰/۸ ^b	۲۶/۹±۱/۲ ^b	۱۵/۰±۰/۷ ^{bcd}	۵۸/۶±۰/۷ ^b	
	P.p+P.f	۱۲/۸±۱/۳ ^{ab}	۵/۰±۰/۰۵ ^a	۳۵/۳±۰/۸ ^a	۴۱/۳±۰/۶ ^a	۳۴/۲±۰/۶ ^a	۱۹/۷±۰/۸ ^a	۷۳/۰±۰/۸ ^a	
	۶۰ درصد	C	۴/۸±۰/۸ ^{c-f}	۲/۲±۰/۰۴ ^g	۲۴/۱±۱/۵ ^c	۲۳/۴±۰/۷ ^{cd}	۲۰/۲±۰/۶ ^{fg}	۱۳/۲±۰/۹ ^{cd}	۴۶/۰±۱/۳ ^d
		F.m	۶/۵±۰/۳ ^{cde}	۲/۸±۰/۱ ^{ef}	۲۶/۴±۱/۰ ^{bc}	۲۵/۴±۰/۵ ^c	۲۱/۷±۱/۰ ^{ef}	۱۵/۲±۱/۱ ^{bcd}	۵۱/۱±۲/۳ ^c
		R.i	۶/۲±۰/۴ ^{cde}	۲/۹±۰/۰۴ ^e	۲۷/۰±۰/۷ ^{bc}	۲۵/۶±۱/۵ ^c	۲۲/۸±۱/۶ ^{c-f}	۱۵/۱±۰/۵ ^{bcd}	۵۲/۳±۲/۷ ^c
F.m+R.i		۷/۴±۰/۵ ^c	۳/۴±۰/۰۳ ^c	۲۸/۵±۱/۶ ^b	۳۰/۷±۰/۸ ^b	۲۶/۶±۰/۵ ^b	۱۶/۵±۰/۷ ^b	۶۰/۰±۱/۰ ^b	
P.p		۶/۲±۰/۱ ^{cde}	۲/۸±۰/۱ ^{ef}	۲۶/۸±۰/۹ ^{bc}	۲۵/۵±۰/۷ ^c	۲۳/۱±۰/۵ ^{c-f}	۱۵/۱±۰/۷ ^{bcd}	۵۳/۲±۰/۳ ^c	
P.f		۶/۲±۰/۳ ^{cde}	۲/۷±۰/۱ ^f	۲۶/۹±۰/۸ ^{bc}	۲۵/۶±۰/۶ ^c	۲۲/۴±۱/۱ ^{def}	۱۴/۹±۰/۶ ^{bcd}	۵۱/۷±۱/۶ ^c	
P.p+P.f		۷/۰±۰/۶ ^{cd}	۳/۳±۰/۰۴ ^{cd}	۲۹/۳±۱/۳ ^b	۳۱/۴±۱/۵ ^b	۲۷/۳±۱/۴ ^b	۱۵/۳±۰/۷ ^{bcd}	۶۰/۱±۱/۳ ^b	
۳۰ درصد		C	۲/۹±۰/۳ ^f	۱/۲±۰/۰۴ ⁱ	۱۳/۳±۱/۶ ^f	۱۶/۵±۰/۶ ^f	۱۰/۳±۰/۶ ^j	۶/۵±۰/۳ ^e	۲۶/۱±۱/۰ ^h
		F.m	۳/۲±۰/۳ ^f	۱/۸±۰/۱ ^h	۱۶/۵±۰/۵ ^e	۲۰/۶±۰/۶ ^{de}	۱۵/۷±۰/۴ ^{hi}	۹/۶±۰/۸ ^d	۳۷/۰±۱/۰ ^{fg}
		R.i	۳/۱±۰/۴ ^f	۱/۸±۰/۰۴ ^h	۱۶/۵±۰/۴ ^e	۲۰/۱±۱/۳ ^c	۱۵/۴±۰/۶ ^{hi}	۹/۷±۱/۱ ^d	۳۷/۴±۰/۷ ^{fg}
	F.m+R.i	۴/۱±۰/۴ ^{ef}	۲/۲±۰/۰۳ ^g	۲۰/۵±۰/۶ ^d	۲۱/۸±۰/۹ ^{de}	۱۷/۸±۲/۱ ^{gh}	۱۳/۳±۰/۶ ^{cd}	۴۴/۶±۳/۳ ^{de}	
	P.p	۳/۳±۰/۶ ^f	۱/۷±۰/۱ ^h	۱۲/۸±۰/۸ ^f	۱۹/۵±۰/۶ ^e	۱۴/۱±۰/۹ ⁱ	۹/۱±۰/۶ ^d	۳۴/۳±۰/۹ ^g	
	P.f	۳/۲±۰/۱ ^f	۱/۸±۰/۱ ^h	۱۳/۳±۰/۷ ^f	۱۹/۳±۱/۳ ^e	۱۴/۰±۰/۵ ⁱ	۹/۴±۰/۸ ^d	۳۴/۵±۱/۰ ^g	
	P.p+P.f	۴/۲±۰/۳ ^{def}	۲/۱±۰/۰۴ ^g	۱۹/۵±۰/۵ ^d	۲۱/۴±۰/۹ ^{de}	۱۶/۰±۰/۳ ^{hi}	۱۳/۰±۱/۱ ^{cd}	۴۱/۲±۱/۳ ^{ef}	

C= Control

F.i= *F.mosseae*

R.i= *R.intraradices*

F.m+R.i= *F.mosseae*+*R.intraradices* P.p= *P. putida*

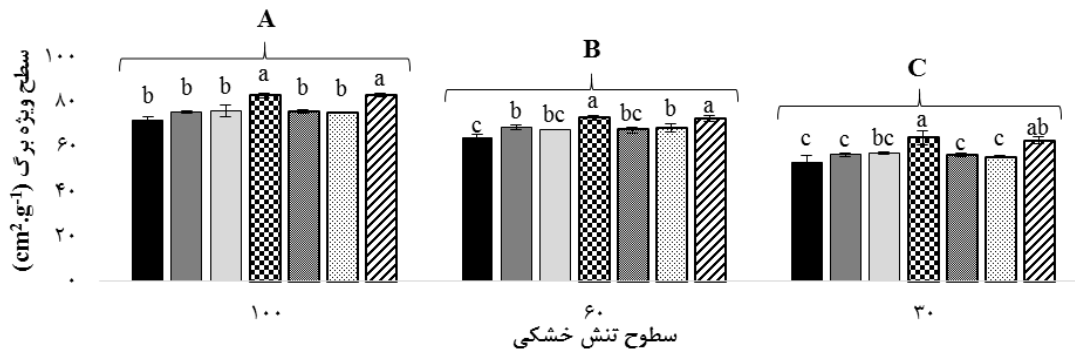
P.f= *P. fluorescens*

P.p+P.f= *P. fluorescens* + *P. putida*

از مهم‌ترین پارامترهایی است که به‌شدت تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد، درحالی که باکتری‌های افزاینده رشد در پی ایجاد تغییرات فیتوهورمونی و همچنین تشکیل ریشه و افزایش ریشه‌موها، سبب افزایش طول و وزن خشک ریشه می‌شوند [۱۶]. قارچ‌های میکوریزی قادرند با گسترش ریشه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان، طول و سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه را افزایش دهند و موجب بهبود رشد گیاه شوند [۱۷].

طول، حجم و زی‌توده ریشه با افزایش تنش خشکی کاهش یافت (جدول ۳)؛ اما تلقیح سبب بهبود مقادیر آنها شد، چنانکه تیمارهای تلفیقی دو گونه قارچ و نیز دو گونه باکتری در سطح خشکی ۳۰ درصد، طول ریشه را ۳۲-۳۵ درصد، حجم ریشه را ۲۳-۲۴ درصد و زی‌توده ریشه را ۳۶-۴۲ درصد افزایش دادند (جدول ۳) که با نتایج تحقیقات بهمنی و همکاران [۵] و گونگ و همکاران [۷] همسوست. سیستم ریشه‌ای به‌دلیل ارتباط مستقیم با خاک،

■ Control ■ *F.mosseae* □ *R.intraradices* ▣ *F.mosseae+R.intraradices* ■ *P.putida* ▣ *P.flourescence* ▣ *P.putida+P.flourescence*



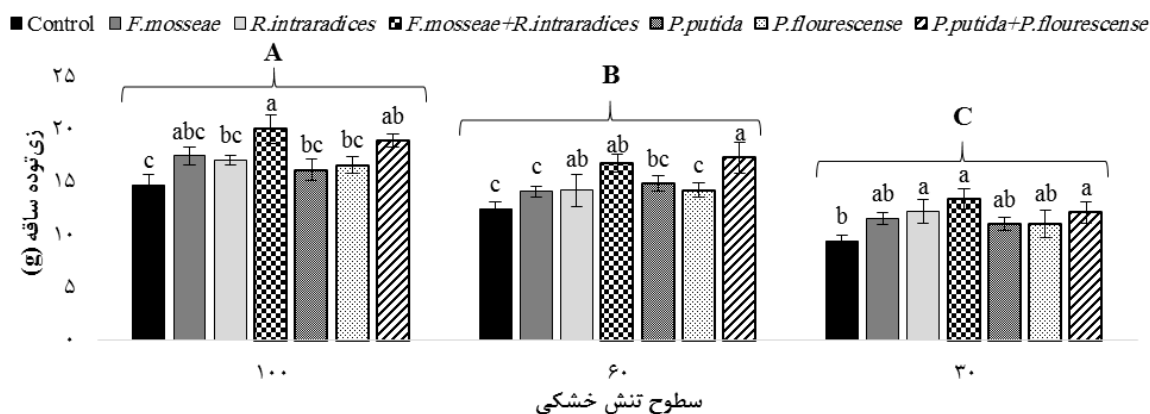
شکل ۳. اثر سطوح مختلف تنش خشکی (حروف بزرگ) و سطوح مختلف کود زیستی (حروف کوچک) بر سطح ویژه برگ نهال

مولکول‌های نگهداری‌کننده در برابر تنش هدایت می‌کند. به‌عبارت دیگر، کمبود آب در هر مرحله از رشد گیاه، جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی را کاهش می‌دهد که پیامد آن کم شدن ذخیره کربن و کاهش ماده خشک است [۱۸]. یکی از مهم‌ترین سازوکارهای تأثیر میکوریزا بر رشد رویشی گیاه، نقش آن در جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک است که این عمل با استفاده از گسترش ریشه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان انجام می‌گیرد که در نتیجه، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه و اندام‌های هوایی افزایش می‌یابد [۱۷]. اثرهای مثبت باکتری‌ها بر رشد گیاهان نیز ممکن است به این دلیل باشد که ریزوباکترها متابولیت‌های متعددی مانند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (مانند اکسین که از طریق سنتز آنزیم ACC سبب کاهش تولید اتیلن می‌شود و رشد ریشه را تحریک می‌کند)، کربوهیدرات‌ها

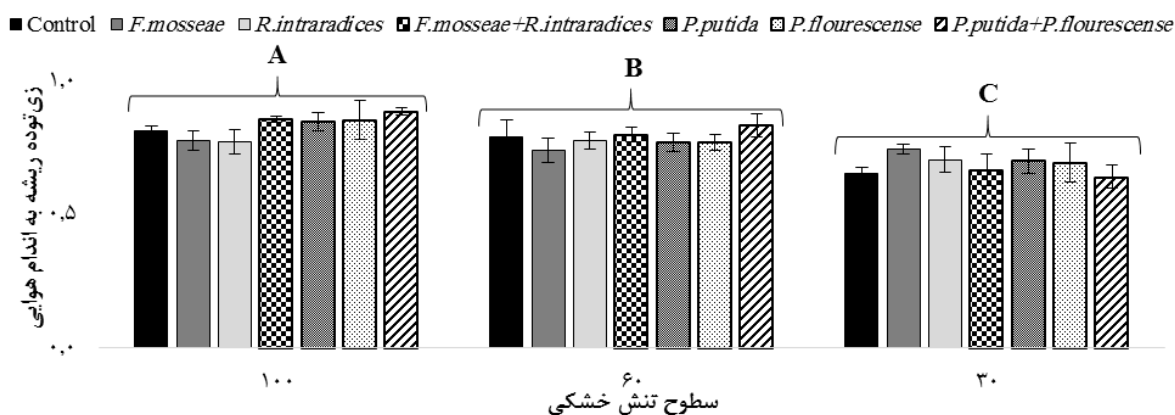
اثر منفی تنش خشکی بر زی‌توده برگ (جدول ۳)، زی‌توده ساقه (شکل ۴- حروف بزرگ)، زی‌توده کل (جدول ۳) و نسبت زی‌توده ریشه به اندام هوایی (شکل ۵- حروف بزرگ) به‌وضوح مشخص بود. استفاده همزمان دو گونه قارچ و دو گونه باکتری سبب جبران اثرهای منفی تنش خشکی شد، به‌طوری که در تنش خشکی شدید به‌ترتیب سبب افزایش ۵۱ تا ۵۲ درصدی زی‌توده برگ، ۲۲ تا ۲۹ درصد زی‌توده ساقه (شکل ۴- حروف کوچک) و ۳۷ تا ۴۱ درصد زی‌توده کل نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) شد. عملکرد جداگانه هر یک از باکتری‌های *P. putida* و *P. fluorescense* و نیز اثر جداگانه قارچ‌های *F. mosseae* و *R. intraradices* بر پارامترهای مذکور تقریباً مشابه بود. به‌طور کلی رشد کم، یک حالت سازگارکننده برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است، به این دلیل که گیاه، مواد غذایی و انرژی را به‌جای استفاده برای رشد شاخساره، به‌سمت

رشد در شرایط خشکی در پژوهش ایران خواه و همکاران [۶] و مارولاندا و همکاران [۱۳] گزارش شده که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

ویتامین‌ها را تولید می‌کنند که ممکن است بر رشد گیاه اثر بگذارند [۱۹]. افزایش زی توده و رشد گونه‌های دیگر با استفاده از قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های محرک



شکل ۴. اثر سطوح مختلف تنش خشکی (حروف بزرگ) و سطوح مختلف کود زیستی (حروف کوچک) بر زی توده ساقه نهال



شکل ۵. اثر سطوح مختلف تنش خشکی (حروف بزرگ) بر نسبت زی توده ریشه به ساقه نهال

نتیجه‌گیری
 نتایج این تحقیق آشکار کرد که تنش خشکی اثر منفی بر زنده‌مانی و صفات رویشی نهال مورد دارد. این در حالی است که استفاده از هر دو گونه قارچ میکوریزا و هر دو گونه باکتری محرک رشد و به‌ویژه کاربرد ترکیبی آنها به کاهش اثر تنش خشکی بر صفات بررسی شده این گونه منجر شد. نتایج همچنین حاکی از عملکرد به‌نسبت یکسان کاربرد جداگانه هر یک از باکتری‌ها و قارچ‌ها بر بیشتر پارامترهای مذکور بود. از طرفی، معلوم شد که نهال مورد می‌تواند در شرایط تنش خشکی شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی)، بدون تلقیح نزدیک به ۵۰ درصد و با تلقیح ۹۰ تا ۱۰۰ درصد زنده‌مانی خود را حفظ کند که بیانگر تحمل زیاد این گونه در برابر خشکی است. به‌طور کلی، با توجه به کاهش یافتن اثر تخریبی تنش خشکی توسط کودهای زیستی بر صفات اندازه‌گیری شده نهال مورد، به‌کارگیری این میکروارگانیسم‌ها به‌خصوص تلقیح ترکیبی دو قارچ *Rhizoglyphus* و *Funneliformis mosseae* یا دو باکتری *Pseudomonas fluorescens* و *P. putida* می‌تواند در بهبود شاخص‌های رشد آن سودمند باشد.

نتایج این تحقیق آشکار کرد که تنش خشکی اثر منفی بر زنده‌مانی و صفات رویشی نهال مورد دارد. این در حالی است که استفاده از هر دو گونه قارچ میکوریزا و هر دو گونه باکتری محرک رشد و به‌ویژه کاربرد ترکیبی آنها به کاهش اثر تنش خشکی بر صفات بررسی شده این گونه منجر شد. نتایج همچنین حاکی از عملکرد به‌نسبت یکسان کاربرد جداگانه هر یک از باکتری‌ها و قارچ‌ها بر بیشتر پارامترهای مذکور بود. از طرفی، معلوم شد که نهال مورد می‌تواند در شرایط تنش خشکی شدید (۳۰ درصد ظرفیت

References

- [1]. Trenberth, K.E., Dai, A., Van Der Schrier, G., Jones, P.D., Barichivich, J., Briffa, K.R., and Sheffield, J. (2014). Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change*, 4 (1):17–22.
- [2]. Anjum, Sh. A., Xie, X.Y., Wang, Ch., Saleem, M.F., Man, Ch., and Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*. 6(9): 2026-2032.
- [3]. Yin, N., Zhang, Z., Wang, L., and Qian, K. (2016). Variations in organic carbon, aggregation, and enzyme activities of gangue-fly ash-reconstructed soils with sludge and arbuscular mycorrhizal fungi during 6-year reclamation. *Environmental Science Pollution Research*, 23(17):17840–17849.
- [4]. Henry, S., Texier, S., Hallet, S., Bru, D., Dambreville, C., Chèneby, D., Bizouard, F., Germon, J.C., and Philippot, L. (2008). Disentangling the rhizosphere effect on nitrate reducers and denitrifiers: insight into the role of root exudates. *Environmental Microbiology*, 10(11): 3082–3092.
- [5]. Bahmani, M., Jalali, G.H. A., Asgharzadeh, A., and Tabari Kochaksaraei, M. (2015). Efficiency of rhisobacter *Pseudomonas putida* 139 inoculation on the improvement of some growth traits of *Carotropis procera* Ait. seedlings under drought stress. *Iranian Journal of Soil Biology*, 3 (2): 102-116.
- [6]. Irankhah, S., Ganjali, A., Lahooti, M., and Mashreqi, M. (2016). Effect of *Pseudomonas putida* and *Glomus intraradices* on some morphological and biochemical traits of *Trigonella foenum-graecum* (L). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 30 (1): 112-121.
- [7]. Gong, M., You, X., and Zhang, Q. (2015). Effects of *Glomus intraradices* on the growth and reactive oxygen metabolism of foxtail millet under drought. *Annals of Microbiology*, 65(1): 595-602.
- [8]. Amiri, R., Nikbakht, A., Rahimmalek, M., and Hosseini, H. (2017). Variation in the essential oil composition, antioxidant capacity, and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 58 (1): 1-14.
- [9]. Amiri, N., Emadian, S.F., Fallah, A., Adeli, K., and Amirnejad, H. (2016). Estimation of conservation value of myrtle (*Myrtus communis*) using a contingent valuation method: a case study in a Dooreh forest area, Lorestan Province, Iran. *Forest Ecosystems*, 14(1): 26-36.
- [10]. Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouahmou, A., Ouahmane, L., Duponnois, R., and Boumezzough, A. (2016). Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica* G. *Comptes Rendus Biologies*, 339 (5-6): 185–196.
- [11]. Yin, Ch., Pang, X., and Chen, K. (2009). The effects of water, nutrient availability and their interaction on the growth, morphology and physiology of two poplar species. *Environmental and Experimental Botany*, 67 (1): 196-203.
- [12]. Khalvati, M.A., Mzafar, A., and Schmidhalter, U. (2005). Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hypha and its signification for leaf growth, water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology Stuttgart*, 7(6): 706-712.
- [13]. Marulanda, A., Barea, J.M., and Azcon, R. (2009). Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28 (2): 115-124.
- [14]. Caoa, X., Chen, Ch., Zhang, D., Shu, B., Xiao, J., and Xia, R. (2013). Influence of nutrient deficiency on root architecture and root hair morphology of trifoliolate orange. *Scientia Horticulturae*, 162 (1): 100–105.
- [15]. Garg, N., and Bhandari, P. (2016). Silicon nutrition and mycorrhizal inoculations improve growth, nutrient status, K⁺/Na⁺ ratio and yield of *Cicer arietinum* L. genotypes under salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 78(3):371–387.
- [16]. Shaharoon, B., Naveed, M., Arshad, M., and Zahir, Z.A. (2008). Fertilizer-dependent efficiency of *Pseudomonas* for improving growth, yield and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Microbiol Biotechnology*, 79 (1): 147-155.

- [17]. James, B., Rodel, D., Loretto, U., Reynaldo, E., and Tariq, H. (2008). Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of *Senna Fspectabilis*. Pakistan Journal of Botany, 40 (5): 2217-2224.
- [18]. Khalid, K.A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). International Agrophysics 20 (1): 289- 296.
- [19]. Ahemad, M., Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting Rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University-Science, 26 (1): 1-20.

Effect of inoculation of two mycorrhizal fungi and two growth-promoting rhizobacteria on improvement of characteristics of *Myrtus Communis* L. seedlings under drought stress

S. Azizi; Ph.D. Student of Silviculture, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, I.R. Iran

M. Tabari Kouchaksaraeai*; Prof., Department of Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, I.R. Iran

A. Fallah Nosrat Abad; Assoc. Prof., Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO) Karaj, I.R. Iran

S.A.M. Modarres Sanavi; Prof., Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran

(Received: 25 October 2018, Accepted: 22 June 2019)

ABSTRACT

The present study was carried out to investigate the effect of two mycorrhizal fungi and two growth-promoting rhizobacteria on survival and growth traits of *Myrtus communis* L. in water deficit conditions, as a completely randomized factorial design. Drought stress in three levels: 100% field capacity (without stress), 60% field capacity (mild stress) and 30% field capacity (severe stress) and biofertilizer in seven levels: control (without inoculation); inoculation with mycorrhizals of *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*, and combination of these two fungi; inoculation with rhizobacterias of *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, and combination of these two bacteria was considered in three replicates. Drought stress reduced and biofertilizers (in particular, composition of fungus, and combination of bacterias) increased the studied traits. In severe water deficit, combined treatments of fungal or bacterial improved height increment by 28-31%, leaf biomass by 51-52%, root biomass by 36-42%, total biomass by 37-41% and survival by 50% compared with the control (non-inoculation) ones. In severe drought stress, almost 50% of the seedlings survived without inoculation and 90-100% of them with inoculation, indicating the high tolerance of this species to drought. Due to the reduction of the destructive effect of water stress on *M. communis* seedling traits using biofertilizers, the use of these treatments, especially the combination of two fungi of *Funneliformis mosseae* and *Rhizophagus intraradices* or two rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida* can be useful to improve seedling's growth characteristics.

Keywords: Biomass, common myrtle seedling, growth-promoting rhizobacteria, height growth, mycorrhizal fungi.

* Corresponding Author, Email: mtabari@modares.ac.ir, Tel: +989112246250