

## کاربرد همزمان باکتری *Pseudomonas fluorescens* و دو گونه قارچ میکوریزا بر تحمل به کم آبیاری دانهال سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica* G)

حامد عالی پور<sup>۱</sup>، علی نیکبخت<sup>۱\*</sup>، نعمت الله اعتمادی<sup>۱</sup>، فرهاد رجالی<sup>۲</sup> و محسن سلیمانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

<sup>۲</sup> موسسه تحقیقات خاک و آب سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی کرج، کرج

<sup>۳</sup> گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۱/۲۶)

### چکیده

درختان موجود در فضای سبز همواره به علت‌های مختلف شادابی خود را از دست داده و دچار زوال و یا خشکیدگی می‌شوند. از جمله عواملی که می‌تواند بر زوال درختان تأثیر بگذارد می‌توان به تنش خشکی اشاره کرد. این مطالعه به منظور بررسی تأثیر تلقیح با قارچ‌های میکوریزا (*Rhizophagus irregularis* و *Funneliformis mosseae* و ترکیب دو گونه) و باکتری محرک رشد *Pseudomonas fluorescens* بر واکنش گیاه سرو نقره‌ای به تنش کم آبیاری به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. در این مطالعه برهمکنش قارچ، باکتری و کم آبیاری بر غلظت فسفر و آهن، درصد نشت یونی، محتوای پرولین و وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بود. در اثر کم آبیاری در غالب تیمارها میزان آغشتگی میکوریزایی (۳۹٪)، غلظت عناصر فسفر (۳۳٪)، پتاسیم (۱۶٪) و آهن (۲۵٪)، محتوای نسبی آب (۲۵٪)، محتوای کلروفیل (۷۶٪)، ارتفاع (۲۹٪)، وزن خشک اندام هوایی (۴۱٪) و شادابی (۳۵٪) نهال سرو نقره‌ای کاهش و درصد نشت یونی (۳۶٪) و محتوای پرولین (۱۲۲٪) افزایش یافت. به‌طور کلی، تلقیح با قارچ میکوریزا موجب افزایش غلظت فسفر و آهن، محتوای نسبی آب، محتوای کلروفیل، ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و کاهش نشت یونی و محتوای پرولین و به دنبال آن بهبود وضعیت ظاهری و شادابی گیاه گردید. حضور باکتری سودوموناس به‌تنهایی نقش چندانی در بهبود رشد گیاهان در شرایط تنش آبی نداشت، اما در تعامل با قارچ میکوریزا اثرات مثبت آن نمایان شد. نتایج این آزمایش نشان داد که تلقیح گیاه سرو نقره‌ای با قارچ میکوریزا به همراه استفاده از باکتری سودوموناس فلورسنس می‌تواند اثر مثبتی بر بقای این گیاه در شرایط تنش آبی داشته باشد.

کلمات کلیدی: باکتری محرک رشد، تنش آبی، درختان سوزنی برگ، میکروارگانیزم‌های مفید، همزیستی

### مقدمه

دارند. در اثر بیابان‌زایی در مناطق خشک و نیمه‌خشک، سالانه ۰/۱۳ درصد (۶۰ هزار کیلومتر مربع) به این سطح اضافه می‌شود. در مناطق خشک و نیمه‌خشک با کاشت گونه‌های درختی مناسب می‌توان به کاهش فرسایش خاک، ایجاد

مساحت مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان تقریباً ۴۵ میلیون کیلومتر مربع است که حدود ۳۰ درصد از سطح کره زمین را می‌پوشاند و جمعیتی نزدیک به ۸۵۰ میلیون نفر در آن سکونت

\* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: anikbakht@cc.iut.ac.ir

روابط آبی و افزایش مقاومت گیاه میزبان به تنش خشکی اثبات شده است و مکانیسم‌های متعددی به‌منظور توجیه این امر ارائه شده است. مهم‌ترین این مکانیسم‌ها عبارت از جذب مستقیم آب و انتقال آن از طریق هیف قارچ به گیاه میزبان، تنظیم باز و بسته شدن روزنه از طریق سیگنال‌های هورمونی، تنظیم اسمزی که باعث حفظ فشار تورگر حتی در صورت پایین بودن رطوبت آب در بافت‌ها (در پتانسیل‌های آبی پایین) می‌شود و اثرهای غیرمستقیم از جمله افزایش فعالیت فتوسنتزی، تجمع پرولین و کربوهیدرات‌ها و افزایش وضعیت تغذیه‌ای گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا می‌باشد (Porcel and Ruiz-Lozano, 2004; Crahay et al., 2013; Arenla and Ajungla, 2014).

در پژوهشی اثرهای شرایط تغذیه و آبیاری روی ویژگی‌های رشدی درختان کاج (*Pinus taeda*) مورد بررسی قرار گرفت و شرایط تغذیه‌ای درخت به‌عنوان عامل اصلی محدودکننده شاخص سطح برگ، کارایی رشد و عملکرد این درختان گزارش شد و عنوان شد که دسترسی به آب برای درختان نقش ثانویه در این محدودیت دارد (Albaugh et al., 2004). در تحقیقی دیگر عنوان شد که خشکی از طریق کاهش جذب عناصر غذایی موجب کاهش رشد درختان کاج می‌شود و یک برنامه کوددهی منظم و حساب شده را برای مقابله با خشکسالی در این درختان پیشنهاد کرده است (Ward et al., 2015). در درختان *Dipterocarpus retusus*، با کاهش رطوبت خاک بیشترین میزان رشد زمانی مشاهده شد که با قارچ‌های میکوریزا تلقیح شده بودند (Arenla and Ajungla, 2014). مشاهده شد که تنش کوتاه مدت خشکی نهال‌های کاج *Pinus canariensis* می‌تواند کاهش هدایت روزنه‌ای و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن را در مقایسه با گیاهان شاهد که به‌طور منظم آبیاری شدند موجب شود و علت آن را فقدان دی‌اکسید کربن در کلروپلاست به علت بسته شدن روزنه‌ها گزارش کردند (Tausz et al., 2001).

تأثیر تنش‌های مختلف محیطی از جمله خشکی بر گیاهان باعث تولید انواع گونه‌های مخرب اکسیژن شده که برخی از آنها در سلول به‌عنوان رادیکال آزاد عمل می‌کنند. این

چشم‌انداز، افزایش تثبیت دی‌اکسید کربن، ایجاد امکانات تفرجی و در نتیجه کاهش فشار بر روی پوشش‌های طبیعی کمک کرد (Shachnovich et al., 2008).

واکنش گیاهان به تنش آبی به عوامل مختلفی از قبیل مرحله رشدی، شدت تنش، طول مدت تنش و ژنتیک رقم گیاهی وابسته است. علائم رایج مشاهده شده در گیاهان پس از مواجه شدن با کمبود آب شامل توقف رشد، کاهش سرعت فتوسنتز، تسریع در پیری برگ و غیره می‌باشد (Sohrabi et al., 2012). گیاهان چندساله از طریق مکانیسم اجتناب (حفظ پتانسیل آبی بالا در داخل در مقابل پتانسیل آبی پایین در محیط خارج) یا به‌وسیله‌ی مکانیسم تحمل خشکی (بقا در پتانسیل آبی کم)، و یا هر دو روش با تنش آبی مقابله می‌کنند (Fini et al., 2011). انتقال آب در گیاهان می‌تواند به علت تغییر در شرایط محیطی از جمله تنش خشکی، تنش اسمزی و همزیستی میکوریزایی تحت تأثیر قرار گیرد که هرکدام از این موارد می‌تواند باعث افزایش و یا محدود کردن حرکت آب بر اساس تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در سیستم ریشه شود (Siemens and Zwiazek, 2004; Siemens, 2008).

در گونه‌های درختی به‌خصوص درختان مناطق معتدله قارچ‌های میکوریزا از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. این قارچ‌ها باعث افزایش مقاومت در برابر انواع تنش‌های محیطی از قبیل خشکی در تعداد زیادی از گونه‌های درختی می‌شوند. همزیستی میکوریزایی افزایش هدایت آب ریشه را منجر می‌شود (Siemens, 2008). در یک بررسی گزارش شد که قارچ میکوریزا می‌تواند مقاومت به تنش آبی را هم از طریق اجتناب از خشکی و هم تحمل خشکی افزایش دهد (Sohrabi et al., 2012). همزیستی با قارچ‌های میکوریزا گیاه میزبان را از لحاظ تغذیه‌ای، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی بهبود می‌بخشد، بنابراین مقاومت گیاه را به تنش‌های زنده و غیرزنده از جمله تنش خشکی افزایش می‌دهد (Ruiz-Lozano et al., 2011). این قارچ‌ها می‌توانند بر تعادل آب گیاه میزبان تحت شرایط آبیاری کامل و یا تنش آبی اثرگذار باشند. توانایی همزیستی میکوریزایی به‌منظور بهبود

نقره‌ای و کاربرد قارچ‌های میکوریزا و باکتری *Pseudomonas fluorescens* در مقاومت این درختان به تنش خشکی می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های ۹۴ و ۹۵ روی گونه درختی سرو نقره‌ای، در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان و به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این طرح از گلدان‌های پلاستیکی با حجم ۶ لیتر استفاده شد. تیمارها عبارت از دو سطح آبیاری (آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) و شرایط کم آبیاری (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه)، چهار سطح قارچی (گونه *Funneliformis mosseae*، گونه *Rhizophagus irregularis* مخلوط دو گونه و عدم حضور قارچ) و دو سطح باکتری (حضور و عدم حضور باکتری *P. fluorescens*) می‌باشد.

**تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی:** بذور گونه‌های درختی سرو نقره‌ای در آبان ۹۴ از جنگل دانشگاه صنعتی اصفهان جمع‌آوری شد. به منظور کاهش تفرق صفات بین نهال‌های تولید شده توسط بذور، بذور از وسط توده جنگلی و از یک درخت جمع‌آوری شد، لذا پایه مادری در بین تمامی نهال‌های حاصل یکسان بود. سپس بذور به مدت یک ساعت در قارچ‌کش کاپتان (۲ گرم بر لیتر) ضدعفونی شد. پس از آن بذور به مدت ۲ هفته در محیط پیت ماس برای رفع نیاز سرمایی در انکوباتور با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از رفع نیاز سرمایی بذور، آن‌ها را در شاسی و در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کشت کرده و تا زمان جوانه‌زنی به صورت روزانه آبیاری شدند. ۶ ماه بعد از کشت بذور، نهال‌های حاصل به گلدان‌های ۶ لیتری مستقر در گلخانه علوم باغبانی انتقال یافت. لازم به توضیح است که بستر مورد نظر قبل از کاشت توسط اتوکلاو ضدعفونی شده و متشکل از خاک و ماسه (با نسبت ۲ به ۱) بود. بافت خاک مورد استفاده لومی رسی، پی اچ ۷/۸، هدایت الکتریکی ۰/۹۷ دسی زیمنس بر متر، درصد آهک ۳۵/۱٪، ماده آلی ۸/۲۷ گرم در کیلوگرم، نیتروژن کل ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، فسفر ۶/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، پتاسیم قابل تبادل ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، آهن ۸/۵

رادیکال‌های آزاد در صورت ناکارآمدی سیستم دفاعی گیاه، شروع به فرآیندهای مخرب مانند تجزیه کلروفیل، پراکسیداسیون لیپیدی و یا اکسیداسیون پروتئین‌ها می‌کنند. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی از یکسری آنتی‌اکسیدانت‌های آب‌دوست (آسکوربات و گلوکاتینون) و چربی‌دوست (آلفا توکوفرول) و یکسری از آنزیم‌ها (مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) تشکیل شده است. آسکوربیک اسید، توکوفرول و گلوکاتینون آنتی‌اکسیدانت‌هایی با وزن مولکولی کم هستند که می‌توانند اثر گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی کنند (Tausz et al., 2001).

در پژوهشی که بر روی کاج *Pinus lambertiana* صورت گرفت، گزارش شد که قارچ میکوریزا نه تنها موجب افزایش غلظت عناصر غذایی می‌شود، بلکه میزان جذب آب را نیز در این گیاه افزایش می‌دهد (Plamboeck et al., 2007).

از طرفی گزارش شده است که همزیستی بین گیاهان میزبان با قارچ‌های میکوریزا می‌تواند توسط برخی باکتری‌ها افزایش یابد، که این باکتری‌ها عملکرد میکوریزا را بهبود می‌دهند (Dominguez-Nunez et al., 2013). باکتری‌های موجود در خاک بسیار زیادند، به طوری که حدود نیمی از کل میکروارگانیسم‌های خاک را شامل می‌شوند. ریزوباکترهایی که با خاک و ریشه گیاه تعامل دارند و بر افزایش رشد گیاه مؤثرند را به طور کلی باکتری‌های محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) می‌نامند. این باکتری‌ها ممکن است با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص به طور مستقیم و یا غیرمستقیم موجب بهبود شاخص‌های رشد و نمو گیاه گردند. عنوان شده است که تلقیح گیاهان مختلف با باکتری‌های ACC دامیناز تحت شرایط تنش خشکی موجب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش خشکی می‌شود (Saleem et al., 2007).

با توجه به اهمیت موضوع خشکسالی و کاهش میانگین بارندگی در کشور، مطالعه و شناسایی دقیق نقش تنش خشکی بر بقای گونه‌های درختی و راهکارهای کاهش اثرهای زیان‌بار ناشی از این تنش لازم و ضروری است. هدف این مطالعه بررسی نقش تنش خشکی بر زوال و کاهش رشد درختان سرو

درجه اتوکلاو شد. پس از شستشوی ریشه با آب مقطر، محیط ریشه با HCl ۱۰٪ اسیدی شده و پس از نیم ساعت محلول دور ریخته شد و بعد از خالی کردن HCl، ریشه در محلول رنگ آمیزی تریپان بلو به مدت ۱۶ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شد و سپس برای تعیین میزان آغشتگی میکوریزایی همزیستی توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. سپس درصد کلونیزاسیون به این روش مورد محاسبه قرار گرفت که ۵۰ قسمت از قطعات ریشه رنگ آمیزی شده و سالم با طول ۱ سانتی متری بر روی پلیت مدرج قرار داده شد. سپس زیر بینوکولار تعداد قطعات افقی و عمودی هر ردیف و ستون و همچنین تعداد آلودگی ها را به دست آورده و درصد کلونیزاسیون محاسبه گردید.

برای اندازه گیری عناصر در گیاه به روش خاکستر گیری خشک عمل شد (Black et al., 1965). در این روش یک گرم از نمونه گیاهی آسیاب شده در کروزه چینی ریخته شده و به مدت ۴ ساعت در کوره الکتریکی تحت حرارت ۵۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا مواد آلی آن سوخته و به خاکستر تبدیل شوند. سپس به کروزه ها ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال افزوده و با حرارت دادن ملایم کروزه روی هات پلیت مواد خاکستر شده در اسید حل شدند. سپس محلول تهیه شده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده و عصاره در بالن ژوژه جمع آوری شد. سپس با آب مقطر حجم عصاره به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و میزان عناصر داخل آن به شرح زیر اندازه گیری گردید.

مقدار پتاسیم محلول به وسیله دستگاه فلیم فتومتر (مدل PFP7) اندازه گیری و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

آهن با دستگاه جذب اتمی (مدل Perkin Elmer AA3030) قرائت شد.

اندازه گیری فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۸۸۰ نانومتر صورت پذیرفت.

به منظور اندازه گیری محتوی آب نسبی برگ (RWC) از روش Ghoulam و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد.

میلی گرم در کیلوگرم و روی ۰/۷ میلی گرم در کیلوگرم بود. برای استقرار بهتر و اطمینان از گیرایی نهالها در محیط کشت جدید، به مدت ۲ ماه تمام گلدانها به صورت کامل آبیاری شد و سپس تنش خشکی اعمال شد. قابل ذکر است که در طول آزمایش، نهالها دوبار با کود کامل آلمانی به نسبت ۱۰-۵-۲۰ کوددهی شدند.

#### تلقیح گیاهان با قارچ و باکتری: در این پژوهش از دو

گونه قارچی (*Rhizophagus intraradices*) و (*Funneliformis irregularis*) و (*Glomus mosseae*) و ترکیب دو گونه و باکتری گونه *P. flourescens* که از مرکز تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد استفاده گردید. برای تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا قبل از کاشت، خاک هر گلدان ۱۰۰ گرم (تقریباً ۶۰-۵۰ اسپور در گرم) مایه تلقیح قارچ را دریافت نمود. برای تلقیح باکتری از سوسپانسیون باکتری *سودوموناس فلورسنس* استفاده شد به این ترتیب که محیط حاوی باکتری به گلدانها مایه زنی شد.

#### اعمال تنش آبی: در این بررسی برای ایجاد تنش رطوبتی

از روش ثابت نگه داشتن دور آبیاری و تغییر حجم آب آبیاری استفاده شد. در این پژوهش تمامی گلدانها تا مرحله استقرار کامل ریشه از نظر آبیاری به صورت یکسان در نظر گرفته شدند. در زمان شروع اعمال تیمارهای آبیاری، رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه اندازه گیری شد و مقدار آب آبیاری برای تأمین کمبود رطوبت خاک تا حد ظرفیت زراعی مزرعه تعیین و سپس در هر دو تیمار آبیاری اعمال گردید. میزان آب آبیاری در تیمار شاهد به گونه ای محاسبه شد که کمبود رطوبت خاک را تا حد رطوبت مزرعه تأمین کند. تیمار تنش ۵۰ درصد آبیاری تیمار شاهد را دریافت کرد. برای تعیین زمان آبیاری دوم و بعد در هر تیمار و به منظور کاهش تعداد نمونه گیری رطوبت خاک، از روش تانسومتر استفاده شد.

#### صفات مورد بررسی و نحوه اندازه گیری آنها: بررسی

همزیستی قارچ توسط روش Mosse و Giovannetti (۱۹۸۰) با کمی تغییرات صورت پذیرفت، بدین صورت که ریشه به همراه محلول KOH ۱۰٪ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۰

**تجزیه‌های آماری:** تجزیه واریانس داده‌های مربوط به هر صفت و آنالیز به کمک نرم‌افزار سیستم پردازش آماری SAS (نسخه ۹/۱) و Statistix انجام شد. برای انجام محاسبات و رسم شکل‌ها از نرم‌افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۳) استفاده گردید.

### نتایج و بحث

**میزان آغشتگی میکوریزایی:** تأثیر سطح آبیاری و گونه قارچی بر میزان آغشتگی میکوریزایی ریشه گیاه سرو نقره‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین تأثیر برهمکنش سطح آبیاری و باکتری بر میزان آغشتگی میکوریزایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (داده‌ها ارائه نشده است). بیشترین میزان آغشتگی میکوریزایی به مخلوط دو گونه (۳۸/۷٪) و کمترین آن به گونه اینترادایسس (۳۱/۴٪) تعلق داشت (داده‌ها ارائه نشده است). کم‌آبیاری موجب کاهش میزان آغشتگی میکوریزایی در تمامی تیمارها شد. بیشترین کمترین میزان برابر ۶/۸ و ۲۶/۹ درصد به ترتیب به تیمار مخلوط دو گونه در شرایط آبیاری کامل و گونه اینترادایسس در شرایط کم‌آبیاری تعلق داشت (شکل ۱). در مطالعه حاضر با کاهش رطوبت خاک میزان کلونیزاسیون میکوریزایی نیز کاهش پیدا کرد، که دلالت بر اثر تنش آبی بر کاهش همزیستی میکوریزایی است. در ارتباط با کاهش میزان کلونیزاسیون ریشه در اثر تنش آبی گزارش‌هایی توسط برخی محققین ارائه شده است (Asrar et al., 2012; Siemens, 2008).

**غلظت فسفر در اندام هوایی:** تأثیر برهمکنش آبیاری، باکتری و قارچ میکوریزا بر غلظت فسفر در اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین غلظت فسفر برابر ۰/۶۵ گرم در کیلوگرم وزن خشک به گیاهان تلقیح شده با گونه موسه در شرایط آبیاری کامل (در حضور یا عدم حضور باکتری) و کمترین آن برابر ۰/۳۴ گرم به گیاهان تلقیح نشده با میکوریزا در شرایط کم‌آبیاری تعلق داشت (جدول ۲). در اثر تنش آبی غلظت فسفر در اندام هوایی کاهش یافت. همچنین در اثر تلقیح گیاهان با میکوریزا غلظت فسفر در اندام هوایی افزایش یافت. باین‌حال، این افزایش در بین گونه‌های

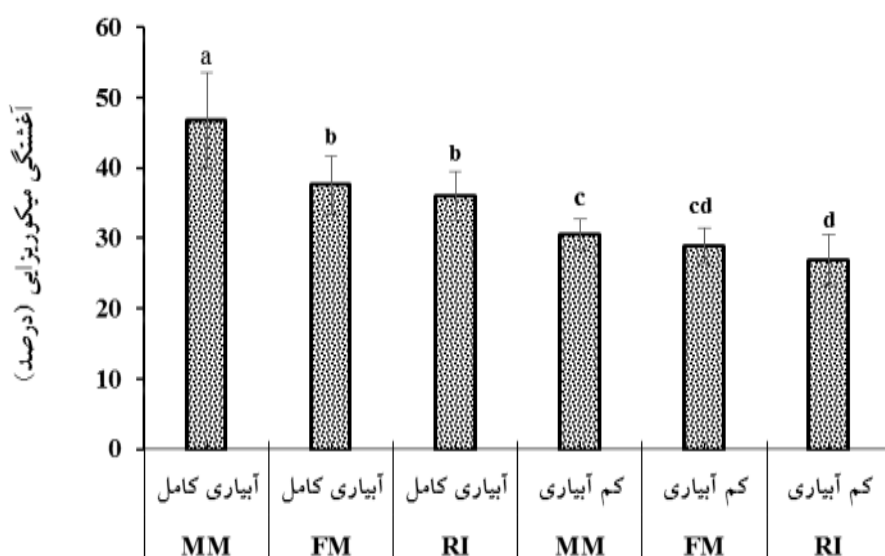
جهت اندازه‌گیری نشت یونی از هر گیاه ۰/۱ گرم نمونه تهیه و سه بار با آب مقطر دیونیزه شستشو شد و به لوله‌آزمایش منتقل گردید. به هر لوله‌آزمایش به میزان ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه گردید و نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با ۱۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک دقیقه ورتکس و هدایت الکتریکی آنها به‌عنوان EC اولیه توسط EC متر مدل CC-501 اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری EC ثانویه نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از اتمام حمام و رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط مجدداً EC نمونه‌ها به‌عنوان EC2 اندازه‌گیری شد و درنهایت درصد نشت یونی از حاصل تقسیم EC اولیه بر EC ثانویه محاسبه گردید (Blum and Ebercon, 1981).

اندازه‌گیری پرولین با استفاده از ۰/۱ گرم از نمونه‌های برگ‌ی ذخیره شده در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد و بر اساس روش بتس و همکاران صورت پذیرفت (Bates et al., 1973).

اندازه‌گیری ارتفاع هر نهال از سطح زمین با دقت ۱ میلی‌متر به دست آمد. اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی به این صورت انجام شد که پس از اندازه‌گیری وزن تر، برای به دست آوردن وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

به‌منظور بررسی اثر تیمارها بر شادابی، نهال‌ها بر اساس رنگ و میزان سوختگی فلس‌های برگ‌ی به سه درجه خوب (۱۰۰-۶۷ درصد فلس‌ها کاملاً سبز و بدون سوختگی و زرد شدگی)، متوسط (۶۷-۳۳ درصد فلس‌ها کاملاً سبز و بدون سوختگی و زرد شدگی) و ضعیف (۳۳-۰ درصد فلس‌ها کاملاً سبز و بدون سوختگی و زرد شدگی) تقسیم‌بندی و رتبه دهی (خوب = ۳، متوسط = ۲ و ضعیف = ۱) شدند (حسینی و همکاران، ۱۳۸۵).

کلروفیل برگ‌ها به روش لیختنتالر توسط حلال استون ۱۰۰٪ استخراج گردید (Lichtenthaler, 1987).



شکل ۱- اثر متقابل آبیاری در تلقیح میکوریزا بر روی درصد آغشتگی (درصد) نهال سرو نقره‌ای. MM = مخلوط دو گونه، FM = *Rhizophagus irregularis* = RI *Funneliformis mosseae*

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد اندازه‌گیری در تلقیح با قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس در سطوح مختلف آبیاری در اندام هوایی نهال سرو نقره‌ای

میانگین مربعات					df	منابع تغییرات
RWC	آهن	پتاسیم	فسفر	درصد آغشتگی		
۲۵/۴*	۲۴۸۸۲۲**	۲۲۶۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۹**	۳۶۷۶**	۱	قارچ (ق)
۳۶۷۰**	۱۱۰۲۳۱۴**	۲۷۳۶۱۲**	۰/۲۶۰**	۸۷۶**	۳	آبیاری (آ)
۲/۹۲ <sup>ns</sup>	۹۶۳۳۳۳*	۲۷۵۱۲۴**	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۱۹۸۷**	۱	باکتری (ب)
۸۸/۳**	۳۶۷۲ <sup>ns</sup>	۲۲۱۴۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶*	۱۳۳**	۳	ق × آ
۲۹/۹*	۴۷۱۵۴ <sup>ns</sup>	۳۸۷۴۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۵*	۲۳۰**	۱	ق × ب
۰/۲۳ <sup>ns</sup>	۹۸۶۱ <sup>ns</sup>	۱۲۲۶۱۴*	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۲۹۶**	۳	آ × ب
۶/۱۱ <sup>ns</sup>	۱۵۲۴۱۶*	۲۴۴۵۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴*	۵۰*	۳	ق × آ × ب
۷/۱۶	۴۳۷۸۴	۲۲۳۹۹	۰/۰۰۱	۸/۲۹	۳۲	خطا
۸/۲۵	۱۷/۴	۲۰/۵	۱۲/۸	۱۱/۱		ضریب تغییرات (%)

\*, \*\*, ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن منابع تغییرات در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

زراعی) به شدت کاهش می‌یابد و کاربرد قارچ میکوریزا باعث افزایش غلظت فسفر برگ گیاهان تحت تنش خشکی می‌شود. افزایش جذب فسفر با کاربرد قارچ میکوریزا به علت نفوذ میسلیم‌های قارچ به نواحی از خاک دارای ناحیه تخلیه، حرکت سریع فسفر در میسلیم قارچ و حلالیت فسفر در خاک

مختلف قارچ اختلاف معنی‌داری نداشت (داده‌ها ارائه نشده است). اثر باکتری روی غلظت فسفر اندام هوایی معنی‌دار نبود (جدول ۱).

نتایج آزمایش شول و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که غلظت فسفر تحت تنش خشکی (۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت

ادامه جدول ۱-

میانگین مربعات						df	منابع تغییرات
شادابی	وزن خشک	ارتفاع بوته	محتوای کلروفیل	پرولین	نشت یونی		
۱/۶۹**	۰/۳۸۷**	۵۵/۳**	۰/۷۶۸**	۰/۰۸۰**	۲۸۲**	۱	قارچ (ق)
۶/۷۵**	۳/۷۹**	۲۹۵*	۱۳/۰**	۰/۸۸۸**	۱۱۷۲**	۳	آبیاری (آ)
۰/۷۵۰ <sup>ns</sup>	۲/۵۳**	۰/۵۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۹۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۳۳۷۰**	۱	باکتری (ب)
۱/۷۵*	۰/۳۰۷**	۱۴/۴**	۰/۴۳۱**	۰/۰۰۷ <sup>ns</sup>	۲۶۷ <sup>ns</sup>	۳	ق × آ
۰/۴۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۷۳**	۱/۵۷ <sup>ns</sup>	۰/۱۳۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۵ <sup>ns</sup>	۳۲۳ <sup>ns</sup>	۱	ق × ب
۰/۷۵۰ <sup>ns</sup>	۰/۱۷۰*	۰/۰۲۱ <sup>ns</sup>	۱/۲۲*	۰/۰۰۶ <sup>ns</sup>	۴۲۹**	۳	آ × ب
۰/۴۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۵۳۷**	۰/۰۷۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۹**	۲۶۰*	۳	ق × آ × ب
۰/۱۸۸	۰/۰۵۷	۱/۹۱	۰/۱۴۵	۰/۰۰۳	۲۵/۳	۳۲	خطا
۱۷	۱۱/۱۷	۷/۲۱	۲۰/۱	۱۵/۶	۱۵/۵		ضریب تغییرات (%)

\*\*\*،\*\* و ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن منابع تغییرات در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

جدول ۲- اثر متقابل آبیاری در باکتری در تلقیح میکوریزا بر روی غلظت فسفر و آهن، نشت یونی، محتوای پرولین و وزن خشک اندام هوایی نهال سرو نقره‌ای

وزن خشک (g)	پرولین ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	نشت یونی (%)	آهن ( $\mu\text{g.kg.dw}$ )	فسفر ( $\text{g.kg.dw}$ )	آبیاری	باکتری	قارچ
۲/۱۷ <sup>cd</sup>	۰/۳۲۰ <sup>de</sup>	۳۳/۶ <sup>b-c</sup>	۱۱۴۸ <sup>b-d</sup>	۰/۵۲۱ <sup>c-g</sup>	کامل	-	
۱/۹۹ <sup>d-g</sup>	۰/۲۴۱ <sup>e-g</sup>	۲۱/۸ <sup>f</sup>	۱۳۳۲ <sup>bc</sup>	۰/۵۱۶ <sup>d-g</sup>	کامل	+	عدم تلقیح
۱/۱۵ <sup>h</sup>	۰/۶۶۵ <sup>a</sup>	۵۶/۶ <sup>a</sup>	۷۱۹ <sup>e</sup>	۰/۳۷۷ <sup>hi</sup>	کم آبیاری	-	
۱/۹۲ <sup>d-g</sup>	۰/۵۶۰ <sup>b</sup>	۲۶/۹ <sup>d-f</sup>	۱۰۷۵ <sup>cd</sup>	۰/۳۰۶ <sup>i</sup>	کم آبیاری	+	
۲/۱۱ <sup>d-f</sup>	۰/۲۲۴ <sup>fg</sup>	۳۴/۷ <sup>cd</sup>	۱۲۲۴ <sup>b-d</sup>	۰/۶۴۶ <sup>ab</sup>	کامل	-	
۲/۱۱ <sup>cd</sup>	۰/۲۰۲ <sup>gh</sup>	۲۶/۳ <sup>ef</sup>	۱۴۷۵ <sup>b</sup>	۰/۶۴۷ <sup>ab</sup>	کامل	+	موسه
۱/۷۴ <sup>e-g</sup>	۰/۴۷۵ <sup>bc</sup>	۵۴/۵ <sup>a</sup>	۹۳۱ <sup>de</sup>	۰/۴۱۶ <sup>g-i</sup>	کم آبیاری	-	
۱/۹۵ <sup>d-g</sup>	۰/۴۰۱ <sup>cd</sup>	۲۸/۲ <sup>d-f</sup>	۱۲۱۷ <sup>b-d</sup>	۰/۴۹۲ <sup>g</sup>	کم آبیاری	+	
۱/۹۲ <sup>d-g</sup>	۰/۱۹۹ <sup>gh</sup>	۲۸/۸ <sup>d-f</sup>	۱۱۹۱ <sup>b-d</sup>	۰/۶۳۰ <sup>a-c</sup>	کامل	-	
۱/۹۲ <sup>cde</sup>	۰/۳۰۵ <sup>ef</sup>	۱۲/۲ <sup>g</sup>	۱۳۴۰ <sup>bc</sup>	۰/۶۲۰ <sup>a-d</sup>	کامل	+	اینتراادیسس
۱/۸۷ <sup>d-g</sup>	۰/۵۵۹ <sup>b</sup>	۴۰/۱ <sup>bc</sup>	۹۲۳ <sup>de</sup>	۰/۵۲۰ <sup>c-g</sup>	کم آبیاری	-	
۱/۷۳ <sup>fg</sup>	۰/۵۳۹ <sup>b</sup>	۲۱/۹ <sup>f</sup>	۱۰۶۵ <sup>c-e</sup>	۰/۵۲۹ <sup>c-f</sup>	کم آبیاری	+	
۱/۹۵ <sup>d-g</sup>	۰/۱۷۸ <sup>h</sup>	۳۳/۷ <sup>b-c</sup>	۱۲۲۸ <sup>b-d</sup>	۰/۵۵۷ <sup>c</sup>	کامل	-	
۳/۲۵ <sup>a</sup>	۰/۱۱۱ <sup>i</sup>	۲۷/۱ <sup>d-f</sup>	۱۸۹۳ <sup>a</sup>	۰/۶۹۰ <sup>a</sup>	کامل	+	مخلوط
۱/۶۲ <sup>g</sup>	۰/۳۲۳ <sup>de</sup>	۴۳/۱ <sup>b</sup>	۱۱۲۲ <sup>cd</sup>	۰/۴۸۵ <sup>e-h</sup>	کم آبیاری	-	
۲/۱۴ <sup>de</sup>	۰/۴۳۴ <sup>c</sup>	۲۶/۲ <sup>ef</sup>	۱۳۵۶ <sup>bc</sup>	۰/۴۲۴ <sup>f-h</sup>	کم آبیاری	+	

† در هر ستون میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح ۵٪ آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

۱). بیشترین غلظت پتاسیم برابر ۹۳۲ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به گیاهان تلقیح شده با باکتری در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن برابر ۶۲۹ میلی‌گرم به گیاهان تلقیح نشده در شرایط کم‌آبیاری تعلق داشت (جدول ۳).

به طور کلی اعتقاد بر این است که در اثر تنش آبی میزان جذب پتاسیم در گیاهان افزایش می‌یابد که به دلیل تنظیم فشار اسمزی و نقش یون پتاسیم در کنترل روزنه است (پیرزاد و همکاران، ۱۳۹۴). اما در آزمایش ما، غلظت پتاسیم در گیاهان تحت تنش آبی کاهش یافت که می‌تواند به دلیل کاهش قابلیت دسترسی به این عنصر در شرایط کمبود رطوبت باشد. در واقع در سطوح پایین رطوبت خاک، سرعت انتقال پتاسیم از خاک به سطح ریشه و سرعت جریان آن در واحد طول ریشه کاهش می‌یابد (Kuchenbuch et al., 1986). همچنین تثبیت پتاسیم در خاک، در شرایط کم‌آبی می‌تواند از دیگر دلایل کمبود این عنصر در گیاه باشد. به این صورت که در اثر وجود آب زیاده‌تر، یون‌های یک ظرفیتی مانند پتاسیم در محلول خاک به طور نسبی بیشتر از یون‌های دو ظرفیتی مانند کلسیم و منیزیم افزایش می‌یابد. اما به تدریج که خاک خشک می‌شود، کلونیدهای رس با قدرت بیشتری پتاسیم که یک یون یک ظرفیتی است را به سطح خود جذب کرده و مانع از جدا شدن این یون می‌شوند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین از آنجایی که در اثر تنش، رشد کلی گیاه از جمله فعالیت جذبی ریشه‌ها کاهش می‌یابد، توانایی جذب پتاسیم از سطح کلونیدهای خاک را نخواهند داشت و در نتیجه میزان جذب این عنصر در گیاه کاهش می‌یابد (Radin and Eidenbock, 1984). بر طبق گزارش Rincon و همکاران (۲۰۰۵)، غلظت پتاسیم در نهال‌های کاج تلقیح شده با باکتری سودوموناس فلورسنس افزایش می‌یابد. هرچند که اثر قارچ میکوریزا روی غلظت پتاسیم معنی‌دار نبود، ولی تلقیح گیاهان سرو نقره‌ای با این قارچ موجب افزایش غلظت این عنصر نسبت به گیاهان شاهد فاقد میکوریزا شد. از طرفی گزارش شده است که همزیستی همزمان قارچ و باکتری می‌تواند باعث کاهش اثرات مثبت باکتری در جذب پتاسیم گردد که با نتایج ما مطابقت دارد.

دانست. اغلب فسفر به صورت ترکیب با کلسیم و منیزیم است و باعث کاهش فسفر در دسترس برای گیاه می‌شود و از طرفی میزان بالای فسفاتاز اسید در میکوریزوسفر در مقایسه با ریزوسفر در گیاهان غیر میکوریزایی باعث هیدرولیز فسفر و تحرک فسفر و افزایش جذب فسفر می‌شود (Kapoor et al., 2004). همچنین برخی تحقیقات نشان می‌دهد که میزان بالای فسفاتاز اسید ارتباط نزدیکی با محتوای آب خاک دارد. بنابراین افزایش اسید فسفاتاز خاک با کاربرد قارچ میکوریزا باعث کاهش اثرات تنش خشکی می‌شود (Yang et al., 2014). نتایج تحقیق Grumberg و همکاران (۲۰۱۵) نشان می‌دهد که تجمع فسفر در گیاهان تحت تنش خشکی و شرایط بدون تنش با تلقیح قارچ میکوریزا به طور معنی‌داری نسبت به تیمار عدم تلقیح افزایش یافت. احتمالاً دلیل این امر به خاطر افزایش سطح جذب ریشه به وسیله هیف قارچ می‌باشد.

در میان باکتری‌های محرک رشد گیاه، گروه سودوموناس فلورسنس به دلیل توانایی در تولید دامنه وسیعی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، ترکیبات کلات کننده آهن، تولید اسیدهای آلی از قبیل اسید سوکسینیک و اسید الکتیک و حل کردن فسفر و در نهایت کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای گیاهی اهمیت فراوان دارند و به طور مستقیم یا غیرمستقیم سبب افزایش رشد گیاه می‌گردند. میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات نقش بسیار مهمی در حل ترکیبات نامحلول فسفر در خاک ایفا می‌کنند این باکتری‌ها معمولاً از طریق ترشح اسیدهای آلی و فسفاتازها سبب تبدیل شکل‌های نامحلول معدنی و آلی فسفر به شکل‌های قابل جذب می‌شوند (Kim et al., 1998).

**غلظت پتاسیم در اندام هوایی:** نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که غلظت پتاسیم تحت تأثیر قارچ میکوریزا و اثر متقابل سطح آبیاری و قارچ میکوریزا قرار نگرفت (جدول ۱). در اثر کم‌آبیاری غلظت پتاسیم در اندام هوایی کاهش یافت. همچنین باکتری سودوموناس موجب افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم شد. تأثیر برهمکنش سطح آبیاری و باکتری بر غلظت پتاسیم در اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول



جدول ۳- اثر متقابل آبیاری در باکتری بر غلظت پتاسیم نهال سرو نقره‌ای

پتاسیم (mg.kg.dw)	باکتری	آبیاری
۶۸۰ <sup>b</sup>	-	آبیاری کامل
۹۳۲ <sup>a</sup>	+	
۶۲۹ <sup>c</sup>	-	کم آبیاری
۶۷۹ <sup>b</sup>	+	

† در هر ستون میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح ۵٪ آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

میکروبی توسط گیاه به میکروارگانیسم‌هایی که در بافت ریشه‌ای گیاه حضور دارند و با میکروارگانیسم‌هایی که ارتباط نزدیکی با سطح ریشه برقرار می‌کنند، نسبت داده می‌شود (Bar-ness *et al.*, 1992). از طرفی، کاهش غلظت آهن با اعمال تنش آبی در گیاهان غیر میکوریزایی می‌تواند به این علت باشد که، جذب این عنصر در شرایط کمبود رطوبت خاک، به دلیل کاهش نیروی جذب کنندگی ریشه از طریق اختلال در سیستم انتقال فعال و نفوذپذیری غشاء و کاهش سرعت انتشار مواد غذایی از محیط خاک به سطح جذب کننده‌ی ریشه کاهش می‌یابد (پیرزاد و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین کارایی سیستم ریشه گیاه نیز ممکن است در نتیجه کمبود میزان رطوبت خاک کاهش یابد، که در گیاهان تلقیح شده هیف‌های میکوریزا با نفوذ به اعماق خاک به عنوان جایگزین ریشه گیاه عمل کرده و این نقیصه را بر طرف می‌کند (Friese and Allen, 1991).

**محتوای نسبی آب برگ:** تأثیر برهمکنش آبیاری و قارچ میکوریزا بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین محتوای نسبی آب برگ به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه در شرایط آبیاری کامل برابر ۸۸/۵ درصد و کمترین آن به گیاهان تلقیح نشده در شرایط کم آبیاری برابر ۶۳/۳ درصد تعلق داشت (جدول ۴). همچنین تأثیر برهمکنش قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین محتوای نسبی آب برگ به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه در حضور باکتری برابر ۸۱/۸ درصد و کمترین آن به گیاهان تلقیح نشده در شرایط حضور

**غلظت آهن در اندام هوایی:** تأثیر برهمکنش آبیاری، باکتری و قارچ میکوریزا بر غلظت آهن اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین غلظت آهن برابر ۱۸۹۳ میکروگرم بر گرم ماده خشک به گیاهان تلقیح شده با باکتری سودوموناس و مخلوط دو گونه قارچ در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن برابر ۷۱۹ میکروگرم به گیاهان تلقیح نشده با قارچ و باکتری در شرایط کم آبیاری تعلق داشت (جدول ۲). در اثر کم آبیاری غلظت آهن در اندام هوایی کاهش یافت (جدول ۲). همچنین اثر باکتری روی غلظت آهن اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در تلقیح با میکوریزا میزان آهن در گیاه بالا رفته و میزان کلروفیل افزایش می‌یابد. افزایش در کلروفیل به منزله افزایش فتوسنتز و شاخص‌های رشدی گیاه خواهد بود. میکوریزا به دلیل جذب عناصر تغذیه‌ای باعث افزایش کلروفیل در گیاه می‌شود، که افزایش در غلظت کلروفیل با تلقیح گیاهان مختلف توسط قارچ‌های میکوریزا توسط محققین پیشین ثبت گردیده است (Geneva *et al.*, 2010; Abbaspour *et al.*, 2012). نتایج ما نشان می‌دهد که تیمار میکوریزا اثر معنی‌داری را بر میزان عنصر آهن موجود در بافت گیاه داشته است، که میزان این عنصر در تیمار قارچی مخلوط دو گونه بالا بوده و این تیمار قارچی اختلاف معنی‌داری را با گیاهان شاهد نشان دادند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات از قبیل سودوموناس فلورسنس باقابلیت تولید سیدروفورها می‌توانند سبب شوند که سیدروفور با آهن موجود در خاک تولید کمپلکس آهن و سیدروفور کند و از این طریق سبب افزایش قابلیت استفاده آهن و افزایش رشد گیاه شوند (Neilands, 1981). جذب سیدروفورهای

جدول ۴- اثر متقابل آبیاری در تلقیح میکوریزا بر روی محتوای نسبی آب، محتوای کلروفیل، ارتفاع و شادابی نهال سرو نقره‌ای

شادابی نهال	ارتفاع (سانتی‌متر)	محتوای کلروفیل (میلی‌گرم بر گرم)	محتوای نسبی آب (درصد)	آبیاری	قارچ
۲/۶۷ <sup>ab</sup>	۱۸/۳ <sup>cd</sup>	۲/۳۸ <sup>a</sup>	۸۵/۷ <sup>a</sup>	کامل	عدم تلقیح
۱/۳۴ <sup>c</sup>	۱۵/۲ <sup>f</sup>	۰/۸۴ <sup>d</sup>	۶۳/۳ <sup>c</sup>	کم آبیاری	
۳ <sup>a</sup>	۲۱/۲ <sup>b</sup>	۲/۴۵ <sup>a</sup>	۸۷/۲ <sup>a</sup>	کامل	موسه
۲/۶۷ <sup>ab</sup>	۱۷/۳ <sup>de</sup>	۱/۸۲ <sup>b</sup>	۶۹/۹ <sup>b</sup>	کم آبیاری	
۳ <sup>a</sup>	۲۲/۵ <sup>b</sup>	۲/۲۹ <sup>a</sup>	۸۵/۹ <sup>a</sup>	کامل	اینترادایسس
۲/۱۷ <sup>b</sup>	۱۵/۸ <sup>ef</sup>	۱/۲۲ <sup>cd</sup>	۰/۷۲ <sup>b</sup>	کم آبیاری	
۳ <sup>a</sup>	۲۵/۳ <sup>a</sup>	۲/۵۴ <sup>a</sup>	۸۸/۵ <sup>a</sup>	کامل	مخلوط دو گونه
۲/۵ <sup>ab</sup>	۱۹/۳ <sup>c</sup>	۱/۶۱ <sup>bc</sup>	۷۲/۱ <sup>b</sup>	کم آبیاری	

† در هر ستون میانگین‌های که حداقل یک حرف مشابه دارند، در سطح ۰.۵٪ آزمون LSD با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

پژوهشی گزارش گردید که محتوای نسبی آب بافت گیاهان تحت تنش خشکی با کاربرد قارچ میکوریزا افزایش می‌یابد (Prabhu et al., 2013). در پژوهشی دیگر، محتوای نسبی آب بافت گیاهان تلقیح شده با میکوریزا و گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط غیر تنش، یکسان و در شرایط تنش شدید خشکی با تلقیح گونه گلووموس موسه، افزایش محتوای نسبی آب بافت مشاهده شد که بیانگر هدایت هیدرولیکی بیشتر ریشه این گیاهان در شرایط پتانسیل کم آب است (Gholamhoseini et al., 2013).

نشت یونی: تأثیر برهمکنش آبیاری، باکتری و قارچ میکوریزا بر نشت یونی در سطح احتمال ۵ درصد معنی بود (جدول ۱). بیشترین نشت یونی برابر ۵۶/۶ درصد به گیاهان تلقیح نشده با قارچ و عدم حضور باکتری سودوموناس در شرایط کم آبیاری و کمترین آن برابر ۱۲/۲ درصد به گیاهان تلقیح شده با گونه قارچ اینترادایسس و حضور باکتری در شرایط آبیاری کامل تعلق داشت (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که سطح آبیاری بر نشت یونی گیاه سرو نقره‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). با کاهش آب آبیاری میزان نشت یونی به‌طور معنی‌داری افزایش ۳۶ درصدی داشت (داده‌ها ارائه نشده است). در تأیید نتایج این پژوهش، نتایج Asrar و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد

باکتری برابر ۷۵/۲ درصد تعلق داشت (داده‌ها ارائه نشده است). در اثر کم آبیاری محتوای نسبی آب کاهش یافت (جدول ۴). اثر باکتری بر روی محتوای نسبی آب معنی‌دار نبود (جدول ۱). به‌طور کلی، صرف‌نظر از حضور باکتری، میزان کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر کم آبیاری در گیاهان تلقیح شده با گونه‌های میکوریزا در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده کمتر بود. به‌عبارت دیگر، تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا اثرات منفی تنش کم آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ را کاهش داده است. اظهار می‌دارند که محتوای نسبی برگ از شاخص‌های مرتبط با فتوسنتز و عملکرد بالا می‌باشد. محتوای نسبی آب برگ شاخص مناسبی از وضعیت آب در برگ است و در صورت تشدید شدن تنش خشکی به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و در نتیجه باعث افزایش نشت الکترولیت سلول می‌شود (Fu et al., 2004). نتایج تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که محتوای نسبی آب بافت گیاهان تحت تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و تلقیح گیاه با قارچ میکوریزا باعث جبران محتوای نسبی آب بافت در شرایط تنش می‌شود (Asrar et al., 2012). قارچ میکوریزا باعث افزایش طول ریشه و تغییر سیستم مورفولوژی ریشه برای جستجوی آب بیشتر نسبت به گیاهان فاقد میکوریزا می‌شود که می‌تواند باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شود (Kaya et al., 2003). در

تنظیم اسمزی بهتر، موجب افزایش تحمل به خشکی گیاهان تلقیح شده می‌گردد (Auge, 2001). گیاهان تلقیح شده با میکوریزا تحت شرایط آبیاری کامل وضعیت آب بهتری را در بافت‌های خود در مقایسه با سایر تیمارها دارند، بنابراین این گیاهان نیاز کمتری به تجمع پرولین در بافت خود دارند که برخی محققین نیز نتایج مشابهی را در این زمینه گزارش کرده‌اند (Ruiz-Lozano *et al.*, 2011).

**محتوای کلروفیل:** تأثیر برهمکنش آبیاری و قارچ میکوریزا بر محتوای کلروفیل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین محتوای کلروفیل برابر ۲/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه قارچ در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن برابر ۰/۸۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به گیاهان تلقیح نشده در شرایط کم‌آبیاری تعلق داشت (جدول ۴). در اثر کم‌آبیاری محتوای کلروفیل کاهش یافت. به‌طورکلی، صرف‌نظر از نوع گونه قارچی میزان کاهش محتوای کلروفیل در اثر تنش آبی در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده کمتر بود. اثر باکتری بر روی محتوای کلروفیل معنی‌دار نبود (جدول ۱). به نظر می‌رسد که دلیل کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش، کاهش تولید آن از طریق اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و در شرایط تنش شدید به‌واسطه افزایش فعالیت کلروفیل‌لاز و در نتیجه تجزیه کلروفیل توسط گونه‌های فعال اکسیژن در بافت برگ باشد (Bagheri *et al.*, 2012).

در تأیید نتایج مطالعه حاضر، کاهش کلروفیل تحت تنش خشکی توسط محققین پیشین گزارش شده است (Abdalla and El-Khoshiban, 2007; Abbaspour *et al.*, 2012). در پژوهشی کلروفیل گیاهان تحت تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و تلقیح گیاه با قارچ میکوریزا باعث بهبود کلروفیل در شرایط تنش خشکی شد و با افزایش سطوح تنش خشکی میزان کلروفیل گیاه کاهش یافت و این میزان در گیاهان تلقیح شده بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود (Asrar *et al.*, 2012). با توجه به نتایج، اثرات مطلوب تلقیح گیاهان با میکوریزا در افزایش و میزان کلروفیل برگ تا حدود زیادی به دلیل بهبود

که نشأت یونی گیاهان تحت تنش خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و کاربرد قارچ میکوریزا باعث کاهش نشأت یونی در شرایط تنش نسبت به شرایط عدم تلقیح شد. این محققین چنین بیان کردند که علت کاهش نشأت یونی به وسیله تیمار کردن گیاه با قارچ می‌تواند به خاطر بهبود جذب عناصر غذایی و در نتیجه تنظیم فشار اسمزی سلول باشد.

**محتوای پرولین:** تأثیر برهمکنش آبیاری، باکتری و قارچ میکوریزا بر محتوای پرولین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان پرولین برابر ۰/۶۶ میکرومول بر گرم وزن تر اندام هوایی به گیاهان تلقیح نشده با قارچ و عدم حضور باکتری سودوموناس در شرایط کم‌آبیاری و کمترین آن برابر ۰/۱۱ میکرومول به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه قارچ اینترادیسس و حضور باکتری در شرایط آبیاری کامل تعلق داشت (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که سطح آبیاری بر محتوای پرولین گیاه سرو نقره‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). با کاهش آب آبیاری میزان پرولین به‌طور معنی‌داری بیش از ۲ برابر افزایش داشت (داده‌ها ارائه نشده است). اثر باکتری بر روی محتوای پرولین معنی‌دار نبود (جدول ۱). در بررسی Abbaspour و همکاران (۲۰۱۲) عنوان شد که کاهش تجمع پرولین در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا تحت تنش خشکی بیانگر افزایش مقاومت یا کاهش آسیب گیاهان به تنش خشکی نسبت به گیاهان تلقیح شده است. نتایج تحقیق دیگری نشان داد که کاربرد قارچ میکوریزا گونه موسه باعث کاهش پرولین تجمع یافته در گیاهان تحت تنش خشکی می‌شود (Abdelmoneim *et al.*, 2014). نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که میزان پرولین در گیاهان تیمار شده با میکوریزا کمتر از گیاهان تیمار نشده در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Abbaspour *et al.*, 2012; Abdelmoneim *et al.*, 2014). میزان پرولین کمتر در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا نشان دهنده مقاومت گیاه به تنش خشکی می‌باشد. غلظت‌های پایین پرولین، خسارت تنش خشکی را در گیاهان میکوریزایی به‌عنوان مکانیسم اجتناب از خشکی کاهش می‌دهد. در صورتیکه، سطوح بالای پرولین با

هوایی به طور معنی داری و در حدود ۲۴ درصد افزایش داشت. صرف نظر از گونه قارچی به نظر می رسد که تلقیح نهال سرو نقره‌ای با قارچ میکوریزا می تواند موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی این گیاهان تحت شرایط تنش آبی گردد. اثر باکتری بر روی وزن خشک اندام هوایی معنی دار بود (جدول ۱).

در چندین پژوهش انجام شده تیمارهای میکوریزا، باکتری‌های محرک رشد و کاربرد تلفیقی آن‌ها سبب افزایش رشد رویشی درختان شد ( Rincon et al., 2005; Dominguez-Nunez et al., 2013). همچنین گیاهان تلقیح شده با میکوریزا وزن خشک شاخساره بیشتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی داشتند (Wu et al., 2006). نتایج تحقیق Abdelmoneim و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که تلقیح گیاهان باعث افزایش تمام شاخص‌های رشدی از جمله وزن خشک گیاه در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده در شرایط تنش و بدون تنش می شود و دلیل این امر را به خاطر افزایش جذب آب و عناصر غذایی توسط ریشه به دلیل افزایش سطح ریشه با هیف قارچ بیان کردند.

باکتری‌های محرک رشد ممکن است با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص به طور مستقیم و یا غیرمستقیم موجب بهبود شاخص‌های رشد و نمو گیاه گردند ( Banerjee et al., 2005). در روش مستقیم باکتری‌ها با سنتز یکسری از مواد مانند تولید فیتوهورمون‌ها (اکسین، جبرلیک اسید، سیتوکینین)، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه، تثبیت غیرهمزیستی نیتروژن مولکولی، فعالیت آنزیم ACC دامیناز و تسهیل جذب عناصر غذایی از محیط توسط گیاه باعث افزایش رشد گیاه و تولید محصول در واحد سطح می شوند. در روش غیرمستقیم باکتری‌های محرک رشد گیاه با تخلیه ریزوسفر از آهن، رقابت با گونه‌های مضر برای اشغال ریشه، کنترل پاتوژن‌های گیاهی از طریق ایجاد رابطه آنتاگونیستی با آنها به وسیله تولید آنتی‌بیوتیک، سیانید نیتروژن، کیتیناز، سیدروفور و بتا ۱ و ۳ گلوکاناز، موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده و

روابط آبی و جذب عناصر غذایی در گیاهان سرو نقره‌ای تلقیح شده با این قارچ‌ها می باشد که با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد ( Abbaspour et al., 2012; Abdelmoneim et al., 2014).

**ارتفاع گیاه:** تأثیر برهمکنش آبیاری و قارچ میکوریزا بر ارتفاع نهال سرو نقره‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین ارتفاع برابر ۲۵/۳ سانتی متر به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه قارچ در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن برابر ۱۵/۲ میلی گرم بر گرم وزن تر به گیاهان تلقیح نشده در شرایط کم آبیاری تعلق داشت (جدول ۴).

در اثر کم آبیاری ارتفاع گیاهان به طور معنی داری کاهش یافت. به طور کلی، صرف نظر از نوع گونه قارچی میزان رشد گیاه سرو نقره‌ای در شرایط تنش آبی در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده بیشتر بود. اثر باکتری بر روی ارتفاع گیاه معنی دار نبود (جدول ۱).

در تحقیقی نقش قارچ‌های میکوریزا بر روی رشد نهال و درختان بالغ کاج *Pinus elliotii* بررسی شد و مشخص شد که هرچه همزیستی نهال‌ها با این قارچ‌ها بیشتر باشد رشد و در نتیجه بقای آن‌ها افزایش می یابد (Hoyos, 2010). در اثر تنش خشکی محتوای نسبی آب بافت کاهش یافته و در نتیجه کاهش تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول را به همراه دارد و با کاهش رشد سلول، ارتفاع گیاه نیز کاهش می یابد که در این آزمایش مشاهده شد.

**وزن خشک اندام هوایی:** تأثیر برهمکنش آبیاری، قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین وزن خشک اندام هوایی برابر ۳/۲۵ گرم به گیاهان تلقیح شده با مخلوط دو گونه قارچ و حضور باکتری در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن برابر ۱/۱۵ گرم به گیاهان تلقیح نشده در شرایط عدم باکتری و کم آبیاری تعلق داشت (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که سطح آبیاری بر وزن خشک اندام هوایی گیاه سرو نقره‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار می باشد (جدول ۱). با کاهش آب آبیاری وزن خشک اندام

مطرح شود که موجب کاهش ورود کودهای شیمیایی و در نتیجه جلوگیری از آلودگی منابع آب و خاک شود (Sousa et al., 2012).

### نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا در غالب موارد موجب افزایش جذب آب و عناصر غذایی توسط این گیاهان به ویژه در شرایط کم آبیاری گردید. میزان کاهش وزن خشک اندام هوایی در اثر کم آبیاری در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا کمتر بود که بیانگر تأثیر مثبت تلقیح با میکوریزا بر مقاومت به کم آبیاری گیاه سرو نقره‌ای می‌باشد. هرچند که برخلاف انتظار ما، نقش باکتری *سودوموناس فلورسنس* چندان چشمگیر نبود، اما این باکتری در سطحی پایین‌تر از قارچ میکوریزا آریسکولار توانست اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را بهبود ببخشد. در واقع استفاده از قارچ‌های میکوریزا آریسکولار که با دارا بودن هیف‌ها و میسلیم‌های درون و برون ریشه‌ای، منطقه تخلیه ریشه را برای جذب آب و مواد غذایی گسترش می‌دهند به همراه استفاده از باکتری *سودوموناس فلورسنس* می‌تواند اثر مثبتی بر حفظ و بقای گیاه سرو نقره‌ای در شرایط تنش آبی داشته باشد. با توجه به نتایج این آزمایش استفاده از قارچ‌های میکوریزا در کنار باکتری *سودوموناس فلورسنس* می‌تواند به‌عنوان یک راهکار بیولوژیک جهت بهبود رشد نهال سرو نقره‌ای بخصوص در شرایط تنش آبی مورد استفاده قرار گیرد.

افزایش رشد گیاه می‌شوند (Banerjee et al., 2005; Dominguez-Nunez et al., 2013).

**شادابی نهال:** تأثیر بر همکنش آبیاری و قارچ میکوریزا بر شادابی نهال سرو نقره‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان شادابی به گیاهان تلقیح شده با گونه‌های مختلف قارچ در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن به گیاهان تلقیح نشده در شرایط کم آبیاری تعلق داشت (جدول ۴). نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که سطح آبیاری بر شادابی گیاه سرو نقره‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). با کاهش آب آبیاری شادابی نهال‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش داشت. تلقیح قارچ به تنهایی بر روی شادابی نهال اثر معنی‌داری داشت اما بین گونه‌های قارچی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با حضور باکتری *سودوموناس* تأثیری معنی‌داری بر روی شادابی نهال مشاهده نشد (جدول ۱).

نقش قارچ‌های میکوریزا در بهبود رشد، شادابی و بقای درختان کاملاً شناخته شده است. استفاده از این قارچ‌ها در تولید نهال در خزانه به‌عنوان یک برنامه مدیریتی مناسب به‌منظور افزایش رشد، بهبود کیفیت، عملکرد و در نتیجه بقای نهال مطرح است (Oliveira et al., 2012). میکوریزا می‌تواند رشد و بقای گیاه را از طریق بهبود جذب عناصر غذایی و آب از خاک، افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زنده (مانند بیماری‌ها) و تنش‌های غیرزنده (مانند فلزات سمی) افزایش دهد. بنابراین استفاده از قارچ‌های میکوریزا در تولید نهال در خزانه می‌تواند به‌عنوان یک روش سازگار با محیط‌زیست

### منابع

- پیرزاد، ع.، شکیبیا، م.، ر.، زهتاب سلماسی، س. و محمدی، س. ا. (۱۳۹۴) تأثیر تنش آبی بر میزان جذب برخی عناصر غذایی در بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) زراعت (پژوهش و سازندگی) ۱۰۴: ۱-۷.
- حسینی، س. م.، علی عرب، ع.، اکبری نیا، م.، جلالی، س. غ.، طبری، م.، علمی، م. و رسولی اکردی، ی. (۱۳۸۵) اثر تیمارهای مختلف شدت نور بر رشد ارتفاعی، شادابی و زنده مانی نهال‌های سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica* Green) در نهالستان. پژوهش و سازندگی ۷۲: ۲۵-۳۱.
- شول، ا.، شمشیری، م. ح.، اخگر، ع. و اسماعیلی زاده، م. (۱۳۹۳) اثر قارچ میکوریزا آریسکولار و باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر رشد رویشی دانه‌های پسته رقم قزوینی در چهار رژیم آبیاری مختلف. علوم باغبانی ایران ۴: ۲۹۷-۳۰۷.
- کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان، انتشارات

جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد.

- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H. and Abdel-Wahhab, M. A. (2012) Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Journal of Plant Physiology* 169: 704-709.
- Abdalla, M. M. and El-Khoshiban, N. H. (2007) The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *Journal of Applied Sciences Research* 3: 2062-2074.
- Abdelmoneim, T. S., Moussa, T. A. A., Almaghrabi, O. A., Alzahrani, H. S. and Abdelbagi, I. (2014) Increasing plant tolerance to drought stress by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Life Science* 11: 10-17.
- Albaugh, T. J., Allen, H. L., Dougherty, P. M. and Johnsen, K. H. (2004) Long term growth responses of loblolly pine to optimal nutrient and water resource availability. *Forest Ecology and Management* 192: 3-19.
- Arenla, S. and Ajungla, T. (2014) Effect of soil moisture and soil pH of ectomycorrhizal colonization on *dipterocarpus retusus* blume seedlings. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research* 3: 102-107.
- Asrar, A. A., Abdel-Fattah, G. M. and Elhindi, K. M. (2012) Improving growth, flower yield, and water relations of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) plants grown under well-watered and water-stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi. *Photosynthetica*. 50: 305-316.
- Auge, R. M. (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Bagheri, S., Rijkeboer, M. and Gitelson, A. (2012) Utility of field spectroradiometer data in chlorophyll-a estimation. *Remote Sensing* 5: 90-95.
- Banerjee, M. R., Yesmin, L., Vessey, J. K. and Rai, M. K. (2005) Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. *Handbook of Microbial Biofertilizers* 137-181.
- Bar-ness, E., Hadar, Y., Chen, Y., Shanzer, A. and Libman, J. (1992) Iron uptake by plants from microbial siderophores. *Plant Physiology* 99: 1329-1335.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Black, C. A., Klute, A., Miller, R. H. and Page, A. L. (1965) Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties. *American Society of Agronomy* 9:891-901.
- Blum, A. and Ebercon, A. (1981) Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science* 21: 43-47.
- Crahay, C., Wevers, J., Munaut, F., Colpaert, J. V. and Declerck, S. (2013) Cryopreservation of ectomycorrhizal fungi has minor effects on root colonization of *Pinus sylvestris* plantlets and their subsequent nutrient uptake capacity. *Mycorrhiza* 23: 463-471.
- Dominguez-Nunez, J. A., Munoz, D., De La Cruz, A. and Saiz de Omenaca, J. A. (2013) Effects of *Pseudomonas fluorescens* on the water parameters of mycorrhizal and non-mycorrhizal seedlings of *Pinus halepensis*. *Agronomy* 3: 571-582.
- Fini, A., Frangi, P., Amoroso, G., Piatti, R., Faoro, M., Bellasio, C. and Ferrini, F. (2011) Effect of controlled inoculation with specific mycorrhizal fungi from the urban environment on growth and physiology of containerized shade tree species growing under different water regimes. *Mycorrhiza* 21: 703-719.
- Friese, C. F. and Allen, M. F. (1991) The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia* 83: 409-418.
- Fu, J., Fry, J. and Huang, B. (2004) Minimum water requirements of four turfgrasses in the transition zone. *HortScience* 39: 1740-1744.
- Geneva, M. P., Stancheva, I. V., Boychinova, M. M., Mincheva, N. H. and Yonova, P. A. (2010) Effects of foliar fertilization and arbuscular mycorrhizal colonization on *Salvia officinalis* L. growth, antioxidant capacity, and essential oil composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 696-702.
- Gholamhoseini, M., Ghalavand, A., Dolatabadian, A., Jamshidi, E. and Khodaei-Joghan, A. (2013) Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agricultural Water Management* 117:106-114.
- Ghoulam, C., Foursy, A. and Fares, K. (2002) Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in fivesugar beet cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 47: 39-50.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- Grumberg, B. C., Urcelay, C., Shroeder, M. A., Vargas-Gil, S. and Luna, C. M. (2015) The role of inoculum identity in drought stress mitigation by arbuscular mycorrhizal fungi in soybean. *Biology and Fertility of Soils* 51: 1-10.
- Hoyos, T. W. L. (2010) *Pinus elliottii* var. densa seedling performance reflects ectomycorrhizas, soil nutrient availability and root competition. *University of Miami*, 12-15.
- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K. G. (2004) Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill. on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology* 93: 307-311.

- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H. and Tas, I. (2003) Mycorrhizal colonisation improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil* 253: 287-292.
- Kim, K. Y., Jordan, D. and McDonald, G. A. (1998) Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils* 26: 79-87.
- Kuchenbuch, R., Claassen, N. and Jungk, A. (1986) Potassium availability in relation to soil moisture. *Plant and Soil* 95: 233-243.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology* 148: 350-382.
- Neilands, J. B. (1981) Iron absorption and transport in microorganisms. *Annual Review of Nutrition* 1: 27-46.
- Oliveira, R. S., Franco, A. R. and Castro, P. M. L. (2012) Combined use of *Pinus pinaster* plus and inoculation with selected ectomycorrhizal fungi as an ecotechnology to improve plant performance. *Ecological Engineering* 43: 95-103.
- Plamboeck, A. H., Dawson, T. E., Egerton-Warburton, L. M., North, M., Bruns, T. D., Porcel, R. and Ruiz-Lozano, J. M. (2004) Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany* 55: 1743-1750.
- Prabhu, D., Shankar, T., Sathyavathe, V. and Sankaralingam, S. (2013) Influence of *Arbuscular mycorrhizal* fungi on the growth of green gram (*Vigna radiata* L.) grown under water stress conditions. *World Applied Sciences Journal* 25: 561-567.
- Radin, J. W. and Eidenbock, M. P. (1984) Hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus-deficient cotton plants. *Plant Physiology* 75: 372-377.
- Rincon, A., Ruiz-Diez, B., Garcia-Fraile, S., Garcia, J. A. L., Fernandez-Pascual, M., Pueyo, J. J. and de Felipe, M. R. (2005) Colonisation of *Pinus halepensis* roots by *Pseudomonas fluorescens* and interaction with the ectomycorrhizal fungus *Suillus granulatus*. *FEMS Microbiology Ecology* 51: 303-311.
- Ruiz-Lozano, J. M., del Carmen Peralvarez, M., Aroca, R. and Azcon, R. (2011) The application of a treated sugar beet waste residue to soil modifies the responses of mycorrhizal and non mycorrhizal lettuce plants to drought stress. *Plant and Soil* 346: 153-166.
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S. and Bhatti, A. S. (2007) Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 34: 635-648.
- Shachnovich, Y., Berliner, P. R. and Bar, P. (2008) Rainfall interception and spatial distribution of throughfall in a pine forest planted in an arid zone. *Journal of Hydrology* 349: 168-177.
- Siemens, J. A. (2008) Effects of nitrogen, pH, and Mycorrhizal fungi on the growth, water relations, and physiology of Trembling Aspen (*Populus tremuloides*) and Balsam Poplar (*Populus balsamifera*). PhD thesis, Alberta University, Alberta, Canada.
- Siemens, J. and Zwiazek, J. J. (2004) Changes in root water flow properties of solution culture-grown trembling aspen (*Populus tremuloides*) seedlings under different intensities of water-deficit stress. *Physiologia Plantarum* 121: 44-49.
- Sohrabi, Y., Heidari, G., Weisany, W., Golezani, K. G. and Mohammadi, K. (2012) Changes of antioxidative enzymes, lipid peroxidation and chlorophyll content in chickpea types colonized by different *Glomus* species under drought stress. *Symbiosis* 56:5-18.
- Sousa, N. R., Franco, A. R., Oliveira, R. S. and Castro, P. M. L. (2012) Ectomycorrhizal fungi as an alternative to the use of chemical fertilisers in nursery production of *Pinus pinaster*. *Environmental Management* 95: 269-274.
- Tausz, M., Wonisch, A., Peters, J., Jimenez, M. S., Morales, D. and Grill, D. (2001) Short-term changes in free radical scavengers and chloroplast pigments in *Pinus canariensis* needles as affected by mild drought stress. *Journal of Plant Physiology* 158: 213-219.
- Ward, E. J., Domec, J. C., Laviner, M. A., Fox, T. R., Sun, G., McNulty, S., King, J. and Noormets, A. (2015) Fertilization intensifies drought stress: Water use and stomatal conductance of *Pinus taeda* in a midrotation fertilization and throughfall reduction experiment. *Forest Ecology and Management* 355: 72-82.
- Wu, Q. S., Zou, Y. N. and Xia, R. X. (2006) Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. *European Journal of Soil Biology* 42: 166-172.
- Yang, G., Liu, N., Lu, W., Wang, S., Kan, H., Zhang, Y., Xu, L. and Chen, Y. (2014) The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and soil phosphorus availability influences plant community productivity and ecosystem stability. *Journal of Ecology* 102: 1072-1082.

## Application of *Pseudomonas Flourescens* bacteria and two species of AM fungi on water deficit tolerance of Arizona cypress seedlings (*Cupressus arizonica* G)

Hamed Aalipour<sup>1</sup>, Ali Nikbakht<sup>1\*</sup>, Farhad Rejali<sup>2</sup> and Mohsen Soleimani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan

<sup>2</sup>Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj

<sup>3</sup>Department of Natural Resources Isfahan University of Technology, Isfahan

(Received: 19/09/2017, Accepted: 15/04/2018)

### Abstract

Trees in greenbelts always lose their vitality for various reasons, and decline or dieback are experiencing. One of the factors that can affect the decline of trees is drought stress. This study was conducted to evaluate the effects of inoculation with mycorrhizal fungi (*Rhizophagus intraradices* and *Funneliformis mosseae* inoculated, and the combination of both species) and growth promoting bacteria; *Pseudomonas Flourescens* on growth responses of *Cupressus arizonica* in experiencing stress induced by a water deficit as a factorial experiment based on completely randomized design, with 3 replications. In this study, the Interactions between fungi, bacteria and deficit irrigation on the concentration of phosphorus and iron, ion leakage, proline content and shoot dry weigh were significant. Under deficit irrigation most of the treatments such as colonization rate (by 39%), phosphorus (by 33%), potassium (by 16%) and iron (by 25%) cocentration, relative water content (by 25%), chlorophyll content (by 76%), height (by 29%), shoot dry weight (by 41%) and the Cupressus vitality (by 35%) decreased; on the contrary, the percentage of electrolyt leakage (by 36%) and proline content (by 122%) increased. Moreover, inoculation with mycorrhizal fungus increased the concentration of phosphorus and iron, relative water content, chlorophyll content, height, shoot dry weight but reduced ion leakage and proline content and led to improvement of plants growth and vitality. The presence of *Pseudomonas* alone did not have a significant role in improving the growth of plants under water stress conditions, but its interaction with mycorrhizal fungus showed positive effects. In general, the results of this experiment showed that inoculation of cupressus plant with mycorrhizal fungus with the use of *P. florescent* bacteria can have a positive effect on the survival of this plant under water stress conditions.

**Key words:** Conifers, Plant growth promoting rhizobacteria, Symbiosis, Useful microorganisms, Water stress