Archive of SID

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد سیزدهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۹
۴۲۵-۴۴۰
http://dx.doi.org/ 10.22077/escs.2019.2136.1533

مقاله پژوهشی

اثر قارچ مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و برخی صفات مورفوفیزیولوژیک همیشه‌بهار دارویی (*Calendula officinalis* Linn.) تحت تنش خشکی

مهدی صاحب حسن[1]، یحیی سلاح ورزی[1*]، جعفر نباتی[2]، مجید عزیزی[1]
۱. گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد
۲. پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۰۶

چکیده

به‌منظور بررسی اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ مایکوریزا تحت شرایط تنش خشکی در زمستان و بهار سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۷ آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. عامل اول استفاده از کود زیستی در ۸ سطح (شامل ترکیب‌های مختلفی از باکتری‌های سودوموناس، ازتوباکتر و قارچ مایکوریزا) و عامل دوم تنش خشکی در دو سطح (۱۰۰ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) بود. نتایج نشان داد که با کاهش ظرفیت زراعی خاک از ۱۰۰ به ۵۰ درصد ظرفیت زراعی ارتفاع گیاه، تعداد برگ، تعداد گل، قطر گل، وزن‌تر اندام هوایی و ریشه، تعداد شاخه جانبی، شاخص سبزینگی و محتوی نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. همچنین بالاترین مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مورد آزمایش، تحت هر دو شرایط رطوبتی خاک در تیمارهای Ps، M+Az و Ps+Az به دست آمد. از طرفی با کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* به‌تنهایی و یا در ترکیب با قارچ مایکوریزا در شرایط اعمال تنش (۵۰٪ ظرفیت زراعی) صفات رشدی در گیاه مثل تعداد برگ، تعداد گل، قطر گل، تعداد ساقه جانبی و شاخص سبزینگی بهبود یافتند. تعداد گل در تیمار کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی خاک برابر ۱۸/۵۰ بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کودهای زیستی در ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) ۷۷٪ افزایش داشت. بیشترین شاخص سبزینگی در تیمار کاربرد توأم مایکوریزا و باکتری *Azotobactore chroococcum* در شرایط رطوبتی ۵۰٪ ظرفیت زراعی (۳۳/۹۲) حاصل شد. درنهایت می‌توان بیان کرد کاربرد قارچ *Pseudomonas fluorescens* در خاک به‌تنهایی یا توأم با قارچ مایکوریزا در گیاه همیشه‌بهار در شرایط تنش خشکی قابلیت بهبود رشد گیاه را داشته و منجر به افزایش کارایی گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: **تعداد گل، حداکثر کارایی فتوسیستم II، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای رطوبت نسبی، نشت الکترولیت.**

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکنندهٔ رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی است که تقریباً تولید ۲۵ درصد اراضی جهان را محدود ساخته است (Abedi and Pakniyat, 2010). حتی گاهی یک تنش ملایم می‌تواند با اثر روی حساس‌ترین فرآیندها، رشد و عملکرد هر گیاهی را به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش دهد (Pirzad et al., 2011). تأمین آب کافی برای رشد گیاه قبل از وقوع اثرات نامطلوب تنش آب بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه بسیار مهم است (Pirzad et al., 2011). تنظیم اسمزی به‌عنوان جزئی مهم از مکانیسم تحمل به تنش خشکی در گیاهان در نظر گرفته می‌شود (Omidi, 2010).

* نگارنده پاسخگو: یحیی سلاح ورزی. پست الکترونیک: selahvarzi@um.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

جهت کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی بر گیاه راهکارهای گوناگونی پیشنهادشده است که ازجمله آن‌ها مشارکت با تعدادی از میکرو ارگانیسم‌ها است (Porcel et al., 2004). قارچ‌های میکوریزا از بااهمیت‌ترین میکروارگانیسم‌های موجود در اغلب خاک‌های تخریب نشده می‌باشند. به‌طوری‌که بر طبق تخمین‌های موجود حدود ۷۰ درصد از توده زنده جامعه میکروبی خاک‌ها را میسیلیوم این قارچ‌ها تشکیل می‌دهد (Mukerji and Chamola, 2003). عقیده بر این است که همزیستی قارچی میکوریزا آرباسکولار از گیاهان در برابر صدمات تنش خشکی محافظت می‌کند (Auge et al., 2015). یکی دیگر از این میکروارگانیسم‌ها باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌باشند. این باکتری‌ها گروهی از باکتری‌های ریزوسفری مفید می‌باشند که می‌توانند به‌طور مستقیم (تثبیت نیتروژن، تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه، تولید ویتامین‌ها و دیگر مواد محرک رشد گیاه) و یا غیرمستقیم (تولید آنزیم‌های هضم‌کننده دیواره سلولی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده) موجب افزایش رشد گیاه شوند (Vessey, 2003). باکتری‌های فراریشه‌ای (ریزوسفری) محرک رشد گیاه (PGPR) اغلب در تماس با گیاه هستند و با سازوکارهایی مانند آزادسازی اسیدهای آلی و افزایش حلالیت عناصر کانی مانند فسفر و آهن سبب تسریع در رشد گیاه در مرحله جوانه‌زنی و تحریک رشد در مراحل بعد می‌شوند (Vessey, 2003). این باکتری‌ها با تحریک ترشح اکسین‌ها باعث افزایش طول ریشه و درنتیجه افزایش سطح نفوذ ریشه می‌شوند (Vessey, 2003). قارچ‌ریشه‌ها با گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها اثر متقابل دارند. این اثر متقابل در ناحیه‌ای از خاک در اطراف ریشه‌ها و ریسه‌های (هیف) قارچی به نام قارچ فراریشه (میکوریزوسفر) رخ می‌دهد. برخی از این باکتری‌ها جوانه‌زنی قارچ‌ریشه آربسکولار و نسبت رشد آن و برخی دیگر فیزیولوژی گیاهان را (به‌عنوان‌مثال، با افزایش نفوذپذیری یاخته‌های ریشه) تحت تأثیر قرار می‌دهند. این اثر متقابل می‌تواند به‌طور غیرمستقیم با تأثیر برجذب مواد غذایی، مهار قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی و افزایش انشعاب ریشه‌های گیاهان، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Marulanda et al, 2009). افزون بر این گزارش‌هایی نیز در رابطه با استقرار (کلون سازی) ریسه‌های قارچ‌ریشه آربسکولار با باکتری‌های محرک رشد گیاه وجود دارد. گزارش‌شده است که گونه‌هایی از ریزوبیوم و سودوموناس در شرایط سترون به اسپورهای جوانه‌زده و ریسه‌های قارچ ریشه آربسکولار متصل می‌شوند و درصد اتصال آن‌ها بسته به سویه (استرین) باکتری متفاوت است (Artursson and Jansson, 2003). باکتری‌های محرک رشد گیاه مختلف، توانایی اتصال به نواحی فیزیولوژیک متفاوت ریسه را دارند (Artursson and Jansson, 2003). تیمارهایی که با هر دو قارچ ریشه و باکتری مایه‌کوبی (اینوکوله) می‌شوند، زیست‌توده گیاه و تجمع نیتروژن و فسفر در بافت‌های گیاهی را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش می‌دهند (Khandan and Mirkohi, 2016). کادر و همکاران (Kader et al., 2002) اثر تلقیح ازتوباکتر بر وزن خشک و بیوماس ریشه گیاهان گندم را یک اثر مثبت و معنی‌دار گزارش نموده‌اند و آن را به تولید هورمون‌های محرک رشد توسط ازتوباکتر نسبت دادند. خندان میرکوهی و همکاران (Khandan-Mirkohi et al., 2016) تأثیر تلقیح مشترک باکتری‌های محرک رشد و قارچ ریشه (*Glomus mosseae*) بر شاخص‌های رشدی گل استئوسپرموم را معنی‌دار گزارش کرده و اعلام کردند همه شاخص‌های رشد مورد ارزیابی در تیمارهای همزیست با مخلوط باکتری‌های محرک رشد و قارچ ریشه، در سطوح آبیاری ۷۰ درصد و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از شاهد بود. خرمدل و همکاران (Khorramdel et al., 2005) در بررسی اثر تلقیح با ازتوباکتر و قارچ مایکوریزا بر گیاه سیاه‌دانه مشاهده نمودند ک کاربرد کودهای زیستی منجر به افزایش ارتفاع، شاخص سطح برگ، تجمع ماده خشک و سرعت رشد محصول نسبت به شاهد گردیده است. همچنین راتی و همکاران (Ratti et al., 2001) گزارش کرد ترکیب قارچ مایکوریزا با باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش بیوماس و میزان فسفر در گیاه دارویی علف لیمو شد.

همیشه‌بهار گیاهی یک‌ساله و متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) و یکی از گیاهان دارویی شناخته‌شده است که امروزه از گل و اسانس آن در داروسازی و صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده فراوانی می‌شود (Arora et al., 2013). همیشه‌بهار گیاهی علفی، یک‌ساله و بندرت دوساله با ساقه منشعب و سفت است. این گیاه رشدونمو سریعی دارد، به‌طوری‌که ۴۰ تا ۵۰ روز بعد از سبز شدن به گل می‌رود (Omidbeigi, 2000). افزایش جمعیت و نیاز صنایع داروسازی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولید دارو و

www.SID.ir

Archive of SID

اهمیت مواد مؤثره آن‌ها در صنایع مختلف، سبب کشت و تولید گیاهان دارویی شده است (Abdullaev and Espinosa, 2004). با توجه به نیاز صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولیدات صنایع مذکور، کشت گیاهان دارویی در کشور ایران نیز در حال گسترش است (Omidibeigi, 2000).

اگرچه مطالعات زیادی برای ارزیابی تحمل به تنش خشکی در گونه‌های دارویی مختلف انجام‌شده است، تاکنون برای ارزیابی اثر برهمکنش خشکی و تأثیر کودهای زیستی و قارچ مایکوریزا و نحوه اعمال آن بر گیاه دارویی همیشه‌بهار مطالعات اندکی صورت گرفته است. لذا با توجه به اهمیت گیاه دارویی همیشه‌بهار هدف از این تحقیق، بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد و قارچ مایکوریزا تحت تأثیر خشکی بر صفات فیزیکوشیمیایی همیشه‌بهار است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و قارچ مایکوریزا بر گیاه همیشه‌بهار رقم Pacific beauty orange تحت شرایط تنش خشکی در زمستان و بهار سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار بود. فاکتور اول استفاده از کودهای زیستی در ۸ سطح شامل (۱) باکتری *Pseudomonas fluorescens* ترکیب سه سویه ۱۳۶، ۱۶۸، ۴۱ (Ps)، (۲) باکتری *Azotobactore chroococcum* سویه‌های ۹ (A9) و ۲۰ (A20) (Az)، (۳) قارچ مایکوریزا با ترکیبی از سه سویه *Glomus mosseae*، *Glomus intradices*، *Glomus etunicatum* (M)، (۴) Ps + M، (۵) Az + M، (۶) Az + Ps + M(۷)، و (۸) شاهد (عدم استفاده از باکتری و قارچ) و فاکتور دوم تنش خشکی در دو سطح (۱۰۰ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) بودند. کودهای زیستی استفاده‌شده در این پژوهش شامل قارچ مایکوریزا و دو باکتری *Azotobactore chroococcum* و *Pseudomonas fluorescens* از موسسه تحقیقات خاک و آب، بخش تحقیقات بیولوژی خاک تهران تهیه شد. باکتری سودوناموس فلورسنس ترکیبی از سویه‌های ۱۳۶، ۱۶۸ و ۴۱ بود. باکتری‌های موردنظر ابتدا در آزمایشگاه بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب کرج فرموله و تهیه شدند. جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح، $۹/۸\times۱۰^{۷}$ CFU/ml برآورد شد (بر اساس روش شمارش کلونی و با استفاده از محیط‌های کشت مناسب). ازتوباکتر کروکوم سویه‌های ۹ (A9) و ۲۰ (A20) در نظر گرفته شد. سویه‌های مورداستفاده به‌صورت خالص و با جمعیت ۵×۱۰^{۸} (CFU گرم) بود.

جهت آماده‌سازی بستر کاشت، ترکیب خاکی شامل خاک زراعی و ماسه با نسبت ۱:۲ آماده و توسط اتوکلاو ضدعفونی گردید و مقدار مساوی از خاک، در گلدان‌ها ریخته شد. نتایج آنالیز خاک مورد آزمایش در جدول یک آمده است.

دما، رطوبت‌نسبی و شدت نور در گلخانه توسط سنسورهایی که به سیستم مرکزی گلخانه متصل بود کنترل شد، به‌گونه‌ای که دمای شب و روز به ترتیب در حد ۱۸ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی در محدوده ۷۰-۶۰٪ حفظ شد. مدت و شدت تابش نیز با استفاده از پرده‌هایی که در قسمت سقف گلخانه تعبیه‌شده است و همچنین لامپ‌های بخار سدیم ۴۰۰ واتی قابل‌کنترل بود. به صورتی که در طی مدت انجام این آزمایش طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت، تاریکی ۸ ساعت و حداقل شدت نور نیز برابر ۵۰ کیلو لوکس تنظیم گردید.

به‌منظور اعمال تیمارهای کود زیستی پیش از کاشت نشا، مقدار ۶۰ گرم قارچ مایکوریزا به خاک گلدان‌های تحت تیمار قارچ مایکوریزا اضافه گردید. به‌منظور تلقیح باکتری به خاک نیز مقدار ۲۰ گرم از باکتری به خاک و در نزدیکی محدوده رشد ریشه در تیمارهای مربوطه افزوده شد. در تیمار تلفیقی دو باکتری *Azotobactore chroococcum* و *Pseudomonas fluorescens* در خاک از هر باکتری مقدار ۱۰ گرم (جمعاً ۲۰ گرم) به خاک اضافه شد.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورداستفاده در آزمایش

Table 1. Physical and chemical properties of the soil used in the experiment

	نیتروژن N (%)	فسفر P (%)	پتاسیم K (%)	pH	هدایت الکتریکی EC (dSm^{-1})
خاک شاهد Control soil	0.09	0.04	0.03	5	1.9

بذرهای گل همیشه‌بهار در سینی‌های کشت حاوی مخلوط پیت ماوس و کوکوپیت کشت شد و سه هفته بعد از کشت، نشاء گل همیشه‌بهار در مرحله چهار برگی به

www.SID.ir

Archive of SID

گلدان‌های با قطر دهانه ۲۵ سانتیمتر و با تراکم ۳ نشا در هر گلدان منتقل شد و سه هفته پس از استقرار کامل نشا در گلدان تنش خشکی اعمال گردید. به‌منظور اعمال تنش خشکی به گیاهان از روش وزنی استفاده شد. برای تعیین میزان آب موردنیاز هر گلدان در هر بار آبیاری در ابتدای آزمایش ظرفیت زراعی خاک موردنظر مشخص گردید. جهت انجام این کار پنج گلدان با وزن و اندازه یکسان انتخاب و درون تمام آن‌ها به میزان مساوی از خاک تهیه‌شده برای آزمایش پر شد و به‌اندازه کافی با آب اشباع گردید. گلدان در زیر نایلون قرار گرفت تا آب فقط از طریق ثقلی خارج گشته و هر هشت ساعت یک‌بار وزن آن‌ها یادداشت شد. بعد از ثابت شدن منحنی آب با توزین گلدان‌ها میزان آب در ظرفیت زراعی مشخص و با وزن شدن روزانه گلدان‌ها بر اساس کمبود آب نسبت به سطح مربوطه میزان آب آبیاری تعیین شد (Heydari sharif Abadi, 2000). در طول اعمال تنش وزن گلدان‌ها با توزین روزانه و بسته به نوع تیمار ثابت نگه‌داشته شد. در انتهای آزمایش یعنی پس از ورود گیاه به فاز زایشی صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی موردنظر در گیاه اندازه‌گیری شد. ارتفاع و قطر گل توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری گردید. تعداد گل، تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی شمارش شد.

در زمان برداشت، برای اندازه‌گیری خصوصیات ریشه ازجمله مجموع طول ریشه و وزن‌تر ریشه‌ها، ریشه‌های مربوط به هرکدام از تیمارهای آزمایش را از خاک خارج کرده و در آزمایشگاه پس از شستشو با استفاده از اسکنر کامپیوتری و نرم‌افزار Delta T-scan مجموع طول ریشه‌ها اندازه‌گیری شد. وزن‌تر اندام هوایی و ریشه پس از جداسازی گیاه از گلدان در آزمایشگاه توسط ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ توزین شد (Goldani and Kamali, 2008).

در این پژوهش اندازه‌گیری‌های فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورمتر مدل (OS1-FL) با توانایی اندازه‌گیری فلورسانس در دو حالت روشنایی و تاریکی، سه هفته پس از شروع تیمارها و قبل از آبیاری مجدد در بین ساعات ۱۱ تا ۱۳ روی برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته انجام گرفت (Oneil et al., 2006). برای این منظور ابتدا با اتصال گیره‌های مخصوص دستگاه به برگ هر یک از گیاهان، ۳۰ دقیقه تاریکی ایجاد شد. شاخص Fv/Fm در برگ سازگار شده به تاریکی نشان‌دهنده حداکثر کارایی کوانتوم فتوسیستم II است و به‌طور گسترده برای نشان دادن اختلال ایجادشده در مراکز فتوشیمیایی در اثر تنش استفاده‌شده است و از رابطه (۱) به دست می‌آید (Yamasaki et al., 2002).

$$Fv/Fm= (Fm.Fo)/Fm \qquad [۱]$$

شدت نور و مدت اندازه‌گیری مورداستفاده برای هر نمونه به ترتیب روی شدت ۴۰۰ میکرو مول فوتون بر مترمربع بر ثانیه و ۵ ثانیه تنظیم شد و داده‌های گزارش توسط دستگاه ثبت گردید.

به‌منظور تخمین غلظت کلروفیل، شاخص سبزینگی با استفاده از دستگاه کلروفیل متر (مدل SPAD-502 ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد.

به‌منظور تعیین میزان پایداری غشای سلولی از شاخص نشت الکترولیت استفاده شد. در این روش ابتدا قطعاتی برگی به‌اندازه ۲ سانتیمتر تهیه شد. این قطعات پس از شست‌وشو همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در لوله‌های آزمایش قرار گرفتند. سپس لوله‌ها به مدت ۱۷ تا ۱۸ ساعت به‌وسیله شیکر تکان داده شدند. در این مرحله هدایت الکتریکی اولیه (EC1) به‌وسیله دستگاه هدایت سنج EC(متر)، اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش به اتوکلاو با درجه حرارت ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انتقال داده شدند و بدین طریق هدایت الکتریکی ثانوی (EC2) نیز پس از سرد شدن محتویات داخل لوله‌های آزمایش انجام گرفت (Marcum, 1998). درنهایت مقادیر نشت الکترولیت از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

$$EI (\%) = (EC1/EC2) \times 100 \qquad [۲]$$

بعد از مشاهده علائم تنش، به‌منظور محاسبه محتوای رطوبت نسبی آب برگ در برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته، وزن‌تر نمونه‌های برگی اندازه‌گیری شد. سپس قطعات یک سانتیمتری برگ گیاهان به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در آب قرار گرفت و وزن آماس به دست آمد و سپس وزن خشک (آون ۷۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت) نمونه‌های برگی توزین شد. به‌این‌ترتیب محتوای رطوبت نسبی آب برگ با رابطه زیر محاسبه شد (Barrs and Weatherley, 1962):

$$RWC (\%) = (Fw-Dw) / (Tw-Dw) \times 100 \qquad [۳]$$

که در آن Fw, Dw, Tw در زمان برداشت، به ترتیب نشانگر وزن‌تر، خشک و آماس نمونه‌های برگی است.

پس از مشاهده علائم تنش و قبل از آغاز رشد زایشی گیاه همیشه‌بهار، جهت تعیین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ۲

www.SID.ir

Archive of SID

گرم نمونه خشک برگی ۱۰ سی‌سی متانول ۹۸٪ اضافه شد، سپس به مدت ۲۴ ساعت شیک شده و سپس سانتریفیوژ (۶۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه) کرده، ۰/۱ سی‌سی عصاره را با ۴ سی‌سی DPPH مخلوط کرده به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی گذاشته و سپس در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Abe et al., 1998).

آنالیز آماری داده‌های آزمایش و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال خطای ۵٪ بر اساس آزمون LSD، توسط نرم‌افزار آماری JMP-8 و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel-2010 صورت گرفت.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیک

با توجه به نتایج جدول ۲، اثر ساده تنش خشکی به‌جز طول ریشه در تمامی صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده در آزمایش معنی‌دار شد. اثر ساده کاربرد کود زیستی در وزن‌تر اندام هوایی و ریشه، تعداد برگ، تعداد شاخه جانبی، تعداد گل و قطر گل در سطح احتمال ۱٪ و در ارتفاع گیاه و طول ریشه در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل کاربرد کودهای زیستی و تنش خشکی در صفات وزن‌تر اندام هوایی، تعداد برگ، تعداد شاخه جانبی، تعداد گل و قطر گل اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۲).

وزن‌تر اندام هوایی و ریشه، ارتفاع گیاه، تعداد برگ، تعداد شاخه جانبی، طول ریشه

با اعمال تنش خشکی وزن‌تر ریشه و ارتفاع گیاه کم شد (جدول ۳). از طرفی استفاده از تمامی کودهای استفاده‌شده در این آزمایش منجر به افزایش وزن‌تر ریشه و ارتفاع گیاه نسبت به شاهد (عدم اعمال کودهای زیستی در خاک) شد. به‌طوری‌که در گیاهانی که در خاک آن‌ها از هیچ تیمار کودی استفاده‌نشده بود وزن‌تر ریشه و ارتفاع گیاه به ترتیب ۱۳/۹ گرم و ۲۶/۲۵ سانتیمتر بود. پس از اعمال تیمار Ps+M و M+Ps + Az وزن‌تر ریشه به ترتیب برابر ۲۷/۱۴ و ۲۷/۹ گرم در هر بوته اندازه‌گیری شد. ارتفاع گیاه در تیمار *Pseudomonas fluorescens*، ۳۷/۳۲ سانتیمتر بود. همچنین در دو تیمار Ps و Az طول ریشه نسبت به شاهد ۱۱ و ۳/۳٪ افزایش داشت (جدول ۳).

ازآنجاکه ریشه گیاه به‌عنوان اندام جذب آب و عناصر غذایی از خاک و اندام تولیدکننده ترکیبات مختلف ازجمله هورمون‌های رشد، برای رشد و نمو گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد. بررسی‌های مختلف تأثیر مثبت کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص‌های رشد ریشه ازجمله افزایش سطح کل ریشه، وزن خشک‌ریشه، طول ریشه، شمار ریشه‌های فرعی، شمار و تراکم تارهای کشنده همچنین افزایش تقسیم یاخته‌های مریستم ریشه و تحریک تراوش‌ها از ریشه گیاهان مختلف را نشان داده‌اند (Pan et al., 2006). اثر متقابل تنش خشکی و اعمال کودهای زیستی در جدول ۴ آمده است. مطابق با نتایج این جدول بیشترین وزن‌تر اندام هوایی در تیمار کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (۳۶/۳۲ گرم) نسبت به تیمار شاهد حاصل شد. پس‌ازآن در تیمار کاربرد توأم مایکوریزا و باکتری *Pseudomonas fluorescens* در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک (۲۹/۱۲ گرم)، وزن‌تر اندام هوایی بیشترین مقدار را نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد کود زیستی) داشت. تعداد برگ گیاه در تیمارهای کاربرد توأم مایکوریزا و باکتری *Pseudomonas fluorescens* در ۵۰٪ ظرفیت زراعی (۶۵/۷۵) و کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (۵۹/۹۰)، تیمار کاربرد توأم مایکوریزا و باکتری *Pseudomonas fluorescens* (۵۱/۰۰) و تیمار کاربرد توأم مایکوریزا و باکتری *Azotobactore chroococcum* در ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (۵۴/۷۵ عدد) بیشتر از سایر تیمارها بود. همچنین بیشترین تعداد ساقه جانبی در تیمار کاربرد توأم قارچ مایکوریزا به همراه باکتری *Pseudomonas fluorescens* در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک (۷/۲۰)، تیمار کاربرد توأم باکتری *Pseudomonas fluorescens* و قارچ مایکوریزا در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی خاک (۶/۱۵)، کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* به‌تنهایی در خاک در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی خاک (۵/۹۵) و کاربرد توأم باکتری *Azotobactore chroococcum* و قارچ مایکوریزا در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی خاک (۶/۰۵) ثبت گردید. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از جدول ۳ با افـزایش شدت تنش خشکی از رشد رویشی گیاه (وزن‌تر ریشه و ارتفاع) کاسته شد و اسـتراتژی گیاه این است که با حداقل رشد رویشی وارد فاز زایشی شود و سـریع دوره رشد خود را به اتمام برساند (Mozzafari et al., 2000).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده در گیاه همیشه‌بهار

Table 2. Analysis variance of morphological traits measured in Calendula

Sources of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی df	وزن‌تر اندام هوایی Shoot Fresh Weight	وزن‌تر ریشه Root Fresh Weight	ارتفاع گیاه Height	تعداد برگ Leaf Number
Drought Stress	تنش خشکی	1	976.875**	1942.716**	356.256**	1130.641**
Bio-fertilizer	کود زیستی	7	293.105**	235.443**	79.015*	947.587**
Drought Stress× Bio-fertilizer	تنش خشکی× کود زیستی	7	219.987**	46.009 ns	17.622 ns	425.283**
Error	خطا	48	46.751	37.836	27.869	120.151
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*12*	*10.1*	*15.41*	*9.32*

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

Sources of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی df	تعداد شاخه جانبی Number of lateral branches	طول ریشه Root length	تعداد گل Number of flowers	قطر گل Flower diameter
Drought Stress	تنش خشکی	1	27.562**	26.664ns	370.562 **	7.562 **
Bio-fertilizer	کود زیستی	7	18.338**	47.059*	134.955 **	2.758**
Drought Stress× Bio-fertilizer	تنش خشکی× کود زیستی	7	6.123*	23.793ns	50.455*	1.383**
Error	خطا	48	2.671	16.478	18.729	0.268
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*14*	*14.5*	*15*	*8.52*

*، ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد ns بیانگر اختلاف غیر معنی‌دار.

* and ** Significant difference at 5 and 1% respectively, and ns indicates no sigificant diffrence

جدول ۳. اثر ساده تنش خشکی و کاربرد کود زیستی بر برخی صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده در گیاه همیشه‌بهار

Table 3. Simple effect of drought stress and biofertilizer application on some morphological traits measured in Calendula

Treatments	تیمارها	وزن‌تر ریشه Root Dry Weight (gr)	ارتفاع Height (cm)	طول ریشه Root length (cm)
Drought Stress (FC %) تنش خشکی (FC%)	100	26.83 a	32.09 a	42.36a
	50	15.81 b	27.37 b	40.25a
Bio-fertilizer کود زیستی	Ps	22.84 ab	32.37 a	40.53a
	Az	16.07 c	30.00 bc	37.33ab
	M	20.04 bc	25.37 c	35.91bc
	Ps+M	27.14 a	31.37 ab	34.49bc
	Az +M	25.91 ab	30.87 ab	32.12c
	Ps + Az	16.63 c	30.25 abc	35.91bc
	M+Ps + Az	27.94 a	28.37 bc	34.74bc
	Control	13.99 c	26.25 bc	36.07bc

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون LSD اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Ps، Az، M و control ،به ترتیب *Pseudomonas fluorescens*، *Azotobactore chroococcum*، قارچ مایکورزا و شاهد می باشد.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level using LSD test

Ps, Az, M are *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobactore chroococcum* and Mycorrhiza, respectively.

www.SID.ir

Archive of SID

از طرفی همان‌طور که در نتایج نیز مشاهده شد کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ مایکوریزا در خاک چه به‌صورت جداگانه و چه به‌صورت ترکیبی در بهبود صفات رویشی گیاه در شرایط تنش خشکی تأثیر داشت. به عبارتی ریزوباکترهای محرک رشد گیاه که ریزوبیوم، ازتوباکتر و آزوسپیریلوم نمونه‌هایی از این نوع می‌باشند از طریق فراهم نمودن عناصر غذایی موردنیاز گیاه (Hadi et al., 2009) و تولید و ترشح تنظیم‌کننده‌های رشد (Zahir et al., 2004) موجب اثرات مثبتی بر گیاهان شده و افزایش رشد گیاه و عملکرد محصولات را به دنبال دارند. همچنین بررسی‌ها نشان داده که باکتری‌های جنس ازتوباکتر و آزوسپیریلوم دارای رابطه همیاری با گیاه میزبان هستند (Turan et al., 2006؛ Vessey 2003). باکتری‌های محرک رشد اثرات مثبتی در تولید هورمون‌های رشدی دارند، همچنین تولید انواع مواد آنتی‌بیوتیک از اثرات بیماری‌زائی ریز جانداران دیگر جلوگیری کرده و سبب بهبود و افزایش رشد گیاه می‌شوند (Mikolay et al., 2006). از طرفی کلونیزه شدن گیاهان به‌وسیله قارچ سبب تنظیم اسمزی بهتر و بهبود رابطه آبی می‌شود. قارچ باعث افزایش میزان جذب آب در گیاه نسبت به تیمارهای بدون قارچ می‌شود و افزایش جذب آب سبب تورژسانس در سلول‌ها می‌گردد که خود یک عامل محرک طویل شدن سلول‌ها است (Wu et al., 2009). قارچ سبب گسترش سیستم هیف در اطراف ریشه و متعاقباً افزایش تماس ریشه با خاک می‌شود و درنتیجه توانایی جذب آب در آن‌ها بیشتر می‌گردد (Wu et al., 2009). علاوه بر این، قارچ موجب افزایش جذب عناصر غذایی از خاک و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌گردد که عامل افزایش رشد و اندام هوایی و عملکرد ماده خشک آن‌ها است (Wu et al., 2009). بهبود صفات رشدی مشاهده‌شده درنتیجه کاربرد میکوریزا در این تحقیق با نتایج تحقیقات راپارینی و همکاران (Rapparini et al., 2008) در مورد گیاه درمنه (*Artemisia annua*) و سنسوی و همکاران (Sensoy et al., 2007) در فلفل (*Capsicum annuum*) مطابقت دارد. در اثر همزیستی بین قارچ و ریشه گیاهان با تأمین قندهای فتوسنتزی تولیدشده توسط گیاهان به‌عنوان منبع کربن آلی، قارچ به حیات خود ادامه داده، بقاء و تکثیر آن تضمین می‌گردد. در مقابل این رابطه همزیستی موجب بهبود رشد گیاه از طریق افزایش جذب مواد غذایی، تحریک سنتز مواد تنظیم‌کننده رشد داخلی و افزایش راندمان فتوسنتزی می‌شود (Rekha et al., 2009). علت افزایش عملکرد محصول در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا تعادل آبی آن‌ها در شرایط تنش خشکی و درنتیجه جذب بیشتر آب و عناصر غذایی معدنی است (Habibzadeh et al., 2012). نتایج پژوهش میرکوهی و همکاران (Khandan-Mirkohi 2016) نشان داد که تأثیر تلقیح مشترک باکتری‌های محرک رشد و قارچ ریشه (*Glomus mosseae*) بر شاخص‌های رشدی گل استئوسپرموم معنی‌دار بود. تلقیح مشترک باعث افزایش ارتفاع، شمار برگ، وزن‌تر و خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، طول ریشه و حجم ریشه شد. نتیجه همسانی توسط پژوهشگران دیگر گزارش‌شده است. افزایش وزن ریشه، وزن خشک اندام هوایی، مقدار آب گیاه و درصد استقرار ریشه در گیاه ذرت درنتیجه تلقیح مشترک قارچ ریشه‌های آربسکولار و باکتری‌های متحمل به خشکی در شرایط تنش خشکی مشاهده‌شده است (Marulanda et al., 2009). گزارش‌شده است که تلقیح مشترک قارچ ریشه‌های آربسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش معنی‌داری در شاخص‌های رشد گیاه کاهو می‌شود (Kohler et al., 2007). تیمار تلقیح با باکتری سودوموناس (B1) و ازتوباکتر (B2) در ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ در شکل (۱) آمده است.

شکل ۱. تیمار تلقیح با باکتری سودوموناس (B1) و ازتوباکتر (B2) در ظرفیت زراعی ۱۰۰٪

Fig. 1. Inoculation with Pseudomonas (B1) and Azotobacter (B2) at 100% field capacity

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده در گیاه همیشه‌بهار

Table 4. Interaction effects of drought stress and bio-fertilizer on morphological traits measured in Calendula

خشکی Drought Stress (FC %)	کود زیستی bio-fertilize	وزن تراندام هوایی Shoot Dry Weight (gr)	تعداد برگ Leaf Number	تعداد شاخه جانبی Number of lateral branches	قطر گل Flower Diameter(cm)	تعداد گل Flower Number
100	Ps	36.32 ^{a}	59.90^{a}	5.95^{ab}	7.12 ^{b}	18.50^{a}
	Az	16.12 ^{cde}	33.5^{cd}	2.7^{cde}	7.75 ^{b}	8.75^{cd}
	M	21.01 ^{bcd}	39.75^{bc}	4.22^{bc}	6.00 ^{fg}	10.75^{bc}
	M+Ps	23.41 ^{bc}	51^{ab}	6.15^{ab}	7.00 ^{cde}	17.75^{a}
	M+Az	25.71 ^{bc}	54.75^{ab}	6.05^{ab}	7.25 ^{bc}	16.75^{ab}
	Ps + Az	11.90 ^{de}	31^{cd}	3.2^{cde}	7.00 ^{cde}	8.75^{cd}
	M+Ps+ Az	13.63 ^{de}	39.2^{bc}	3.87^{bcd}	8.75 ^{a}	10.50^{c}
	Control	9.91 ^{e}	25^{cd}	1.85^{de}	5.62 g	4.25^{d}
50	Ps	8.56 ^{e}	30^{cd}	2.65^{cde}	6.50 ^{def}	5.75^{cd}
	Az	12.92 ^{de}	35^{cd}	2.65^{cde}	6.37 ^{ef}	7.25^{cd}
	M	7.25 ^{e}	20.5^{d}	1.45^{e}	6.00 ^{fg}	3.75^{d}
	M+Ps	29.12 ^{ab}	65.75^{a}	7.2^{a}	6.87 ^{cde}	17.75^{a}
	M+Az	10.55 ^{e}	31.75^{cd}	2.4^{cde}	6.50 ^{def}	5.75^{cd}
	Ps + Az	7.03 ^{e}	26.75cd	1.8^{de}	6.00 ^{fg}	4.25^{d}
	M+Ps + Az	11.35 ^{de}	32.5^{cd}	3.4^{cde}	6.62 ^{cdef}	8.00^{cd}
	Control	8.64 ^{e}	25.25^{cd}	1.9^{de}	6.12 fg	5.00^{cd}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، اختلاف معنی‌داری ندارند.

Ps، Az، M و control ،به ترتیب *Pseudomonas fluorescens*، *Azotobactore chroococcum*، قارچ مایکورزا و شاهد می باشد.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level

Ps, Az and M are *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobactore chroococcum* and Mycorrhiza, respectively.

تعداد گل، قطر گل

اثر متقابل خشکی و کودهای زیستی بر تعداد گل و قطر گل در گیاه همیشه‌بهار مؤثر بود (جدول ۲). قطر گل در شرایط رطوبتی ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک نسبت به شاهد تنش (عدم اعمال تنش خشکی) کاهش یافت (جدول ۴). کاربرد کود زیستی سبب افزایش تعداد گل در سطوح مختلف تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد کود زیستی در خاک) شد. تعداد گل در تیمار کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی خاک برابر ۱۸/۵۰ بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کودهای زیستی در ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) ۷۷٪ افزایش داشت. همچنین کاربرد توأم باکتری *Pseudomonas fluorescens* به همراه قارچ مایکوریزا در شرایط رطوبتی ۱۰۰٪ (۱۷/۷۵ عدد) و ۵۰٪ (۱۷/۷۵ عدد) ظرفیت زراعی خاک و تیمار کاربرد توأم باکتری *Azotobactore chroococcum* و قارچ مایکوریزا در شرایط رطوبتی ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (۱۶/۷۵ عدد) سبب افزایش تعداد گل در گیاه همیشه‌بهار نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد کود زیستی) در شرایط رطوبتی ۱۰۰٪ (۴/۲۵ عدد) و ۵۰٪ (۴/۰۰ عدد) شدند (جدول ۴). ازآنجاکه بیشترین نیاز غذایی گیاه در مراحل مختلف رشد زایشی رخ می‌دهد. طبق این تحقیق استفاده از مایکوریزا و باکتری از طریق افزایش فراهمی عناصر غذایی موردنیاز گیاه، موجب افزایش رشد و نمو گیاه و سطح برگ شده و برجذب نور و میزان فتوسنتز می‌افزایند. این امر موجب افزایش مقدار ماده خشک تولیدشده در برگ و متعاقباً تعداد گل در گیاه می‌شود. بیشترین قطر گل در تیمار کاربرد توأم باکتری *Pseudomonas fluorescens*، باکتری *Azotobactore chroococcum* و قارچ مایکوریزا در شرایط رطوبتی ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (۸/۷۵ سانتیمتر) ثبت شد.

با توجه به نتایج جدول ۶ تنش خشکی منجر به کاهش محتوای آب برگ شد. در ادامه همان‌طور که محتوی آب برگ در اثر تنش خشکی کاهش می‌یابد، سلول‌ها چروک‌خورده و دیواره سلولی پایداری خود را از دست می‌دهد، درنتیجه سطح و تعداد برگ‌ها نیز کاهش‌یافته و فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد (Tiaz and Zeiger, 1998) و درنهایت رشد رویشی گیاه نیز در اثر کمبود آب کاهش پیدا می‌کند (Pereira and Chaves, 1995)؛ با کاهش رشد رویشی و مقدار فتوسنتز

www.SID.ir

Archive of SID

گیاه ظرفیت گیاه برای ورود به مرحله زایشی و به دنبال آن تولید گل کاهش می‌یابد و اثرات آن در کاهش قطر گل نیز دیده می‌شود. در مقایسه دو باکتری ازتوباکتر و *Pseudomonas fluorescens* همان‌طور که در نتایج نیز مشخص است *Pseudomonas fluorescens* تأثیر بیشتری برافزایش تعداد گل نسبت به ازتوباکتر در شرایط بدون تنش داشت. در توجیه این امر می‌توان گفت *Pseudomonas fluorescens* به دلیل توانایی در تولید طیف وسیعی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، ترکیبات کلات کننده آهن و جذب آن، تولید اسیدهای آلی از قبیل اسید سوکسینیک و لاکتیک و درنهایت کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای گیاهی نقش مؤثری بر رشد رویشی و زایشی گیاه دارد (Belimov et al., 2002). بهبود رشد گیاهان تحت تأثیر باکتری‌های محرک رشد ناشی از افزایش سطح جذب ریشه به ازای هر واحد از حجم خاک، افزایش جذب آب، فعالیت فتوسنتزی و تعرق بیان‌شده است که با تأثیر مستقیم بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و میزان کربوهیدرات گیاه باعث بهبود و افزایش رشد زایشی آن می‌گردد (Davodzadeh et al., 2011).

صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات ساده و متقابل تنش خشکی و کاربرد کودهای زیستی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و شاخص کلروفیل (عدد اسپد) در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۵). خشکی و برهمکنش خشکی و کود زیستی بر نشت یونی و حداکثر کارایی فتوسنتز بی‌تأثیر بود. این در حالی است که کاربرد کودهای زیستی منجر به ایجاد اختلاف معنی‌دار به ترتیب در سطح ۱ و ۵٪ در این صفات شد. اگرچه برهمکنش تیمارهای موردبررسی بر مقدار محتوای نسبی آب برگ بی‌تأثیر بود ولی اثرات ساده تیمارها استفاده‌شده در این پژوهش (خشکی و کودهای زیستی) در سطح ۵٪ معنی‌دار شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، نشت یونی، محتوای نسبی آب برگ

تنش خشکی منجر به کاهش محتوای نسبی آب برگ شد به‌طوری‌که مقدار محتوای رطوبت نسبی در شاهد تنش (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) ۴۳٪ بود و در تنش خشکی ۵۰٪ به ۴۰٪ رسید (جدول ۶). با توجه به اثر ساده کودهای زیستی بر محتوای نسبی آب برگ، بیشترین محتوی نسبی آب برگ در شرایط کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* و پس‌ازآن کاربرد توأم باکتری *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobactore chroococcum* نسبت به شاهد (عدم کاربرد کود زیستی) ثبت شد (جدول ۵). همچنین کمترین مقدار نشت یونی در تیمار کاربرد توأم قارچ مایکوریزا و باکتری *Pseudomonas fluorescens* حاصل شد. در مطالعه‌ای که توسط آگاروال و همکاران (Agarwal et al., 2005) انجام شد، کاربرد باکتری Azosperilium به‌عنوان یک باکتری محرک رشد سبب افزایش میزان آب نسبی برگ در شرایط تنش خشکی در گندم شد. احتمالاً باکتری‌های محرک رشد از طریق توسعه سیستم ریشه‌ای (به‌واسطه تولید IAA و ACC-دآمیناز) با تشکیل ریشه‌های طویل‌تر، سبب بهبود جذب آب از اعماق خاک شده و کارایی استفاده از آب را تحت تنش افزایش می‌دهند (Arshad et al., 2008). نتایج اسماعیل‌پور و همکاران (Smaeil pour et al., 2013) نشان داد تلقیح با قارچ میکوریزا شاخص‌های رشد رویشی، محتوای نسبی آب گیاه و محتوای فسفر و پتاسیم برگ گیاه مرزه را در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به‌طور معنی‌داری افزایش، ولی میزان پرولین برگ را کاهش داد. با توجه به کاهش مقدار نشت یونی با کاربرد مایکوریزا توأم با باکتری‌های محرک رشد، مقدسان و همکاران (Moghadasan. et al., 2016) گزارش کردند در سطوح مختلف تنش خشکی استفاده از میکوریزا سبب افزایش میزان نسبی آب برگ نسبت به شرایط عدم استفاده از میکوریزا در گیاه همیشه‌بهار شد. به نظر می‌رسد که میکوریزا احتمالاً از طریق تغییر در مرفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ، میزان آب بیشتری جذب کرده و باعث بهبود روابط آبی گیاه می‌گردد (Auge et al., 2015). همچنین تجمع یون‌ها یا مواد آلی در واکوئل سلول‌های برگ تحت تنش خشکی، در گیاهان میکوریزی بیشتر انجام می‌شود و باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های برگ می‌گردد. تمام این تغییرات موجب تغییر نسبت آب در گیاهان میکوریزی می‌شود (Wu et al., 2007).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در گیاه همیشه‌بهار
Table 5. Analysis variance of physiological and biochemical traits measured in Calendula

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity	نشت یونی Electrolyte Leakage	محتوی نسبی آب برگ Relative Water Content	حداکثر کارایی فتوسیستم II Maximum efficiency of photo system II	اسپد Spad
تنش خشکی Drought Stress(D)	1	3944.46 **	53.67 ns	139.151*	0.00004ns	9.150**
کود زیستی Bio-fertilizer(BF)	7	669.676**	571.668**	71.785 *	0.00282*	6.511**
تنش خشکی× کود زیستی D× BF	7	472.531 **	23.166 ns	43.365 ns	0.00126ns	2.629**
خطا Error	48	100.463	22.310	26.925	0.0011	1.150
ضریب تغییرات CV		15.32	14.21	11.32	6.54	5.44

*، ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد ns بیانگر اختلاف غیر معنی‌دار
* and ** Significant difference at 5 and 1% respectively, and ns indicates no sigificant diffrence

جدول ۶. اثر ساده تنش خشکی و کاربرد کود زیستی بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در گیاه همیشه‌بهار
Table 5. Simple effect of drought stress and biofertilizer application on physiological and biochemical traits measured in Calendula

تیمارها Treatments		نشت یونی Electrolyte Leakage (%)	محتوی نسبی آب برگ Relative Water Content (%)	حداکثر کارایی فتوسیستم II Maximum efficiency of photo system II
تنش خشکی (%FC) Drought Stress (FC %)	100	73.2[a]	43.72 [a]	0.734[a]
	50	75[a]	40.77 [b]	0.724[a]
کود زیستی Bio-fertilizer	Ps	74.24 [a]	47.13 [a]	0.7354 [a]
	Az	75.96 [a]	41.57 [bc]	0.7345 [a]
	M	77.64 [a]	40.58 [c]	0.7114 [ab]
	Ps+M	51.67 [b]	39.96 [c]	0.7230 [a]
	Az +M	74.33 [a]	41.74 [bc]	0.6810 [b]
	Ps + Az	75.46 [a]	46.37 [ab]	0.7291 [a]
	M+Ps + Az	75.06 [a]	38.67 [c]	0.7061 [ab]
	Control	74.99 [a]	41.88 [bc]	0.7324 [a]

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، اختلاف معنی‌داری ندارند.
Ps، Az، M و control، به ترتیب *Pseudomonas fluorescens*، *Azotobactore chroococcum*، قارچ مایکورزا و شاهد می باشد.
Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level
Ps, Az and M are *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobactore chroococcum* and Mycorrhiza, respectively.

نتایج مربوط به اثر متقابل خشکی و کودهای زیستی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در جدول ۷ آمده است. به‌این‌ترتیب در تیمارهای قارچ مایکوریزا به‌تنهایی، تیمار توأم قارچ مایکوریزا و باکتری *Pseudomonas fluorescens*، تیمار کاربرد باکتری *Azotobactore chroococcum* به‌تنهایی و تیمار شاهد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط اعمال تنش (۵۰٪ ظرفیت زراعی) نسبت به شرایط رطوبتی ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی خاک افزایش یافت. سایر تیمارهای آزمایش ازلحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. با توجه به نتایج مشاهده‌شده در شرایط عدم کاربرد کودهای زیستی در خاک، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی نسبت به عدم اعمال تنش بیشتر شد. درواقع تنش خشکی باعث انباشتگی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و ترکیبات اکسیدانی شده و منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Parida and Das, 2005؛ Song et al., 2008). تحقیقات نشان داده است گیاهان با فعال نمودن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به تنش پاسخ می‌دهند. باکتری‌ها با تغییر در مکانیسم دفاعی گیاه سبب پاک‌سازی یا کاهش رادیکال‌های مخرب اکسیژن

www.SID.ir

Archive of SID

شده و از میزان خسارت ناشی از اثرات مضر تنش جلوگیری می‌کنند (Pan et al., 2006). رحمت زاده و همکاران (Rahmat zade et al., 2016) با بررسی اثر قارچ میکوریزای *Glomus etunicatum* بر فعالیت آنزیم پراکسیداز اندام هوایی گیاه پروانش گزارش کردند فعالیت آنزیمی پراکسیداز به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدانتی نشان‌دهنده ۱۹/۴ درصد افزایش در فعالیت این آنزیم در نمونه‌های میکوریزایی نسبت به شاهد غیر میکوریزایی بود. بالتروشات و همکاران (Baltruschat et al., 2008)، گزارش کردند که تلقیح قارچ مایکوریزا با گیاه جو در شرایط تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و درنتیجه مقاومت این گیاه را به تنش افزایش داد. همچنین گزارش‌شده است قارچ مایکوریزا با فعال کردن متابولیسم آنتی‌اکسیدان و درنتیجه تجمع آسکوربات تحمل گیاه به تنش و کمبود عناصر غذایی را افزایش می‌دهد (Varma et al., 2012). قارچ مایکوریزا تولید ROS را از طریق به تأخیر انداختن تخریب اسیدهای چرب اشباع‌نشده غشای پلاسمای لیپیدی، محدود می‌کند (Sun et al., 2010) که این امر منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. همچنین گیاهان تیمارشده با باکتری‌های محرک رشد، نسبت به گیاهانی که در آن‌ها این باکتری به کار نرفته بود، دارای محتوی آسکورباتپراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز بیشتری بودند. نتایج نشان داد، کاربرد باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز در گیاه دارویی بومادران گردید (Mir Jalili et al., 2017).

حداکثر کارایی فتوسیستم II و عدد اسپد (شاخص سبزینگی)

عملکرد فتوسیستم II در تیمار کاربرد ترکیبی مایکوریزا و باکتری *Azotobactore chroococcum* نسبت به تیمار کاربرد باکتری *Azotobactore chroococcum* به‌تنهایی، تیمار کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* به‌تنهایی، تیمار کاربرد توأم باکتری *Pseudomonas fluorescens* و قارچ مایکوریزا، تیمار ترکیبی باکتری *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobactore chroococcum* و تیمار شاهد کاهش یافت. سایر تیمارهای آزمایش قابلیت افزایش عملکرد و کارایی فتوسیستم II را نداشته و ازلحاظ آماری تفاوتی با تیمار شاهد (عدم کاربرد کود زیستی) نشان ندادند (جدول ۶). به نظر می‌رسد کاربرد ازتوباکتر و سودوموناس باعث افزایش سیستم ریشه‌ای، افزایش دسترسی گیاه به عناصر غذایی، هدایت روزنه‌ای و شاخص سطح برگ گردیده است و کاربرد توأم این دو باکتری احتمالاً دارای اثرات هم‌افزایی با یکدیگر بوده که درنهایت منجر به بهبود پارامترهای فلورسانس گیاه در شرایط تنش می‌گردد (Khalilzadeh et al., 2017).

جدول ۷. اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در گیاه همیشه‌بهار

Table 7. Interaction effects between drought stress and biofertilizer on physiological and biochemical traits measured in Calendula

تنش خشکی Drought Stress	کود زیستی Bio-fertilizer	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity (%)	اسپد Spad
100	Ps	86.87 ^{ab}	31.82^{cd}
	Az	79.78 ^{b}	32.85^{abc}
	M	51.30 ^{c}	29.25^{e}
	M+Ps	56.74 ^{c}	32.9^{abc}
	M+Az	83.82 ^{ab}	33^{abc}
	Ps + Az	86.05 ^{ab}	33.35^{ab}
	M+Ps+ Az	89.16 ^{a}	32.37^{bcd}
	Control	52.56 ^{c}	31.02^{d}
50	Ps	89.66 ^{a}	33.2^{abc}
	Az	90.86 ^{a}	32.92^{abc}
	M	84.36 ^{ab}	32.17^{bcd}
	M+Ps	90.80 ^{a}	32.82^{abc}
	M+Az	89.53 ^{a}	33.92^{a}
	Ps + Az	91.02 ^{a}	33.22^{abc}
	M+Ps + Az	89.44 ^{a}	31.85^{bcd}
	Control	87.04 ^{ab}	32.5^{abcd}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، اختلاف معنی‌داری ندارند

Ps، Az، M و control به ترتیب *Pseudomonas fluorescens*، *Azotobactore chroococcum*، قارچ مایکورزا و شاهد می باشد.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level

Ps, Az and M are *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobactore chroococcum* and Mycorrhiza, respectively.

شاخص سبزینگی برگ تحت تأثیر تنش خشکی و کود زیستی قرار گرفت. بیشترین شاخص سبزینگی در تیمار کاربرد توأم مایکوریزا و باکتری *Azotobactore chroococcum* در شرایط رطوبتی ۵۰٪ ظرفیت زراعی (۳۳/۹۲) حاصل شد. کاربرد قارچ مایکوریزا به‌تنهایی در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک توانست مقدار شاخص سبزینگی را نسبت به ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی افزایش دهد. (جدول ۷). میکوریزا با تسهیل روند جذب عناصری مانند

www.SID.ir

Archive of SID

نیتروژن و منیزیم (جزء اصلی ساختار مولکول کلروفیل) به افزایش محتوای کلروفیل کمک می‌کند. درواقع میکوریزا از طریق روابط ایجاد همزیستی با گیاه در جذب کارآمد برخی عناصر مانند فسفر که به‌عنوان عنصر کلیدی در انتقال انرژی طی فرایند فتوسنتز مطرح است، افزایش محتوای کلروفیل و به دنبال آن فتوسنتز را به عهده دارد. این دو باکتری توانسته‌اند از طریق مکانیسم‌هایی مانند کاهش غلظت اتیلن و تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها باعث پایداری بیشتری در میزان کلروفیل برگ شوند (Etemadi et al., 2014). نتایج به‌دست‌آمده با نتایج اگامبردیوا (Egamberdieva, 2009) مطابقت دارد. آن‌ها در بررسی خود بر ذرت تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد ازجمله سودوموناس و آزوسپیریلیوم بیان داشتند که این ریز جانداران باعث افزایش جذب نیتروژن در ذرت شده‌اند. ازآنجایی‌که نیتروژن باعث افزایش سبزینگی برگ می‌شود، به نظر می‌رسد تلقیح گیاه با این باکتری‌ها باعث افزایش سبزینگی گیاه خواهد شد (Asghari et al., 2014).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش مشخص گردید که اعمال تنش خشکی در گیاه دارویی همیشه‌بهار منجر به کاهش رشد در گیاه شده و شاخص‌های رشدی گیاه مانند وزن‌تر ریشه و اندام هوایی، تعداد برگ و تعداد شاخه را تحت تأثیر قرار داد. بدین‌صورت که با کاهش ظرفیت زراعی خاک از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، ارتفاع گیاه، تعداد برگ، تعداد گل، قطر گل، وزن‌تر اندام هوایی و ریشه، تعداد ساقه جانبی، شاخص سبزینگی و محتوی نسبی آب برگ در گیاه نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تأثیر کاهش ظرفیت زراعی خاک از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به نصف آن افزایش داشت. کاربرد باکتری‌های محرک رشد در اکثر صفات منجر به بهبود صفات اندازه‌گیری شده در گیاه در شرایط تنش و غیر تنش گردید. در اغلب موارد کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* به‌تنهایی و در ترکیب با قارچ مایکوریزا در شرایط اعمال تنش (۵۰٪ ظرفیت زراعی) منجر به بهبود صفات رشدی در گیاه همیشه‌بهار شد. صفات تعداد برگ، تعداد گل، قطر گل، وزن‌تر اندام هوایی، وزن‌تر ریشه، تعداد ساقه جانبی و شاخص سبزینگی در اثر کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* به‌تنهایی در خاک یا کاربرد توأم آن با قارچ مایکوریزا در شرایط تنش بهبود یافتند. در انتها می‌توان بیان کرد کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* در خاک به‌تنهایی یا توأم با قارچ مایکوریزا در گیاه همیشه‌بهار در شرایط تنش خشکی قابلیت بهبود رشد گیاه را داشته و منجر به افزایش تحمل گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از واحد ویژه خدمات تخصصی علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد بابت تأمین بخشی از هزینه‌های این پژوهش قدردانی می‌گردد.

منابع

Agarwal, S., Sairam, R.K, Srivastava, G.C, Meena, R.C., 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biologia Plantarum. 94(9), 295-220.

Arora, D., Rani, A., Sharma, A., 2013. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus Calendula. Pharmacognosy Reviews. 7, 179-187.

Arshad, M., Shaharoona, B., Mahmood, T., 2008. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-Deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield and

Abdullaev, F.I., Espinosa-Aguirre, J.J., 2004. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. Cancer Detection and Prevention. 28(6), 426-432.

Abe, N., Murata, T., Hirota, A., 1998. Novel 1,1-diphenyl-2-picryhy- drazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 62, 661-662 .

Abedi, T., Pakniyat, H., 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breedin. 46, 27-34.

www.SID.ir

Archive of SID

ripening of pea (*Pisum sativum* L.). Pedosphere. 18, 611-620.

Artursson, V., Jansson, J.K., 2003. Use of bromodeoxyuridine immunocapture to identify active bacteria associated with arbuscular mycorrhizal hyphae. Applied and Environmental Microbiology. 69(10), 6028-6215.

Asghari, J., Ehteshami, S.M.R., Rajabi Darvishan, Z., Khavazi, K., 2014. Study of root inoculation with plant growth promoting bacteria (PGPB) and spraying with their metabolites on chlorophyll content, nutrients uptake and yield in rice (*Hashemi cultivar*). Journal of Soil Biology. 2(1), 21-31. [In Persian with English summary]

Auge, R.M., Toler, H.D., Saxton, A.M., 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. Mycorrhiza. 25(1), 13-24.

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K.H., Schafer, P., Schwarczinger, I., Zuccaro, A., Skoczowski, A. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte Piriformospora indica is associated with a strong increase in antioxidants. New Phytologist. 180, 501-510

Barrs, H. D., Weatherley, P. E., 1962. A reexamination of the relative turgidity technique for the estimating of water deficits in leaves. Australian Journal of Biological Sciences. 15, 413-428.

Belimov, A.A., Safromova, V.I., Mimura, T., 2002. Response of spring rape to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria containing l aminocyclopropane-lcarboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. Canadian Journal of Microbiology. 48, 189-199.

Davodzadeh, A., Sajedi, N.A., Madani, H., Habibi, D., 2011. Effect of salicylic acid and selenium and some micronutrients on yield and agronomic traits of wheat under low irrigation conditions. New Finding in Agriculture. 6(1), 30-39. . [In Persian with English summary]

Egamberdieva, D., Kucharova, Z., 2009. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. Biology and Fertility of Soils. 10.1007/s00374-009-0366-y.

Etemadi, F., Hosseini, Sh., Dashti, H., Akhgar, A., 2014. Investigation of the effect of plant growth promoting rhizobacteria on some growth indices and yield Parameters of safflower under different soil salinity levels. Journal of Crop Production and Processing. 4(11), 77-86. [In Persian with English summary]

Goldan, M., Kamali, M., 2014. Effect of exogenous application of hydrogen peroxide on water deficit stress in glob amaranth (*Gomphrena globosa* L.) and ornamental amaranth. Plant Production Technology. 10 (2), 65-81. [In Persian with English summary]

Habibzadeh, Y., Pirzad, A., Zardashtai, M.R., Jalilian, J., Eini, O., 2012. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on seed and protein yield under water–deficit stress in mung Bean. Agronomy Journal. 105(1), 79-84.

Hadi, H., Daneshian, J., Asgharzadeh, A., Hamidi, A., Daneshand, A.R., Kary, N., 2009. Effect of *Azotobacter crococcum* and soybean insemination on soybean vegetative Properties. Proceedings of the Eleventh Iranian Soil Science Congress. Gorgan. 10-12. [In Persian]

Heydari Sharif Abadi, H., 2000. Plant, Aridity and Drought. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran [In Persian].

Johnson, G.N., Young, A.J., Scholes, JD, Horton, P., 1993. The dissipation of excess excitation energy in British plant species. Plant, Cell and Environment.16, 673-679.

Kader, M. A., Main, M. H., Hogue, M. S., 2002. Effects of Azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Sciences. 2, 259-261.

Khalilzadeh, R., seyed sharifi, R., Jalilian, J., 2017. Effects of cycocle and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on yield, chlorophyll fluorescence parameters and some physiological properties of wheat under water limitation condition. Journal of Plant Process and Function. 6 (21), 247-266. [In Persian with English summary]

Khandan-Mirkohi1, A., Taheri, M.R., Zafar-Farrokhi, F., Rejali, F., 2016. EFfects of arbuscular mycorrhizal fungus and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under drought stress on growth of ornamental osteospermum (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix'). Iranian Journal of Horticultural

www.SID.ir

Archive of SID

Science. 47(2), 177-192. [In Persian with English summary]

Khorramdel, S., Kouchaki, A., Nasiri Mahallati, M., Ghorbani, R., 2008. Effect of biological fertilizers application on growth indicators of fennel flower (*Nigella sativa* L.). Iran Agronomy Researches Journal. 6, 285-294. [In Persian with English summary]

Kohler, J., Caravaca, F., Carrasco, L., Roldan, A., 2007. Interactions between a plant growth-promoting rhizobacterium, an AM fungus and a phosphate-solubilising fungus in the rhizosphere of *Lactuca sativa*. Applied Soil Ecology. 35(3), 480-487.

Marcum, K. B., 1998. Cell membrane thermostability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass. Crop Science. 38(5), 1214-1218.

Marulanda, A., Barea, J.-M., 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

Martin, R.J., Deo, B. 2000. Effect of plant population on Calendula flower production. New Zealand Juornal Crop and Horicultural Science. 28, 37-47.

Marulanda, A., Barea, J.-M., 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.

Mirjalili, A., Pazoki, A., Rashidi Asl, A., 2017. Effects of PGPR application methods on Proline and soluble sugars content of Yarrow (*Achilea millefolium* L.) under drought stress conditions. Journal of Crop Ecophysiology. 8(2), 157-166. [In Persian with English summary]

Moghadasan, Sh., Safipour Afshar, A., Saeid Nematpour, F., 2016. The Role of Mycorrhiza in Drought Tolerance of Marigold (*Calendula officinalis* L.). Journal of Crop Ecophysiology. 9(4), 521-532. [In Persian with English summary]

Mozzafari, F., Ghorbanli, S., Babai, M., Farzami, A., 2000. The effect of water stress on the seed oil of *Nigella sativa* L. Journal of Essential Oil Research. 12, 36-38.

Mukerji, K. G., Chamola, B. P., 2003. Compendium of mycorrhizal research. A. P. H. Poblisher, New Delhi. 310 pp.

O'Neill, P.M., Shanahan, J. F., Schepers, J.S., 2006. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrids response to variable water conditions. Crop Science. 46, 681–687.

Omidbeigi, R., 2000. Approaches to the production and processing of medicinal plants. Publishers. Astan Quds Razavi Publishing House. 347 p. [In Persian]

Omidi, H., 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotypes under drought stress. American Journal of Plant Physiology. 5(6), 338-349.

Pan, Y., Wu, L. J., Yu, Z. L., 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). Plant growth Regulation. 49(2-3), 157-165.

Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Cotoxicology and Environmental Safety. 60, 324-349.

Pereira, J.S., Chaves, M.M., 1995. Plant responses to drought under climate change in Mediterranean-type ecosystems. In: Moreno, J.M., Oechel, W.C. (eds), Global Change and Mediterranea n-type Ecosystems. Ecology Studies. Springer- veralge, Berlin. 117, 140-160.

Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi SMohammadi, S.A., Darvishzadeh, R., Samadi, A., 2011; Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. Journal of Medicinal Plants Research. 5(12), 2483-2488.

Porcel, R., Azcon, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2004. Evaluation of the role of genes encoding for D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) during drought stress in arbuscular mycorrhizal Glycine max and Lactuca sativa plants. Physiological and Molecular Plant Pathology. 65, 211-221.

Rahmatzadeh, S., Khara, j., Kazemi tabar, S.K., 2013. Evaluation of the effect of *Glomus etunicatum* mycorrhizal fungi on

www.SID.ir

Archive of SID

photosynthetic properties and antioxidant properties of parasitic seedlings (*Catharanthus roseus* L.) regenerated under adaptation conditions. Plant Environmental Physiology. 8(4), 12-20.

Rapparini, F., Liusia, J., Penuelas, J., 2008. Effect of arbuscular mycorrhiza colonization on terpen emission and content of *Artemisia annua* L. Plant Biology. 10(1), 108-122

Ratti N., Kumar S., Verma H.N., Gautams S.P., 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to Cymbopogon martini var. Motia by Rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation. Microbiology Research. 156, 145-149.

Rekha, B., Shruti, C., Rashmi, S., Sharma, A. K., Johri, B., 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and nutrient status of Dalbergia sissoo. Tropical Ecology Journal. 50, 231-242.

Smaiel pour, B., Jalilvand, P., Hadian, J., 2013. The effect of drought stress and mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of *Satureja hortensis* L. Journal of Agroecology. 5(2), 169-177. [In Persian with English summary]

Sensoy, S., Demir, S., Turkmen, O., Erdinc, C., Savur, O., 2007. Responses of some different peppe *(Capsicum annum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. Sciential Horticulturae. 113, 92-95

Song, W.Y., Zhang, Z.B., Shao, H.B., Guo, X.L., Cao, H.X., Zhao, H.B., Fu, Z.Y., Hu, X.J., 2008. Relationship between calcium decoding elements and plant abiotic-stress resistance. International Journal of Biological Sciences. 4(2), 116-125.

Sun, C., Johnson, J.M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmüller, R., Lou, B., 2010. Piriformospora indica confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. J. Plant Physiol. 167, 1009-1017.

Tiaz, L., Zeiger, E., 1998. Plant Physiology. (2nd). Sinauer Associates Inc., Massachusetts.

Turan, M., Ataoglu, N., Sahin, F., 2006. Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of Phosphorus in liquid culture. Sustainable Agriculture. 28, 99-108.

Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A., Oelmueller, R., 2012. Piriformospora indica: A novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. Agricultural Research. 1, 117-131.

Vessey, J. K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil. 255, 571-586.

Wu, Q.S., Zou, Y.N., Xia, R.X, Wangi, M.Y., 2009. Mycorrhiza has a direct effect on reactive oxygen metabolism of drought-stressed citrus. Soil, Environmental and Atmospheric Sciences. 55(10), 436–442

Wu, Q.S., Xia, R.X., Zou, Y.N., Wang, G.Y., 2007. Osmotic solute responses of mycorrhizal citrus (*Poncitrus trifoliate*) seedling to drought stress. Acta physiologica Plantarum. 29, 543-549.

Yamasaki, T., Yamakawa, T., Yamane, Y., Koike, H., Satoh, K., Katoh, S., 2002. Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in winter wheat. Plant Physiology. 128, 1087- 1097.

Zahir, ZA., Arshad, M., Frankenberger, WT., 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy. 81, 97-167.

www.SID.ir

Archive of SID

University of Birjand

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences
Vol. 13, No. 2, pp. 425-440
Summer 2020
http://dx.doi.org/ 10.22077/escs.2019.2136.1533

Original article

Effect of mycorrhiza fungi and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant capacity and some morphophysiological traits of medicinal marigold (*Calendula officinalis* Linn.) under drought stress

M. Sahib Hasan[1], Y. Selahvarzi[1*], J. Nabati[2], M. Aziz[1]
1. Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
2. Center of Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Received 20 December 2018; Accepted 26 January 2019

Abstract
To investigate the effect of plant growth promoting bacteria and mycorrhizal fungi under drought stress conditions a factorial experiment based on completely randomized design with 4 replications was conducted in the research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad, Iran in 2019. The first factor was the use of biofertilizer at 8 levels (including different combinations of Pseudomonas, Azotobacter and Mycorrhiza fungi) and the second factor was drought stress at two levels (100 and 50% FC). The results showed that by decreasing soil tillage capacity from 100 to 50% decreased plant height, number of leaves, number of flowers, flower diameter, shoot weight and root weight, number of lateral branches, chlorophyll index and relative water content of leaf compared to control treatment. Also, the highest antioxidant capacity was obtained under both soil moisture conditions in Ps, M + Az and Ps + Az treatments. On the other hand, using *Pseudomonas fluorescens* alone or in combination with mycorrhizal fungi improved the growth traits such as leaf number, flower number, flower diameter, number of lateral shoots and vegetative index under stress conditions (50% FC). The number of flowers was 18.50 in *Pseudomonas fluorescens* treatment under 100% FC which was 77% higher than control treatment (no use of biofertilizers at 100% field capacity). The highest chlorophyll index was obtained in the simultaneous application of Mycorrhiza and *Azotobactore chroococcum* under 50% of field capacity (33.92). Finally, Application of *Pseudomonas fluorescens* in soil alone or in combination with mycorrhiza fungi can improve plant growth under drought stress and increase plant efficiency under drought stress.

***Keywords*:** Electrolyte leakage, Maximum efficiency of photosystem II, Number of flowers, Percentage of antioxidant activity, Relative humidity content

www.SID.ir

[*]Correspondent author: Yahya Selahvarzi; E-Mail: selahvarzi@um.ac.ir.