پاسخ فیزیولوژیک نهال مورد (*Myrtus communis* L.) به تلقیح با میکروارگانیسم‌ها در شرایط تنش کم‌آبی

صغری عزیزی ، مسعود طبری کوچکسرایی، جواد هادیان، علی‌رضا فلاح نصرت‌آباد[1] و سید علی محمد مدرس ثانوی

دانشجوی دکتری علوم جنگل، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور؛ **s.azizi86@yahoo.com**

استاد گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور؛ **mtabari@modares.ac.ir**

دانشیار گروه باغبانی، پژوهشکده گیاهان دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران؛ **javadhadian@gmail.com**

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ **rezafayah@yahoo.com**

استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران؛ **modaresa@modares.ac.ir**

دریافت: **97/8/13** و پذیرش: **98/8/11**

چکیده

گیاه مورد (*Myrtus communis* L.) که در مناطق خشک و نیمه خشک کشور پراکنش دارد، به علت ارزش‌هایش در زیباسازی محیط، توسعه فضاهای سبز شهری و برون شهری، احیاء اکوسیستم‌های طبیعی و مصارف دارویی حائز اهمیت فراوانی می‌باشد. در تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر تلقیح میکروارگانیسم‌ها روی تغییرات فیزیولوژیک نهال‌های مورد (*Myrtus communis* L.) در شرایط تنش کم‌آبی، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل عامل تنش کم‌آبی در سه سطح: 100 درصد ظرفیت مزرعه (بدون تنش)، 60 درصد ظرفیت مزرعه (تنش ملایم) و 30 درصد ظرفیت مزرعه (تنش شدید) و عامل تلقیح میکروبی در 7 سطح: شاهد (بدون تلقیح)، قارچ *Funneliformis mosseae*، قارچ *Rhizophagus intraradices*، ترکیب این دو قارچ، باکتری *Pseudomonas fluorescens*، باکتری *P. putida* و ترکیب این دو باکتری بود. نتایج نشان داد که بیشترین درصد کلنیزاسیون ریشه در هر سه رژیم آبی، مربوط به تیمار ترکیب دو قارچ بود طوری‌که در محیط‌های کم‌آبی شدید، ملایم و بدون تنش، این تیمار، به ترتیب باعث افزایش 17/8، 11/3 و 7/75 برابری کلنیزاسیون ریشه نسبت به شاهد (عدم تلقیح) شد. کم‌آبی باعث کاهش فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق، هدایت مزوفیلی، محتوی نسبی آب، پتانسیل آبی و افزایش کارایی مصرف آب، غلظت CO_2 درون سلولی و نشت الکترولیت گردید، اما تلقیح میکروارگانیسم‌ها باعث بهبود صفات فوق شد. در کم‌آبی شدید، تیمارهای ترکیبی دو قارچ یا دو باکتری، سبب افزایش فتوسنتز (48-47 درصد)، هدایت روزنه‌ای (41-39 درصد)، تعرق (65-62 درصد) هدایت مزوفیلی (64-57 درصد)، پتانسیل آبی (21-20 درصد)، محتوی نسبی آب (1/4 برابر)، و کاهش غلظت CO_2 درون سلولی (31-28 درصد) و نشت الکترولیت (1/4 برابر) نسبت به شاهد (عدم تلقیح) شد. به طور کلی، با توجه به بهبود صفات فیزیولوژیک مشاهده شده، می‌توان ابراز داشت که تلقیح میکوریزایی و باکتریایی سبب افزایش تحمل به خشکی نهال مورد در مقابل کم‌آبی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های همزیست ریشه، فتوسنتز، قارچ میکوریزا، نشت الکترولیت، نهال مورد

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: کرج، دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدود کننده تولیدات گیاهی در سراسر جهان است و اثرات نامطلوب بر رشد و نمو و فرایندهای متابولیکی گیاه دارد (لوم و همکاران، 2014). گیاهان عموماً سازوکارهای مختلفی برای مقابله با تنش خشکی دارند و از طریق القای انواعی از پاسخ‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به تنش خشکی سازگار می‌شوند. درصورتی‌که شدت تنش زیاد باشد، فرآیندهای فیزیولوژیک مختل شده و رشد گیاه متوقف و در نهایت به مرگ گیاه منجر می‌شود (انجوم و همکاران، 2011). به طور کلی علائم خشکی، به صورت پژمردگی گیاهان، کاهش پتانسیل اسمزی و پتانسیل کل آب، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش نرخ فتوسنتز، کارایی مصرف آب و محتوای نسبی آب برگ ظاهر می‌شود (احمدی و سی و سه مرده، 2005). در میان فرآیندهای فیزیولوژیک، فتوسنتز یکی از اساسی‌ترین آن‌ها در رشد محسوب شده و تداوم آن تحت شرایط تنش اهمیت اساسی در تولید دارد (روحی و سی و سه مرده، 2009). تنش خشکی با کاهش سطح برگ و هدایت روزنه‌ای می‌تواند به‌طور مستقیم بر فرآیندهای بیوشیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذاشته و با کاهش ورود دی‌اکسید کربن به داخل روزنه‌ها منجر به کاهش فتوسنتز شود (حجتی و همکاران، 2011). همچنین در اثر کمبود آب، نفوذپذیری دیواره سلولی و نشت مواد داخل برگ به خارج افزایش می‌یابد. در حقیقت، افزایش نشت الکترولیت نشان دهنده تخریب سلول است که اجازه خروج بیشتر مواد و ورود آب به سلول‌های گیاه را می‌دهد (بلوخینا و همکاران، 2003).

امروزه، ارزیابی عملکرد گیاهان در شرایط تنش و استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاک جهت کاهش خسارات‌های ناشی از تنش‌های محیطی از راه حل‌های نوین در کشاورزی و جنگل‌کاری پایدار در مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود. میکوریزا یکی از انواع میکروارگانیسم‌ها (ریزجانداران) و همزیستی انواعی از قارچ‌های خاکزی با ریشه گیاهان است (گوجوی و ساین، 2011). جنس *Glomus* یکی از جنس‌های غالب قارچ‌های میکوریزی می‌باشند که قادرند اثرات نامطلوب تنش خشکی را در گیاهان از طریق افزایش جذب عناصر غذایی کم تحرک یا غیر متحرک (مانند فسفر، روی و مس)، افزایش فعالیت فتوسنتزی، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اصلاح محیط ریزوسفر تعدیل نمایند (بارزانا و همکاران، 2015؛ یان و همکاران، 2016) و با استفاده از گسترش ریسه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه را افزایش دهند (جیمز و همکاران، 2008). علاوه بر این، ساختار خاک را از طریق تشکیل خاکدانه‌های پایدار بهبود می‌بخشند، زیرا شبکه‌های میسلیومی تشکیل شده در خاک از فرسایش سطح جلوگیری می‌کنند و وضعیت تغذیه گیاه و جذب آب را بهبود می‌بخشند (مردحیاح و همکاران، 2016). سودوموناس‌ها[1] از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری و فیلوسفری هستند که به دلیل توانایی بالا در رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها در بیشتر محیط‌ها مشاهده می‌شوند (ویاس و گولاتی، 2009). گونه‌های مختلف این جنس در کنترل قارچ‌های بیماری‌زا مؤثر بوده که از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها، سنتز آنتی بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌ها، مقدار اتیلن را تنظیم و سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (هنری و همکاران، 2008).

مطالعاتی که در زمینه کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی به وسیله میکروارگانیسم‌ها صورت گرفته، بیانگر بهبود تبادلات گازی و روابط آبی گیاهان تلقیح شده با آنها نسبت به گیاهان تلقیح نشده است. در آزمایشی رینکون و همکاران (2008) با مطالعه تنش خشکی روی *Pinus halepensis* و *Quercus coccifera* نشان دادند که تلقیح با باکتری محرک رشد (PGPR)[2] از گونه *Pseudomonas fluorescens* و نیز میکروارگانیسم‌های بومی، باعث بهبود رشد نهال و تفاوت قابل‌توجهی در نشت الکترولیت، هدایت روزنه‌ای و پتانسیل آب ساقه گردید. حیدری و گلپایگان (2013) با بررسی اثرات تنش کم بی و تلقیح باکتری‌های *Pseudomonas* sp.، *Bacillus lentus*، *Azosprillum brasilens* روی گیاه *Ocimum basilicum* L. گزارش کردند که به‌کارگیری این باکتری‌ها منتج به بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتزی این گونه تحت تنش شد. با بررسی دنیلسن و پول (2014) روی *Populus canescens* تحت تنش خشکی با تلقیح*Paxillus involutus* دریافتند که گیاه تلقیحی هدایت روزنه‌ای بالاتری نسبت به گیاه تلقیح نشده نشان داد. زاریک و همکاران (2016) دریافتند که تلقیح میکوریزی، سبب افزایش محتوی نسبی آب و پتانسیل آبی در نهال تحت تنش خشکی (با 25، 50، 75 و 90 درصد ظرفیت مزرعه) *Cupressus atlantica* شد.

گیاه دارویی مورد *Myrtus communis* (L.) درختچه‌ای همیشه سبز (به ارتفاع 1 تا 3 متر) از خانواده Myrtaceae و

---

1. *Pseudomonas*
2. Plant Growth Promoting Rhizobacteria

بومی جنوب اروپا و غرب آسیا و برخوردار از آب و هوای نیمه مدیترانه‌ای است (سومبول و همکاران، 2011). این گیاه در ایران در استان‌های گیلان، کرمانشاه، ایلام، لرستان، چهارمحال و بختیاری، خوزستان، اصفهان، یزد، فارس، هرمزگان و بلوچستان حضور دارد. درختچه مورد دارای خواص دارویی و مواد مؤثره فراوان از جمله حاوی اسانس فراری بنام دیانتین و میرتنول می‌باشد. از این دو ماده در صنعت داروسازی استفاده می‌شود و به همین جهت این درختچه می‌تواند نقش مهمی در رونق اقتصادی کشور ایفا کند (مقرانی و راچید، 2008). اگرچه، بهره‌برداری غیر اصولی آن توسط سودجویان، رویشگاه‌های طبیعی آن‌را تا مرز انقراض پیش برده (امیری و همکاران، 2016) با این وجود، این گونه، می‌تواند در پایداری محیط زیست و احیاء رویشگاه‌های تخریب‌یافته خود، توسعه فضاهای سبز شهری و برون شهری، زیباسازی محیط و پارک‌ها به‌کار گرفته شود (طبری و کیانی، 1395). با توجه به قرار گرفتن کشور در اقلیم خشک و نیمه خشک و همچنین کمبود جدی منابع آبی، تحقیق در مورد چگونگی عکس‌العمل گونه‌های تولیدی در نهالستان‌ها و نیز مورد تقاضا برای احیاء و توسعه پارک‌ها و فضای سبز شهری اجتناب ناپذیر است. نظر به کاهش اثر مخرب تنش خشکی توسط میکروارگانیسم‌ها و از طرفی فقدان اطلاعات علمی در خصوص نحوه تأثیرپذیری گونه مورد از تنش کم‌آبی و تلقیح اینها، هدف از تحقیق پیش رو، بررسی اثر تلقیح میکروارگانیسم‌ها بر نهال‌های مورد و تأثیر آن بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک این گونه تحت تنش کم‌آبی در شرایط کنترل شده گلخانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

محل آزمایش و گونه گیاهی

برای انجام این تحقیق در اواخر اردیبهشت 1396 نهال‌های گلدانی دو ساله مورد (همگن از نظر قطر یقه و ارتفاع) از نهالستان شهرستان ایذه استان خوزستان به گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. جهت سازگار شدن نهال‌ها با محیط جدید، گلدان‌ها به مدت یک ماه در یک فضای جداگانه نگهداری و تا اواخر خرداد آبیاری شدند. سپس در اوایل تیر ماه به گلدان‌های پلاستیکی 5 لیتری (با قطر دهانه 26 و ارتفاع 28 و قطر کف 20 سانتی‌متر) حاوی خاک مخلوط (خاک، کود دامی+ شن+ کوکوپیت با نسبت 1:1:1:2) منتقل شدند. قبل از اجرای آزمایش، درصد شن، سیلت و رس خاک به روش هیدرومتر بایکاس و بافت خاک از طریق مثلث بافت محاسبه شد. ظرفیت مزرعه (FC) و نقطه پژمردگی (PWP) مطابق روش ساکسون و همکاران (1986) و چگالی ظاهری (Bulk density) از روش سیلندر فلزی اندازه‌گیری شد. درصد نیتروژن و فسفر به‌ترتیب با روش کجلدال و اولسن، پتاسیم، آهن، منگنز و روی به روش عصاره‌گیری خاک و قرائت آن با استفاده از دستگاه جذب اتمی، pH و هدایت الکتریکی (EC) در عصاره اشباع خاک انجام شد (علی‌احیایی و بهبهانی‌زاده، 1379). کربن آلی (OC) و ماده آلی (OM) نیز به روش والکی بلاک (1934) اندازه‌گیری گردید. مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک در جدول 1 آمده است.

جدول 1- برخی مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

Texture	Sand (%)	Clay (%)	Silt (%)	Bulk density ($g\ cm^{-3}$)	FC ($m^3\ m^{-3}$)	PWP ($m^3\ m^{-3}$)	EC ($dS\ m^{-1}$)	pH
Clay-loam	33	29	38	1/59	0/34	0/13	1/61	7/9
N (%)	**P ($mg\ kg^{-1}$)**	**K ($mg\ kg^{-1}$)**	**OC (%)**	**OM (%)**	**Fe ($mg\ kg^{-1}$)**	**Zn ($mg\ kg^{-1}$)**	**Mn ($mg\ kg^{-1}$)**	
0/18	5/6	458	1/77	3/06	9/7	3/36	10	

طرح آزمایش و تیمارهای مورد بررسی

این آزمایش به صورت فاکتوریل 7×3 در قالب طرح پایه کاملا تصادفی و با تعداد کل 252 نهال در 3 تکرار (که در هر تکرار 4 اصله نهال قرار داشت) صورت گرفت. تیمار تنش کم‌آبی به عنوان فاکتور اول به صورت سه سطح 100 درصد ظرفیت مزرعه (بدون تنش)، 60 درصد ظرفیت مزرعه (تنش ملایم)، 30 درصد ظرفیت مزرعه (تنش شدید) و تیمار تلقیح میکروارگانیسم‌ها به عنوان فاکتور دوم در 7 سطح (شاهد (بدون تلقیح)، تلقیح با قارچ میکوریزی *Funneliformis mosseae*، تلقیح با قارچ میکوریزی *Rhizophagus intraradices*، تلقیح با ترکیب *R. intraradices* + *F. mosseae*، تلقیح با باکتری *Pseudomonas fluorescens*، تلقیح با باکتری *P. putida*، تلقیح با ترکیب (*P. putida* + *P. fluorescens*) انجام شد.

تلقیح قارچ میکوریزی و باکتری‌های محرک رشد

قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های محرک رشد از بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب تهران تهیه و عمل تلقیح در اواسط تیر ماه آغاز شد و به مدت 6 ماه به طول انجامید. جهت تلقیح قارچ‌های میکوریزی، خاک گلدان طوری کنار زده شد که بیشترین حجم ریشه‌های نهال نمایان شوند، سپس برای هر گلدان مقدار 40 گرم مایه تلقیح به گونه‌ای به خاک اضافه گردید که بیشترین تماس را با ریشه‌های نهال داشته باشد. تعداد پروپاگول‌های مایه تلقیح مورد استفاده 100 عدد در هر گرم ماده حامل بود. به منظور تلقیح باکتری‌های *Pseudomonas* نیز که هر میلی‌لیتر از آن حاوی 10^7 سلول زنده باکتری بود، به میزان 15 میلی‌لیتر مایه تلقیح استفاده گردید. جهت تلقیح تیمارهای ترکیبی دو قارچ، 80 گرم پودر قارچی (40 گرم *Funneliformis mosseae* + 40 گرم *Rhizophagus intraradices*) و جهت تلقیح تیمارهای ترکیبی دو باکتری، 30 میلی‌لیتر مایه تلقیح (15 میلی‌لیتر *Pseudomonas fluorescens* + 15 میلی‌لیتر *P. putida*) استفاده شد.

اعمال تنش کم‌آبی

تنش کم‌آبی در سه سطح100 درصد (به منزله شاهد)، 60 و 30 درصد ظرفیت مزرعه تا پایان دوره 6 ماهه اعمال گردید. جهت تعیین این سطوح (ظرفیت مزرعه 100، 60 و 30 درصد)، ابتدا یک کیلوگرم از خاک خشک شده هر یک از گلدان‌ها وزن شد (p_1)، سپس خاک حاوی این گلدان‌ها از آب اشباع شد طوری که آب اضافی به وسیله نیروی ثقل از گلدان‌ها خارج شود. به منظور جلوگیری از تبخیر، گلدان‌های آبیاری شده به وسیله یک نایلون سیاه پوشانده شد و به مدت 48 ساعت در شرایط گلخانه‌ای مرطوب ماند تا کل آب اضافی از گلدان خارج شود. سپس خاک اشباع شده گلدان‌ها وزن شد (p_2) و تفاوت p_2 و p_1 به‌عنوان میزان آبی که نیاز است خاک از آب اشباع شود به‌عنوان ظرفیت مزرعه 100 درصد در نظر گرفته شد. به منظور تعیین میزان آبیاری در هر وعده، حجم آب مورد نیاز برای سطوح رطوبتی 30، 60 و 100 درصد ظرفیت مزرعه به صورت زیر عمل شد:

1) $30\%FC=0/30 \times (p_2-p_1)$ 2) $60\%FC=0/60 \times (p_2-p_1)$ 3) $100\%FC=0/100 \times (p_2-p_1)$

بعد از تعیین حجم آبی مورد نیاز، به گلدان‌های خشک (p_1) به اندازه حجم به‌دست آمده از هر یک از رابطه های بالا، آب اضافه شد تا به ظرفیت مزرعه مورد نظر برسند. سپس وزن هر یک از گلدان‌های مورد نظر در سطوح مختلف زراعی 30، 60 و 100 درصد ثبت شد. در طول دوره تنش، هر زمان که رطوبت از حد مورد نظر کمتر می‌شد (مدت زمان آن با توجه به تبخیر آب از خاک گلدان و خشک شدن آن متفاوت بود)، به همان میزان آب به خاک اضافه می‌شد تا به وزن مورد نظر در هر یک از سطوح تنش برسد (زاریک و همکاران، 2016).

اندازه‌گیری‌ها

کلنیزاسیون میکوریزی ریشه

جهت تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه ابتدا به منظور رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها به مدت یک ساعت در محلول هیدروکسید پتاسیم 10 درصد و دمای 90 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. پس از چند بار شستشو به مدت 20 دقیقه در محلول آب اکسیژنه قلیایی 10 درصد، عمل رنگ‌بری انجام شد. آنگاه، ریشه‌ها چند بار شسته شدند و به مدت سه دقیقه در محلول اسید کلریدریک یک درصد قرار گرفتند و سپس در محلول لاکتوگلیسیرین تریپان‌بلو به مدت 48 ساعت قرار داده شدند تا رنگ بگیرند (نوریس و همکاران، 1991). سپس، برای تعیین میزان کلنیزاسیون قارچ، ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شدند و با روش تقاطع خطوط شبکه، درصد کلنیزاسیون ریشه تعیین شد (گویوانتی و موزه، 1980).

تبادلات گازی

پارامترهای فیزیولوژیک نهال از جمله نرخ فتوسنتز خالص (A)، نرخ تعرق (E)، هدایت روزنه‌ای (Gs) و غلظت CO_2 درون سلولی (C_i) با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری تبادلات گازی قابل حمل LI-6400 (LiCor Inc., Lincoln, USA) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، از هر تیمار 3 نهال و از هر نهال، 4 برگ کاملاً توسعه‌یافته و سالم از قسمت بالا انتخاب شد. اندازه‌گیری‌ها بین ساعت 9 تا 12 صبح در یک روز آفتابی با شدت نور 1400 میکرومول بر مترمربع در ثانیه در پایان آزمایش انجام گرفت. کارایی مصرف آب از تقسیم فتوسنتز به تعرق، و هدایت مزوفیلی از تقسیم فتوسنتز به غلظت CO_2 درون سلولی محاسبه شد (روحی و سی و سه مرده، 2009).

روابط آبی

در پایان دوره، با انتخاب شاخه‌های بالغ قسمت میانی نهال، با استفاده از دستگاه محفظه فشار (Pressure chamber, Skye, SKPM 1400, UK)، پتانسیل آبی (Ψ) گیاه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری محتوی نسبی آب (RWC) از هر نهال سه برگ سالم و توسعه‌یافته از یک‌پنجم بالایی هر نهال انتخاب و پس از توزین (FW) به

مدت 24 ساعت در شرایط تاریکی در داخل آب مقطر قرار داده شد تا به‌اندازه نیاز، آب جذب نماید و به حالت آماس (SW) درآید. آنگاه برگ‌های آماس شده توزین گردیدند؛ و در پایان، در آون با دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت قرار گرفت تا خشک شوند. وزن برگ پس از خشک شدن نیز اندازه‌گیری شد و محتوای نسبی آب برگ (RWC) از رابطه (1) محاسبه شد (یانگ و همکاران، 2007).

رابطه (1) $RWC=[(FW-DW)/(SW-DW)] \times 100$

برای محاسبه میزان نشت الکترولیت، نمونه‌های یک سانتی‌مترمربعی از قسمت میانی برگ‌های تازه بالغ شده نهال مورد داخل لوله‌های دارای 15 میلی‌لیتر آب دیونیزه قرار داده شد. نمونه‌ها سپس به مدت 24 ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند و هدایت الکتریکی اولیه آن‌ها (EC_1) توسط EC متر دیجیتالی اندازه‌گیری شد. آنگاه، نمونه‌ها به مدت 12 ساعت در حمام بن‌ماری در دمای 80 درجه قرار گرفتند تا به دنبال اندازه‌گیری هدایت الکتریکی کل (EC_2)، درصد نشت الکترولیت (EL) مطابق رابطه (2) تعیین شد (سیدیکیو و همکاران، 2000).

رابطه (2) $EL= [EC_1/EC_2] \times 100$

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 23 و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel صورت گرفت. برای بررسی نرمالیتی و همگنی داده‌ها به‌ترتیب از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و لون استفاده شد. برای مشخص شدن اثر معنی‌دار تیمارها از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way Anova) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Duncan استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس دوطرفه حاکی از اثر معنی‌دار برهمکنش تنش کم‌آبی و تلقیح میکروارگانیسم‌ها بر تمام صفات فیزیولوژیک نهال مورد به‌جز کارایی مصرف آب و غلظت CO_2 درون سلولی در سطح آماری 1 درصد بود. نتایج همچنین بیانگر معنی‌دار بودن اثر تنش کم‌آبی بر تمام صفات فیزیولوژیک و اثر تلقیح میکروارگانیسم‌ها بر تمام صفات مورد مطالعه بجز کارایی مصرف آب در سطح آماری 1 درصد بود (جدول 2).

جدول 2- تجزیه واریانس دو طرفه اثرات تلقیح میکروارگانیسم‌ها بر صفات فیزیولوژیک نهال‌های تحت تنش کم‌آبی

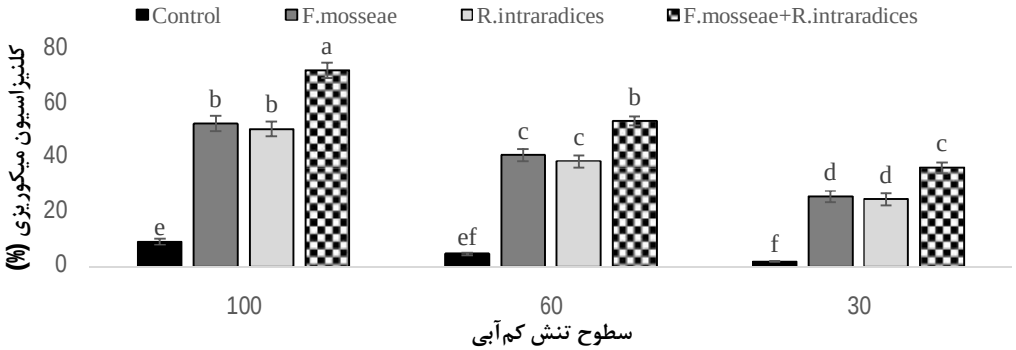
	کم‌آبی		تلقیح		کم‌آبی × تلقیح		خطا	
صفات	درجه آزادی	میانگین مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
کلنیزاسیون میکوریزی	2	1739/43*	3	3871/08*	6	110/68*	24	13/13
فتوسنتز	2	229/25*	6	9/5*	12	1/16*	42	0/388
هدایت روزنه‌ای	2	118569/86*	6	4779/45*	12	409/95*	42	157/16
تعرق	2	152/59*	6	6/92*	12	0/724*	42	0/354
کارایی مصرف آب	2	0/148*	6	0/01ns	12	0/005ns	42	0/031
CO_2 درون سلولی	2	46439/48*	6	1366/66*	12	33/49ns	42	75/05
هدایت مزوفیلی	2	0/000*	6	0/005*	12	0/00004*	42	0/000006
پتانسیل آبی	2	14/41*	6	248/96*	12	0/41*	42	0/008
محتوی نسبی آب	2	4601/35*	6	178/05*	12	21/28*	42	9/36
نشت الکترولیت	2	8920/33*	6	305/95*	12	25/44*	42	12/38

توضیح: علامت *و ns به ترتیب نشان از اختلاف معنی‌دار و عدم اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 1 درصد است.

درصد کلنیزاسیون ریشه

میانگین اثرات متقابل عامل‌های تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم‌ها حاکی از آن بود که با کاهش رطوبت خاک، درصد کلنیزاسیون ریشه کاهش یافت. مطابق شکل 1، درصد کلنیزاسیون در سطوح شاهد، دارای کمترین مقدار بود (کمتر از 10 درصد). در هر سه سطح رژیم آبی، بالاترین میزان کلنیزاسیون مربوط به ترکیب دو قارچ بود (36/7 ، 54 و 72/7 درصد، به‌ترتیب در تنش آبی شدید، ملایم و بدون تنش) که به‌ترتیب 17/8، 11/3 و 7/75 برابر شاهد (بدون تلقیح) در سطوح متناظر افزایش نشان داد. درصد کلنیزاسیون با دامنه‌های 53-51، 41/3-39 و 26-25 درصد به ترتیب در سطوح آبی 100، 60 و 30 درصد، به *F. mosseae* و به *R. intraradices* اختصاص

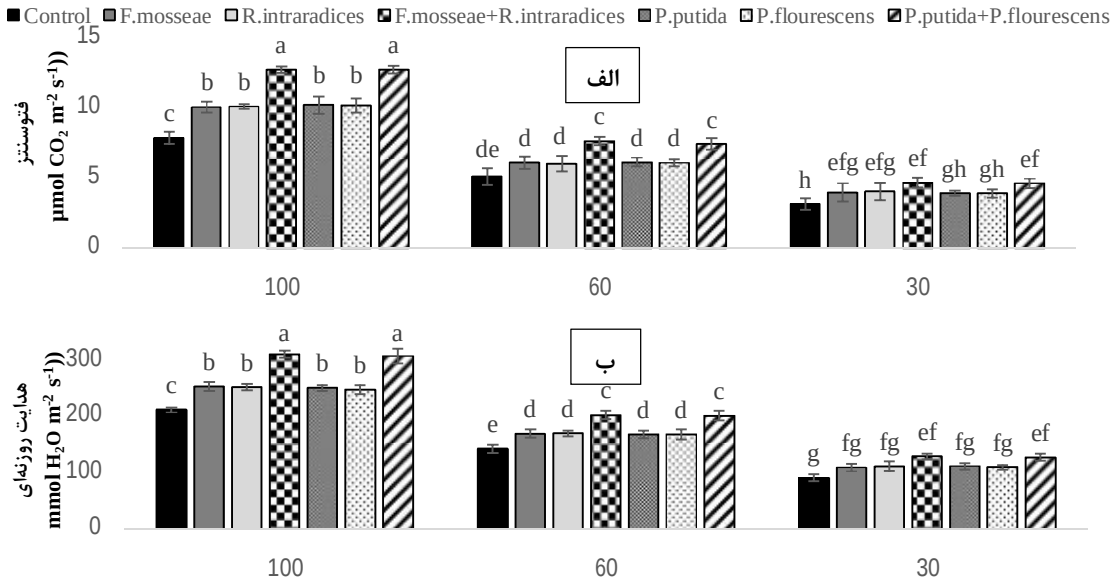
داشت، اگر چه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در درصد کلنیزاسیون ریشه بین دو قارچ وجود نداشت.

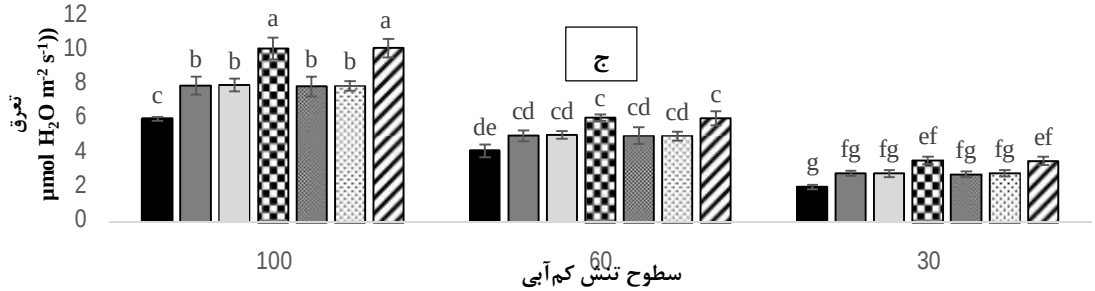


شکل 1- اثر متقابل تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم‌ها بر درصد کلنیزاسیون نهال مورد (حروف مختلف، نشانه معنی‌داری بین 12 ترکیب تیمار است)

تبادلات گازی

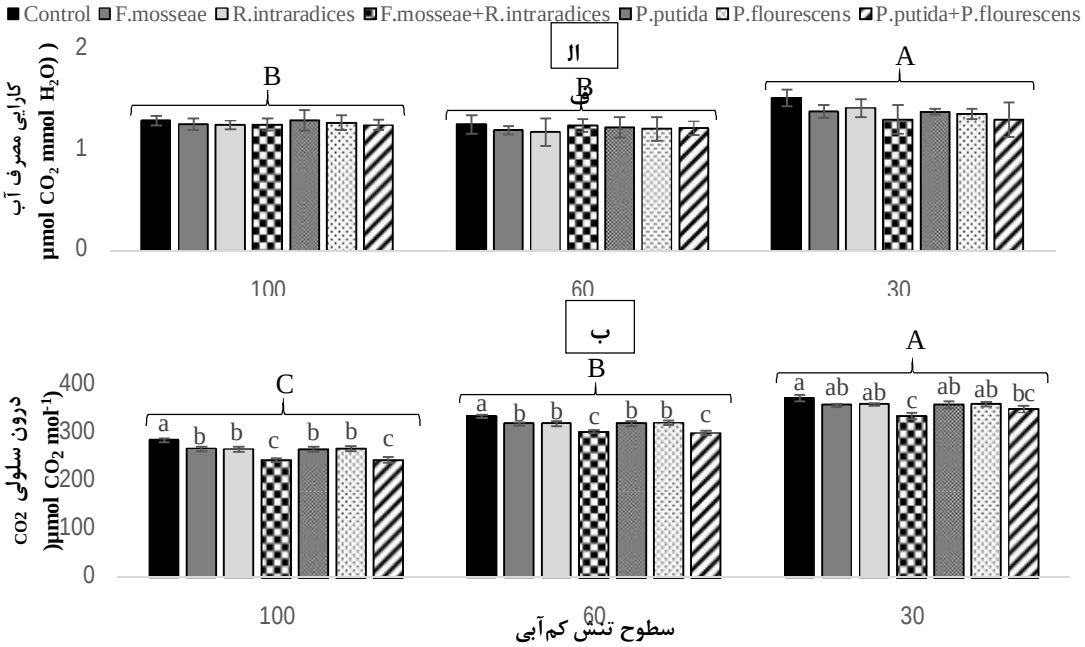
بیشترین مقدار فتوسنتز (12/7 میکرومول CO_2 بر متر مربع بر ثانیه)، هدایت روزنه‌ای (311/3-308 میلی‌مول H_2O بر متر مربع بر ثانیه) و تعرق (10/2-10/1 میکرومول H_2O بر متر مربع بر ثانیه) مربوط به تیمار ترکیبی ظرفیت مزرعه 100 درصد و ترکیب دو گونه قارچ و ترکیب دو گونه باکتری بود و کمترین این مقدار (به ترتیب، 3/1 میکرومول CO_2 بر متر مربع بر ثانیه، 91/3 میلی‌مول H_2O بر متر مربع بر ثانیه و 2/1 میکرومول H_2O بر متر مربع بر ثانیه) به تنش کم‌آبی 30 درصد و عدم تلقیح تعلق داشت (شکل 2- الف، ب و ج). تلقیح با ترکیب دو قارچ و ترکیب دو باکتری در ظرفیت مزرعه 30 درصد توانست میزان فتوسنتز را به ترتیب 47 و 48 درصد، هدایت روزنه‌ای را 39 و 41 درصد و میزان تعرق را 62 و 65 درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش دهد. این افزایش، در تنش کم‌آبی 60 درصد برای فتوسنتز 45 و 50 درصد، برای هدایت روزنه‌ای 41 و 42 درصد و برای تعرق 45 و 46 درصد بود (شکل 2- الف، ب و ج).



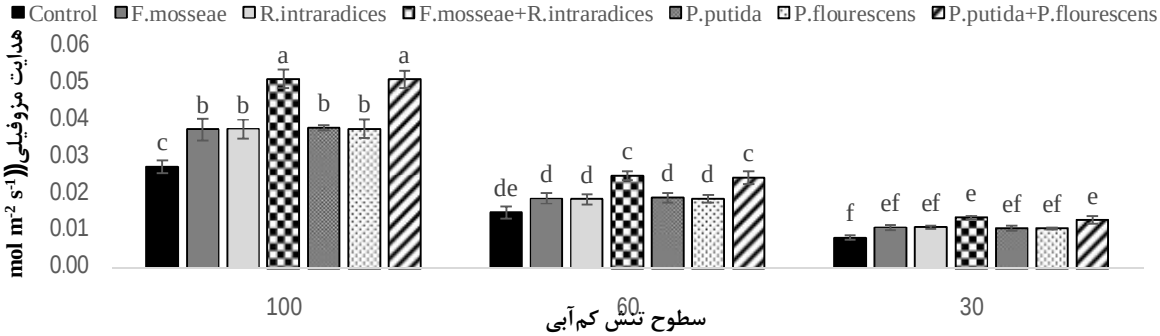


شکل 2- اثر متقابل تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم‌ها بر فتوسنتز (الف)، هدایت روزنه‌ای (ب) و تعرق (ج) نهال مورد (حروف مختلف، نشانه معنی داری بین 21 ترکیب تیمار است)

صرف‌نظر از اثر تلقیح، کارایی مصرف آب در سطح ظرفیت مزرعه 30 درصد، از بیشترین میزان (1/4 میکرومول CO_2 بر میلی‌مول H_2O) برخوردار بود و با کاهش تنش کم‌آبی از میزان آن کاسته شد؛ طوری که کمترین مقدار خود (1/3-1/2 میکرومول CO_2 بر میلی‌مول H_2O) را در سطح ظرفیت مزرعه 60 و 100 درصد نشان داد (شکل 3- الف). بدون در نظر گرفتن اثر تلقیح، غلظت CO_2 درون سلولی با افزایش تنش کم‌آبی افزایش یافت. تلفیق دو گونه قارچ و تلفیق دو گونه باکتری در سطوح 30، 60 و 100 درصد ظرفیت مزرعه از کمترین میزان غلظت CO_2 درون سلولی (351/3-337/3، 304/3-302 و 245/3-244/7 میکرومول CO_2 بر مول) برخوردار بود طوری که در تنش کم‌آبی شدید، به ترتیب به میزان 31 و 28 درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح دچار کاهش شد (شکل 3- ب). ترکیب دو باکتری و ترکیب دو قارچ در آبیاری کامل بیشینه هدایت مزوفیلی (0/05 مول بر متر مربع بر ثانیه) را به خود اختصاص داد طوری که در تنش کم‌آبی شدید، هدایت مزوفیلی را نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) به ترتیب از 57 تا 64 درصد و در تنش ملایم میزان آن را 62 تا 65 درصد بهبود بخشید (شکل 4).



شکل 3- اثر تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم‌ها بر کارایی مصرف آب (الف) و غلظت CO_2 درون سلولی (ب) نهال مورد (حروف بزرگ بیانگر معنی داری بین سطوح مختلف کم‌آبی است. حروف کوچک معرف معنی‌داری بین سطوح مختلف میکروارگانیسم‌ها در هر سطح خشکی است)

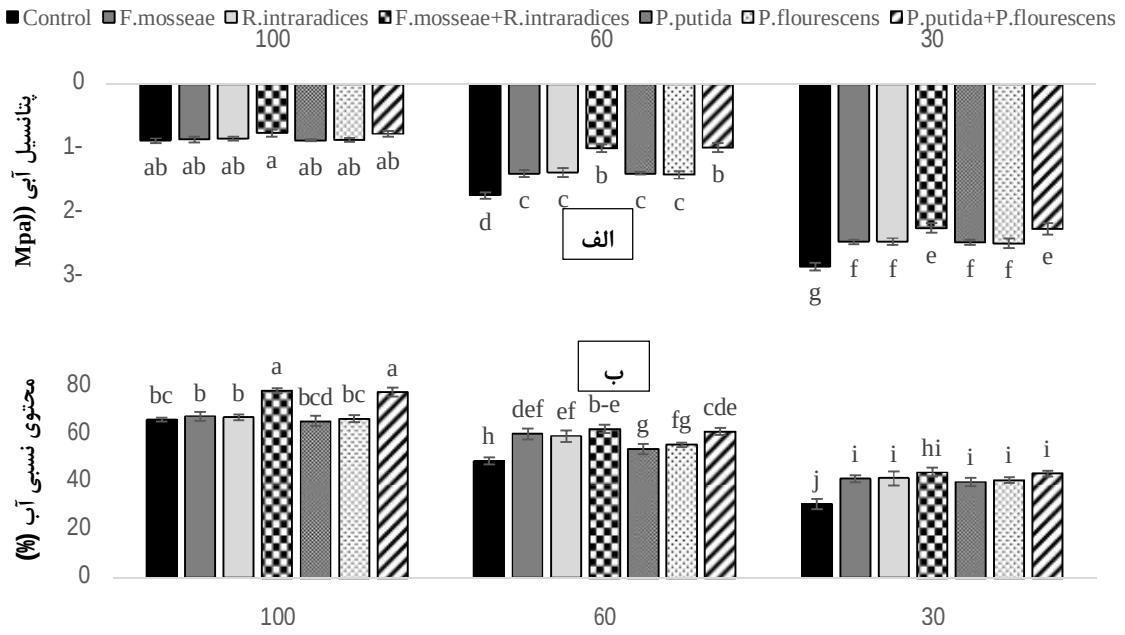


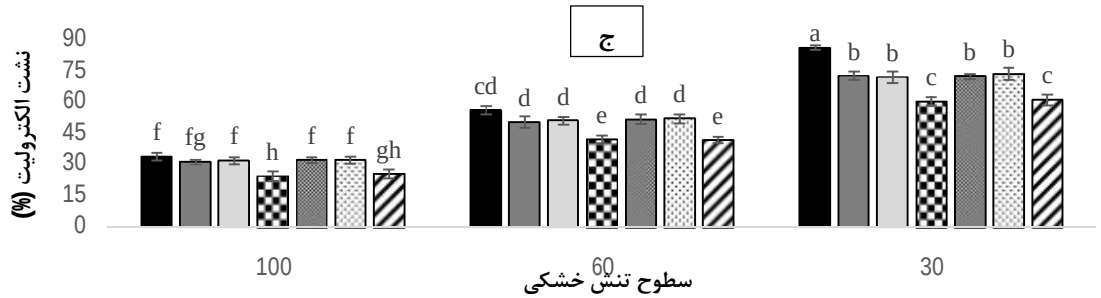
شکل 4- اثر متقابل تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم‌ها بر هدایت مزوفیلی نهال مورد (حروف مختلف، نشانه معنی داری بین 21 ترکیب تیمار است)

روابط آبی

در آبیاری کامل بیشترین پتانسیل آبی مشاهده شد و با افزایش شدت تنش کم‌آبی، پتانسیل آبی منفی‌تر گردید. در ظرفیت مزرعه 30 درصد، تلقیح با ترکیب دو گونه باکتری و دو گونه قارچ به‌ترتیب باعث بهبود پتانسیل آبی نهال از 20 تا 21 درصد نسبت به شاهد شد. در حقیقت، کمترین (منفی‌ترین) پتانسیل آبی (2/84- مگاپاسکال) به تیمار ترکیبی کم‌آبی 30 درصد و عدم تلقیح میکروارگانیسم‌ها و بیشترین آن به تلفیق دو قارچ و دو باکتری در آبیاری کامل (به ترتیب 0/75- و 0/77- مگاپاسکال) تعلق داشت (شکل 5- الف). ترکیب دو گونه باکتری و ترکیب دو گونه قارچ در ظرفیت مزرعه 100 درصد حداکثر (78/4-77/8 درصد) میزان محتوی نسبی آب برگ را نشان دادند. در سطح تنش کم‌آبی 30 درصد، تیمارهای تلفیق دو باکتری و تلفیق دو قارچ نسبت به تیمار عدم تلقیح توانستند محتوی نسبی آب برگ را نسبت به شاهد به‌ترتیب 1/41 و 1/43 برابر افزایش دهند و این افزایش در تنش کم‌آبی 60 درصد به‌ترتیب 1/25و 1/27 برابر بود (شکل 5- ب).

تیمارهای تلقیحی نسبت به تیمار بدون تلقیح و آبیاری کامل نسبت به کم‌آبی ملایم و شدید میزان نشت الکترولیت نهال مورد را کاهش داد، به‌گونه‌ای که کمینه آن (26-25 درصد) به نهال‌های ترکیب دو قارچ و ترکیب دو باکتری در ظرفیت مزرعه 100 درصد مربوط بود. در تنش کم‌آبی شدید، تیمارهای ترکیبی قارچ و باکتری به ترتیب باعث کاهش 1/43 تا 1/42 برابر نشت الکترولیت نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) شدند (شکل 5- ج).





شکل 5- اثر متقابل تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم‌ها بر پتانسیل آبی (الف)، محتوی نسبی آب (ب) و نشت الکترولیت (ج) نهال مورد (حروف مختلف، نشانه معنی‌داری بین 21 ترکیب تیمار است)

بحث

در مطالعه حاضر، کمبود آب منجر به کاهش کلنیزاسیون میکوریزی ریشه توسط قارچ‌های میکوریزی شد، به گونه‌ای که در سطح تنش کم‌آبی شدید نسبت به دو سطح دیگر (تنش ملایم و بدون تنش) به طور معنی‌داری کاهش یافت. در بیشتر مطالعات قبلی، کلنیزاسیون میکوریزی با کمبود آب دارای یک همبستگی (رابطه) منفی بوده است. به عنوان مثال کاهش کلنیزاسیون *Citrus tangerine* با افزایش تنش خشکی گزارش شده است (وو و گزیا، 2006). کاهش کلنیزاسیون تحت شرایط کمبود آب به علت مقاومت کم گیاه به تنش‌های غیر زیستی می‌باشد (گرومبرگ و همکاران، 2015). صرف‌نظر از وضعیت آبی، هر یک از دو تیمار قارچ میکوریزی *Funneliformis mosseae* و قارچ *Rhizophagus intraradices* و به‌ویژه تلقیح ترکیبی آن دو سبب افزایش درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه شد. به‌طوری‌که در محیط‌های کم‌آبی شدید، ملایم و بدون تنش، تلقیح ترکیب دو قارچ توانست درصد کلنیزاسیون ریشه را نسبت به شاهد (عدم تلقیح) به ترتیب 17/8، 11/3 و 7/75 برابر ترقی دهد. نتایج این قسمت از تحقیق با یافته‌های امیری و همکاران (2017) روی گونه *Pelargonium graveolens* مطابقت داشت. جیووانتی و همکاران (2010) بیان کردند که رفتار هر قارچ میکوریزی ممکن است حتی در شرایط مشابه متفاوت باشد. علاوه بر این، برخی گونه‌های قارچی قادر به انطباق با شرایط کمبود آب می‌باشند و بنابراین فواید متعددی برای گیاهان میزبان، تحت تنش کم‌آبی دارند. این پدیده همچنین ممکن است به دوره و شدت تنش آبی وابسته باشد (اینترای و همکاران، 2002). به همین ترتیب، کلنیزاسیون کمتر قارچ‌های میکوریزی می‌تواند به علت کاهش کربن در دسترس گیاهان میزبان در شرایط کمبود آب و همچنین کاهش جوانه‌زنی اسپور قارچی باشد (وو و همکاران 2013).

در تحقیق پیش رو، اثر منفی تنش کم‌آبی بر فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای به وضوح مشخص بود. به‌طور کلی، اولین پاسخ گیاهان به تنش خشکی بستن روزنه‌ها و جلوگیری از هدر رفت آب (به‌وسیله تعرق)، کاهش جریان جذب کربن، دی‌اکسید کربن و فتوسنتز است (یوکوتا و همکاران، 2009). کمبود آب باعث کاهش پتانسیل آب و از بین رفتن تورژسانس، بستن روزنه‌ها و از بین رفتن یکپارچگی غشا به همراه تخریب پروتئین می‌گردد که به دنبال آن کاهش نرخ فتوسنتز و تعرق اتفاق می‌افتد (چن و موراتا، 2008؛ آلکازر و همکاران، 2011).

در پژوهش حاضر، کاربرد میکروارگانیسم‌ها به خصوص استفاده هم‌زمان دو گونه قارچ و دو گونه باکتری، باعث جبران اثرات منفی تنش کم‌آبی گردید. نتایج بررسی‌های حیدری و گلپایگان (2013) روی *Ocimum basilicum*، دنیلسن و پول (2014) روی *Populus canescens* و تایپو و همکاران (2018) روی نهال‌های *Trema micrantha* و *Cariniana estrellensis* نیز حاکی از افزایش نرخ فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای گونه‌های مورد آزمایش تحت تنش خشکی با تلقیح AMF و PGPR بود. به‌طور کلی، قارچ‌های میکوریزی با بهبود هدایت هیدرولیکی، خاصیت اسمزی و افزایش جذب آب، به بازماندن روزنه‌ها و واکنش بیوشیمیایی گیاه کمک می‌کنند که در نهایت، باعث افزایش میزان فتوسنتز گیاه می‌شود. این قارچ‌ها همچنین با افزایش سطح قابل‌دسترس خاک و نیز سنتز آنزیم فسفاتاز، امکان دسترسی به فسفر را که نقش مهمی در فتوسنتز گیاهان ایفا می‌کند افزایش می‌دهند (کومار و همکاران، 2010؛ مو و همکاران ، 2016). باکتری‌های محرک رشد نیز می‌توانند اثر مفیدی بر فیزیولوژی گیاه از جمله افزایش نفوذپذیری

سلول ریشه داشته باشند (ویواس و همکاران، 2003). در حقیقت، قارچ‌های میکوریزی با افزایش جذب آب، سبب بازماندن روزنه‌ها و افزایش نرخ تعرق و فتوسنتز می‌شوند و باکتری‌های محرک رشد موجب می‌شوند گیاه آب خاک را بهتر جذب کرده و با افزایش محتوای رطوبت نسبی بافت‌های برگ، برای مدت طولانی‌تری روزنه‌ها باز نگه داشته شده و فرآوری CO_2 و در نتیجه فتوسنتز و تعرق بهتر انجام گیرد.

همانند نتایج اومیرو و همکاران (2013) و بویر و همکاران (2015) در پژوهش پیش رو، با افزایش تنش کم‌آبی، کارایی مصرف آب در نهال مورد افزایش یافت. تفاوت عمده بین کارآیی مصرف آب فتوسنتزی در رژیم های مختلف رطوبتی ناشی از این امر است که تنش کم‌آبی به میزان متفاوتی فتوسنتز و تعرق را تحت تأثیر قرار می دهد که در نهایت منجر به تفاوت معنی دار در کارآیی مصرف آب فتوسنتزی می‌شود (ال هافید و همکاران، 1996). در ظرفیت مزرعه 100 درصد، نهال‌های تلقیح شده با دو باکتری و نیز دو قارچ از کمترین غلظت CO_2 درون سلولی و بیشترین میزان هدایت مزوفیلی برخوردار بودند. با وجود کاهش هدایت روزنه‌ای، تنش کم‌آبی غلظت CO_2 درون سلولی را افزایش داد؛ که نشان می‌دهد تنش کم‌آبی علاوه بر کاهش هدایت روزنه‌ای، از طریق تأثیر بر مکانیسم‌های درونی برگ، از فرآوری CO_2 در دسترس گیاه جلوگیری می‌کند (اشرف و همکاران، 1994).

در تحقیق حاضر، هدایت مزوفیلی در شرایط تنش کم‌آبی کاهش یافت؛ هدایت مزوفیلی عبارت است از مجموعه مکانیسم‌های درونی برگ که به فرآوری CO_2 می‌انجامد. در واقع، میزان کمتر فتوسنتز و فرآوری CO_2 در حضور مقادیر بالای CO_2 درون سلولی)، به مفهوم پایین بودن میزان هدایت مزوفیلی و عدم توانایی سلول‌های مزوفیل در استفاده از CO_2 می‌باشد (راتنایاک و کینکاید، 2005). با توجه به کاهش اثر منفی تنش خشکی به وسیله میکروارگانیسم‌ها در یافته‌های تحقیق پیش رو ، ترکیب دو نوع قارچ میکوریزی و ترکیب دو نوع باکتری محرک رشد در هر سه رژیم آبی باعث کاهش غلظت CO_2 درون سلولی و افزایش هدایت مزوفیلی گردید. به طور مشابه، باکتری‌های محرک رشد *Azospirillum brasilense* و .*Bacillus* sp در نهال‌های *Cariniana estrellensis* (تایپو و همکاران، 2018)، و قارچ میکوریزی *Rhizophagus irregularis* در نهال‌های *Robinia pseudoacacia* (هه و همکاران، 2016) نیز باعث بهبود صفات مذکور در شرایط کم‌آبی شدند.

پتانسیل آبی و محتوی نسبی آب برگ تحت تأثیر کم‌آبی قرار گرفت و با افزایش شدت تنش، مقدار این صفات کاهش یافت، اما تلقیح با قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های محرک رشد (به خصوص تلفیق آن‌ها) باعث بهبود وضعیت پارامترهای مذکور شد. گزارش‌های مشابهی نیز از افزایش پتانسیل آبی و محتوی نسبی آب برگ در نتیجه همزیستی گیاهان با قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های محرک رشد وجود دارد (زاریک و همکاران، 2016 و تایپو و همکاران، 2018). اصولاً، با افزایش شدت خشکی و کم شدن مقدار رطوبت نسبی برگ، گیاه از طریق تنظیم اسمزی و کاهش پتانسیل آبی ساقه در جهت حفظ آب درون سلول و برقراری تورژسانس سلولی اندام‌ها، تلاش می‌کند تا حداکثر رطوبت را از خاک جذب کند (سانچز- بلانکو و همکاران، 2004). کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش کم‌آبی به بسته شدن روزنه‌ها (در اثر تجمع آبسیزیک اسید در سلول‌های روزنه‌ای) نیز مربوط می‌باشد. آبسیزیک اسید هورمونی است که در شرایط تنش کم‌آبی در ریشه ساخته شده و در سلول‌های روزنه‌ای تجمع می‌یابد (خان و همکاران، 2007). به نظر می‌رسد قارچ میکوریزی از طریق تغییر در مورفولوژی 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 گردد (آئوگ، 2015). باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید آبسیزیک اسید (که مربوط به پاسخ گیاه به تنش آبی می‌باشد) و تولید اکسین (که باعث ایجاد ریشه‌های جانبی و افشان و تسهیل انتقال شعاعی آب و افزایش هدایت هیدرولیکی می‌شود) سبب بهبود تنظیم اسمزی نهال‌ها می‌شوند (بویرو و همکاران، 2007؛ کوتاری و همکاران، 1990).

در تحقیق حاضر، با شدت کم‌آبی، نشت الکترولیت برگ افزایش یافت، اما میکروارگانیسم‌ها نشت الکترولیت را کاهش دادند. همانند یافته‌های این پژوهش روی نهال مورد، رینکون و همکاران (2008) در تحقیق روی *Quercus coccifera* و رحیمی‌زاده و پیرزاد (2017) در تحقیق روی *Linum usitatissimum* نیز شاهد کاهش میزان نشت الکترولیت برگ به‌ترتیب در اثر استفاده از میکروارگانیسم‌های *Funneliformis mosseae* و *Pseudomonas fluorescens* بودند. معمولاً، تحت تنش کم‌آبی، غشای سلولی برگ پایداری خود را از دست داده و با قرار گرفتن در محیط آبی، مواد محلول از سلول‌های آن

به بیرون تراوش می‌کند، از این رو، پایداری غشا سلول به وسیله تراوش یون‌ها از آن ارزیابی می‌شود. در واقع، مقدار کم نشت الکترولیت در گیاهان تلقیح شده با میکروارگانیسم‌ها، نشان دهنده کاهش آسیب غشای سلولی است (فوند و همکاران، 2014) به طوری که این میکروارگانیسم‌ها با افزایش جذب یون پتاسیم و تولید آنتی‌اکسیدان‌ها باعث افزایش پایداری غشای سلول می‌شوند (فنج و همکاران، 2002).

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق آشکار کرد که تنش کم‌آبی در نهال مورد باعث کاهش صفات فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق، هدایت مزوفیلی، محتوی نسبی آب، پتانسیل آبی و افزایش کارایی مصرف آب، غلظت CO_2 درون سلولی و نشت الکترولیت شد، اما تلقیح میکروارگانیسم‌ها (تیمارهای قارچ و یا باکتری) باعث بهبود قابل ملاحظه‌ای در اندازه‌های صفات نهال در شرایط تنش آبی (و نیز بدون تنش آبی) گردید. از این رو، استفاده از آنها به عنوان یک استراتژی مفید و مقرون به صرفه می‌تواند برای تلقیح نهال این گونه با اهداف تولید نهال در نهالستان‌ها مد نظر قرار گیرد. چنین تحقیقی با استفاده از نهال مورد می‌تواند در شرایط مزرعه در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور انجام شود تا در صورت حصول نتایج مساعد، کاشت آن در شرایط طبیعی رویشگاه به‌کار گرفته شود. تحقیق در ارتباط با تلقیح این میکروارگانیسم‌ها به نهال دیگر گونه‌ها برای تقویت تحمل آنها به کم‌آبی یا خشکی توصیه می‌شود.

فهرست منابع:

1. علی‌احیایی، م. و بهبهانی‌زاده، ع.ا. 1379. نقش ریزمغذی‌ها در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. 328صفحه
2. طبری، م. و کیانی، ب. 1396. کاشت و مراقبت درختان در فضای سبز شهری. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. 412 صفحه.
3. Ahmadi, A. and Siosemardeh A. 2005. Investigation on the physiological basis of grain yield and drought resistance in wheat: leaf photosynthetic rate, stomatal conductance, and non-stomatal limitations. International Journal of Agriculture and Biology 7: 807-811.
4. Alcazar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P. and Tiburcio, A.F. 2011. Polyaminemetabolic canalization in response to drought stress in Arabidopsis and the resurrection plant Craterostigma plantagineum. Plant Signaling and Behavior 6:243–250
5. Amiri, N., Emadian, S.F., Fallah, A., Adeli, K. and Amirnejad, H. 2016. Estimation of conservation value of myrtle (*Myrtus communis*) using a contingent valuation method: a case study in a Dooreh forest area, Lorestan Province, Iran. Forest Ecosystems 14(1): 26-36.
6. Amiri, R., Nikbakht, A., Rahimmalek, M. and Hosseini, H. 2017. Variation in the essential oil composition, antioxidant capacity, and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions. Journal of Plant Growth Regulation 58(1): 1-14.
7. Anjum, Sh.A., Xie, X.Y., Wang, Ch., Saleem, M.F., Man, Ch. and Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research 6: 2026-2032.
8. Ashraf, M.Y., Azmi, A.R., Khan, A.H. and Ala, S.A. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. Acta Physiologiae Plantarum 16(3): 18 5-191.
9. Auge, R.M., Toler, H.D. and 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.
10. Bárzana, G., Aroca, R. and Ruiz-Lozano, J.M. 2015. Localized and nonlocalized effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis on accumulation of osmolytes and aquaporins and on

antioxidant systems in maize plants subjected to total or partial root drying. Plant Cell Environment 38:1613–1627.
11. Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany 91(2): 179-194.
12. Boiero, L., Perrig, D., Masciarelli, O., Pena, C., Cassán, F. and Luna, V. 2007. Phytohormone production by strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. Applied Microbiology and Biotechnology 74(4):874–880.
13. Boyer, L.R., Brain, P., Xu, X.M. and Jeffries, P. 2015. Inoculation of drought stressed strawberry with a mixed inoculum of two arbuscular mycorrhizal fungi: effects on population dynamics of fungal species in roots and consequential plant tolerance to water deficiency. Mycorrhiza 25(3):215–227.
14. Chen, T.H.H. and Murata, N. 2008. Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants Author links open overlay pane. Trends in Plant Science 13(9): 499-505.
15. Danielsen, L. and Polle, A. 2014. Poplar nutrition under drought as affected by ectomycorrhizal colonization. Environmental and Exprimental Botany 108(3): 89-98.
16. El Hafid, K., Smith, D., Karrou, M. and Sqmir, K. 1998. Physiological response of spring durum wheat cultivars to early–season drought in a Mediterranean environment. Annals of Botany 81: 363-370.
17. Entry, J.A., Rygiewicz, P.T., Watrud L.S. and Donnelly, P.K. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. Advances in Environmental Research 7(1):123–138.16.
18. Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. An evaluation of technique to measure vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.
19. Giovannetti, M., Avio, L. and Sbrana, C. 2010. Fungal spore germination and pre-symbiotic mycelial growth–physiological and genetic aspects. In: Koltai H, Kapulnik Y (eds) Arbuscular mycorrhizas: physiology and function. Springer, New York, pp 3–32.
20. Gogoi, P. and Singh, R.K. 2011. Different effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Piper longum* L. (Piperaceae). Indian Journal of Sciences and Technology 4(2): 119- 125.
21. Grümberg, 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):1–10.
22. Feng, G., Zhang, F., Li, X., Tian, C., Tang, C. and Rengel, Z. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza 12(4): 185–190.
23. Fouad, M.O., Essahibi, A., Benhiba, L. and Qaddoury, A. 2014. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of olive plants against oxidative stress induced by drought. Spanish Journal of Agricultural Research 12(3): 763-771.
24. He, F., Zhang, H. and Tang, M. 2016. Aquaporin gene expression and physiological responses of *Robinia pseudoacacia* L. to the mycorrhizal fungus Rhizophagus irregularis and drought stress. Mycorrhiza 26:311–323.
25. Heidari, M.and Golpayegani, A. 2012. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 11:57-61.
26. Henry, S., Texier, S., Hallet, S., Bru, D., Dambreville, C., Chèneby, D., Bizouard, F., Germon, J.C. and Philippot, L. 2008. Disentangling the rhizosphere effect on nitrate reducers and denitrifiers: insight into the role of root exudates. Environmental Microbiology 10(11): 3082–3092.

27. Hojati, M., Modarres-Sanavy, S.A.M., Ghanati, F. and Panahi, M. 2011. Hexaconazole induces antioxidant protection and apigenin-7-glucoside accumulation in *Matricaria chamomilla* plants subjected to drought stress. Journal of Plant Physiology 168(8): 782-791.
28. James, B., Rodel, D., Lorettu, U., Reynaldo, E. and Tariq, H. 2008. Effect of vesicular arboscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of Senna Spectabilis. Pakistan Journal of Botany 40(5): 2217-2224.
29. Kumar, A., Sharma, S. and Mishra, S. 2010. Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation, and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. Plant. Growth Regulatiom 29: 297-306.
30. Kothari, S.K., Marchner, H. and George, E. 1990. Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. New Phytologist 116:303–311.
31. Lum, M.S., Hanafi, M.M., Rafii, Y.M. and Akmar, A.S.N. 2014. Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. Journal of Animal & Plant Sciences 24 (5): 1487-1493.
32. Mardhiah, U., Caruso, T., Gurnell, A. and Rillig, M. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae reduce soil erosion by surface water flow in a greenhouse experiment. Applied Soil Ecology 99:137–140.
33. Mo, Y., Wang, Y., Yang, R., Zheng, J., Liu, C., Li, H., Ma, J., Zhang, Y., Wei, C. and Zhang, X. 2016. Regulation of Plant Growth, Photosynthesis, Antioxidation and Osmosis by an Arbuscular Mycorrhizal Fungus in Watermelon Seedlings under Well-Watered and Drought Conditions. Frontiers in Plant Science 7: 1-15.
34. Moghrani, H. and Rachid, M. 2008. Volarization of *Myrtus communis* essential oil obtained by steam driving distillation. Asian Journal of Scientific Research 1(5):518-524.
35. Norris, J.R., Read, D.J. and Varma, A.K. 1991. Methods in Microbiology: Techniques for the Study of Mycorrhiza. Volume 23, 1st edition. Academic Press, London, U K. 512p.
36. Omirou, M., Ioannides, I.M. and Ehaliotis, C. 2013. Mycorrhizal inoculation affects arbuscular mycorrhizal diversity in watermelon roots, but leads to improved colonization and plant response under water stress only. Applied Soil Ecology 63:112–119.
37. Rahimzadeh, S. and Pirzad, A. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas* in reduce drought stress damage in flax (*Linum usitatissimum* L.): a field study. Mycorrhiza 27(6):537–552.
38. Ratnayaka, H.H. and Kincaid, D. 2005 Gas exchange and leaf ultra structure tinnevelly senna, *Cassia angustifulia*, under drought and nitrogen stress. Crop Science 45: 840-847.
39. Rincon, A., Valladares, F., Gimeno, T.E. and Pueyo, J.J. 2008. Water stress responses of two Mediterranean tree species influenced by native soil microorganisms and inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium. Tree physiology 28 (11): 1693-1701.
40. Rohi, A. and Sio-se Marde, A. 2009. A study on gas exchange in various genotypes of wheat exposed to drought stress. Scientific Magazine of Saplingand and Seeds 24: 45–62.
41. Sanchez-Blanco, M.I., Ferrandez, T., Morales, M., Morata, A. and Alarcon, J.J. 2004. Variations in water status, gas exchange and growth in *Rosmarinus officinalis* plant infected with *Glomus deserticola* under drought condition. Journal of Plant Physiology 161(6): 673-682.
42. Saxon, K.E., Rawls, W.J., Roberger, J.S. and Popendick, R.I. 1986. Estimating soil-water characteristics from texture. Soil Science Society of America Journal 50: 1031-1036.
43. Siddique, M.R.B., Hamid, A. and Islam, M.S. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. Botanical Bulletin of Academia Sinica 41: 35-39.
44. Sumbul, S., Ahmed, M.A., Asif, M. and Akhtar, M. 2011. *Myrtus communis* Linn.—A review. Indian Journal of Natural Products and Resources 2: 395–402.

45. Tiepoa, A.N., Hertela, M.F., Rochaa, S.S., Calzavaraa, A.K., De Oliveirab, A.L.M., Pimentaa, J.A., Oliveiraa, H.C., Bianchinia, E. and Stolf-Moreiraa, R. 2018. Enhanced drought tolerance in seedlings of Neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. Plant Physiology and Biochemistry 130: 277–288.
46. Vivas, A., Azcon, R., Biro, B., Barea, J.M. and Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted soil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of *Trifolium pratense* L. under lead toxicity. Canadian Journal of Microbiology 49: 577–588.
47. Vyas, P. and Gulati, A. 2009. Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent Pseudomonas. BMC Microbiology 9(1): 174.
48. Walkley, A. and Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37(1): 29-38.
49. Wu, Q.S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology 163(4):417–425.
50. Wu, Q.S., Srivastava, A.K. and Zou, Y.N. 2013. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: a review. Scientia Horticulturae 164:77–87.
51. Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao, X.Q. and Yin, H.J. 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. Photosynthetica 45(4): 613-619.
52. Yin, N., Zhang, Z., Wang, L. and Qian, K. 2016. Variations in organic carbon, aggregation, and enzyme activities of gangue-fly ash-reconstructed soils with sludge and arbuscular mycorrhizal fungi during 6-year reclamation. Environmental Science and Pollution Research 23(17):17840–17849.
53. Yokota, A., Kawasaki, S., Iwano, M., Nakamura, C., Miyake, C. and Akashi, K. 2002. Citrulline and DRIP-1 protein (Arge homologue) in drought tolerance of wild watermelon. Annuals of Botany 89: 825–832.
54. Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouhammou, A., Ouahmane, L., Duponnois, R. and Boumezzough, A. 2016. Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica* G. Comptes Rendus Biologies 339: 185–196.

Physiological responses of common myrtle seedling (*Myrtus communis* L.) to multimicrobial inoculation under water deficit stress

S. Azizi, M. Tabari Kouchaksaraei, J. Hadian, A. Fallah Nosrat Abad[1] and S. A. M. Modarres Sanavi

Ph.D. Student of Forestry, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University; E-mail: s.azizi86@yahoo.com

Professor, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University; E-mail: mtabari@modares.ac.ir

Associate Professor, Institute of Medicinal Plant, Shahid Beheshti University; E-mail: javadhadian@gmail.com

Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO) Karaj, Iran; E-mail: rezafayah@yahoo.com

Professor, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University; E-mail: modaresa@modares.ac.ir

Received: November, 2018 & Accepted: Novembdr, 2019

Abstract

Common myrtle (Myrtus communis L.) spread in arid and semi-arid regions of Iran which it has many uses in different ways. In order to investigation of microbial inoculation influence on the physiological changes of *M. communis* seedlings under water deficit conditions a greenhouse experiment as a factorial in a completely randomized design with three replications was conducted. Water deficit consisted of 30% field capacity (FC) (severe stress), 60% FC (mild stress) and 100% FC (without stress), and microbial inoculations were including of *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*, combination of these two fungal, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, combination of these two bacteria, and also control (without inoculation). According to the results, in each water regime the highest root colonization was observed in the combination of two fungal. This treatment promoted root colonization by 17.8, 11.3 and 7.75 times in 30% and 60% and 100% of FC treatments respectively compared to the control. Microbial inoculation improved plant yield efficiency in water deficit conditions. In severe water deficit treatment, combined treatments of fungal or bacterial increased photosynthesis (47-48%), stomatal conductance (39-41%), transpiration (62-65%), mesophyll conductance (57-64%), water potential (20-21%), and relative water content (1.4 times), and decreased intracellular CO_2 concentration (28-31%) and electrolyte leakage (1.4 times) compared to the control. It can be suggested that microbial inoculation can encourage drought resistance of *M. communis* seedlings to water deficit.

Keywords: Electrolyte leakage, Mycorrhizal fungus, *Myrtus communis* L. seedling, Photosynthesis, Rhizobacteria.

[1]. Corresponding author: Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.