

ارزیابی تأثیر قارچ‌ریشه آرباسکولار و باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش کم‌آبی بر عملکرد گیاه زینتی استئوسپرموم (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix')

عزیزاله خندان میرکوهی^{۱*}، محمدرضا طاهری^۲، فروغ ظفرفرخی^۳ و فرهاد رجالی^۴

۱ و ۲. ۳. استادیاران و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴. استادیار، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، بخش بیولوژی خاک، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۲۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۲/۲)

چکیده

در این بررسی مشخص شد که قارچ‌ریشه (میکوریز) آربسکولار گونه *Glomus mossea* CA همزیستی بهتری با گیاه زینتی استئوسپرموم (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') در مقایسه با گونه‌های دیگر این قارچ دارد. در این پژوهش تأثیر این گونه از قارچ‌ریشه آربسکولار و باکتری‌های محرک رشد به تنهایی و یا در ترکیب، در شرایط تنش کم‌آبی بر میزان استقرار (کلون‌سازی) در ریشه و شاخص‌های کمی و کیفی رشد و میزان فسفر در بافت گیاه بررسی شد. آزمایش در شرایط گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در طی دو سال انجام گرفت. نتایج نشان داد گیاهان تلقیح شده با قارچ‌ریشه رشد بیشتری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده داشتند. بنابر نتایج، این ریزموجود تنها در سطح آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت زراعی قادر به بهبود این شاخص‌ها در گیاه بود و در سطوح آبیاری ۴۰ درصد ظرفیت زراعی هرچند که استئوسپرموم توانست به رشد خود ادامه دهد اما بهره‌گیری از این ریزموجود نقش مؤثری در بهبود رشد گیاه نداشت. همچنین تأثیر هم‌افزایی بین قارچ و باکتری‌های محرک رشد مشاهده شد بنابراین به‌کارگیری قارچ‌ریشه و باکتری‌های محرک رشد و استفاده از سطح بهینه آبیاری، می‌تواند در بهبود شاخص‌های رشد گیاه استئوسپرموم سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، استقرار ریشه، ریزموجود، ظرفیت زراعی، همزیستی.

مقدمه

به شمار می‌آید. در این راستا قارچ‌ریشه (میکوریز) آرباسکولار (*Arbuscular Mycorrhiza*) می‌تواند با سازوکارهای مختلفی در رشد و نمو گیاهان سودمند واقع شوند (Aragno, 2003; Koltai, 2010). قارچ‌ریشه در جذب عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن و نیتروژن، افزایش مقاومت گیاهان به شوری آب‌وخاک، تنش خشکی و بیماری‌ها و آفات مؤثر گزارش شده است (Koltai, 2010). قارچ‌ریشه می‌تواند سبب افزایش جذب عناصری مانند فسفر شود که تحرک کمتری در خاک دارد (Graham &

امروزه اهمیت کشت و پرورش گیاهان زینتی از لحاظ اقتصادی و اجتماعی به‌طور کامل شناخته شده است. از آنجایی که تولید این گیاهان به‌طور گسترده در بسترهای کشت است، به‌طور معمول با کاربرد زیاد کودهای شیمیایی، تنظیم‌کننده‌های رشد و سموم همراه است. استفاده پی‌درپی از این مواد افزون بر اینکه هزینه‌بر است، تأثیر زیانبار زیادی بر محیط زیست نیز دارند. بنابراین کاهش مصرف سموم و کودهای شیمیایی از هدف‌های توسعه کشاورزی پایدار

مواد غذایی، مهار قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی و افزایش انشعاب ریشه‌های گیاهان، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. افزون بر تأثیر باکتری بر قارچ‌ریشه آربسکولار، خود قارچ نیز بر ترکیب جمعیت باکتریایی تأثیرگذار است. این تأثیر ممکن است مربوط به ریشه گیاه باشد زیرا استقرار قارچ‌ریشه باعث تغییر ترکیبات شیمیایی ترشح‌شده از ریشه می‌شود که این ترکیبات منبع مواد غذایی برای باکتری‌های موجود در قارچ‌فرارریشه هستند. دیده شده است که باکتری‌های محرک رشد، ریشه‌های گیاهان مختلف از جمله ذرت را تلقیح می‌کنند و شماری از ترکیبات سطحی ترشح‌شده نقش مهمی را در برقراری روابط فیزیکی بین گیاه و قارچ دارند (Marulanda *et al.*, 2009). افزون بر این گزارش‌هایی نیز در رابطه با استقرار (کلون‌سازی) ریشه‌های قارچ‌ریشه آربسکولار با باکتری‌های محرک رشد وجود دارد. گزارش شده است که گونه‌هایی از ریزوبیوم و سودوموناس در شرایط سترون به اسپوره‌های جوانه‌زده و ریشه‌های قارچ‌ریشه آربسکولار متصل می‌شوند و درصد اتصال آن‌ها بسته به سویه (استرین) باکتری متفاوت است (Bianciotto *et al.*, 1996; Artursson & Jansson, 2003). توانایی استقرار به‌طور شایان توجهی در انواع مختلف باکتری‌ها متفاوت است. به‌عنوان نمونه *Bacillus cereus* توانایی اتصال بیشتری به قارچ *Glomus dussii* نسبت به باکتری‌های دیگر نشان داده است (Toro *et al.*, 1998). همچنین باکتری‌های محرک رشد مختلف توانایی اتصال به نواحی فیزیولوژیک متفاوت ریشه را دارند (Artursson & Jansson, 2003).

باکتری‌ها می‌توانند با افزایش دسترسی به فسفر، از همزیستی قارچ‌ریشه آربسکولار حمایت کنند. در خاک‌های با فسفر قابل جذب پایین، باکتری‌های حل‌کننده فسفر می‌توانند یون‌های فسفات کم محلول را از ترکیبات فسفر آلی و غیر آلی خاک آزاد کرده و آن را با ریشه‌های قارچ‌ریشه آربسکولار به گیاه منتقل کنند. بررسی‌های زیادی اشاره به اثر متقابل بین باکتری‌های حل‌کننده فسفات و قارچ‌ریشه آربسکولار دارند. برای مثال رابطه بین گیاه، قارچ‌ریشه آربسکولار و باکتری‌های حل‌کننده فسفات، در آزادسازی فسفر

(Eissenstat, 1994). افزایش میزان دسترسی به حجم بیشتری از خاک و تغییر در محیط ریشه دو سازوکار عمده قارچ‌ریشه برای افزایش جذب فسفر است (Bolan, 1991). به‌طوری‌که افزایش میزان دسترسی به مواد غذایی به افزایش طول ریشه در واحد طول ریشه، شعاع کوچک‌تر ریشه و سطح تماس بیشتر مربوط می‌شود. این قارچ همچنین با آزادسازی اسید فسفاتاز و آبکافت (هیدرولیز) کردن فسفات آلی به افزایش جذب فسفر توسط گیاه می‌بازان کمک می‌کند (Tinker *et al.*, 1992).

از سوی دیگر، باکتری‌های فرارریشه‌ای (ریزوسفری) محرک رشد گیاه (Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) نیز اغلب در تماس با گیاه هستند و با سازوکارهایی مانند آزادسازی اسیدهای آلی و افزایش حلالیت عناصر کانی مانند فسفر و آهن (Vessey, 2003)، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها و اتیلن، سبب تسریع در رشد گیاه در مرحله جوانه‌زنی و تحریک رشد در مراحل بعد می‌شوند (Frankenberger & Arshad, 1995). این باکتری‌ها با تحریک ترشح اکسین‌ها باعث افزایش طول ریشه و در نتیجه افزایش سطح نفوذ ریشه می‌شوند (Vessey, 2003)، افزون بر این ریزوموجودها با عامل‌های بیماری‌زا رابطه ناهمسازی (آنتاگونیسمی) دارند و با افزایش مقاومت گیاه نسبت به بیماری‌ها با افزایش سطح اسید جاسمونیک و اسید سالسیلیک می‌توانند برای گیاه سودمند باشند (Van Loon, 2007).

در بررسی‌های اخیر تأثیر همیاری باکتری و قارچ ریشه در رشد گیاه در صورت استفاده هم‌زمان بررسی شده است (Toro *et al.*, 1998; Artursson & Jansson, 2003). قارچ‌ریشه‌ها با گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها اثر متقابل دارند. این اثر متقابل در ناحیه‌ای از خاک در اطراف ریشه‌ها و ریشه (هیف)‌های قارچی به نام قارچ‌فرارریشه (میکورریزوسفر) (Mycorrhizosphere) رخ می‌دهد. برخی از این باکتری‌ها جوانه‌زنی قارچ‌ریشه آربسکولار و نسبت رشد آن و برخی دیگر فیزیولوژی گیاهان را (به‌عنوان مثال، با افزایش نفوذپذیری یاخته‌های ریشه) تحت تأثیر قرار می‌دهند. این اثر متقابل می‌تواند به‌طور غیرمستقیم با تأثیر بر جذب

ترکیب، بر شاخص‌های رشد این گیاه در شرایط تنش کم‌آبی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۳ در گلخانه‌های گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. عامل‌ها شامل نهاده زیستی (۱- مایه تلقیح قارچ‌ریشه *Glomus mosseae* CA)، ۲- باکتری PGPR (مخلوط باکتری‌های *Pseudomonas putida* و *Bacillus pantea*)، ۳- مخلوط قارچ‌ریشه و باکتری PGPR، ۴- بدون قارچ و باکتری (شاهد)) و تنش کم‌آبی (در سه سطح ظرفیت مزرعه‌ای ۱۰۰ درصد، ۷۰ درصد و ۴۰ درصد) بودند.

مایه تلقیح گونه قارچی موردنظر (*Glomus mosseae* CA) که از بین ۲۲ گونه قارچی بر پایه استقرار بالا و شاخص‌های رشدی بهتر انتخاب شده بود حاوی میانگین پنجاه اندام فعال قارچی در هر گرم نمونه تلقیح بود و مایه تلقیح باکتریایی از کلکسیون میکروبی بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. برای کاشت گیاه از گلدان‌های ضدعفونی‌شده ۰/۵ لیتری استفاده شد. پیش از کشت بذر، خاک مورد استفاده برای سترون شدن در اتوکلاو 121°C به مدت دو ساعت قرار داده شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ درج شده است.

بررسی و مشاهده شده است که باکتری به استقرار قارچ‌ریشه کمک می‌کند و همزیستی قارچ‌ریشه‌ای جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات را افزایش می‌دهد (Toro et al., 1998). تیمارهایی که با هر دو قارچ‌ریشه و باکتری مایه‌کوبی (اینوکوله) می‌شوند، زیست‌توده گیاه و تجمع نیتروژن و فسفر در بافت‌های گیاهی را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش می‌دهند. در بررسی پیشین مشخص شد که قارچ‌ریشه آرباسکولار گونه *Glomus mosseae* CA همزیستی بهتری با گیاه زینتی استئوسپرموم (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') در مقایسه با گونه‌های دیگر این قارچ دارد (Khandan-Mirkohi et al., 2015). استئوسپرموم (*Osteospermum sp.*) گیاهی زینتی از خانواده آستره بومی آفریقای جنوبی است که به‌عنوان گیاه گلدانی، شاخه بریده و در فضاهای سبز شهری استفاده می‌شود (Nowak, 2001; Giovannini et al., 1999). این گیاه در مناطق گرم و خشک در بیشتر اوقات و در مناطق معتدله در فصول گرم سال تحت تأثیر تنش کم‌آبی است. این موضوع سبب اختلال در جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر کانی و آهن می‌شود. در چنین شرایطی قارچ‌ریشه می‌تواند با قابلیت خود در گسترش سطح نفوذ گیاه به حجم بیشتری از بستر کشت و خاک، باعث افزایش توانایی جذب آب توسط گیاه شود. در این پژوهش تأثیر گونه انتخاب‌شده از قارچ‌ریشه آرباسکولار و برخی باکتری‌های محرک رشد هر کدام به تنهایی و یا در

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

Table 1. Physical and chemical characteristics of field soil

Soil texture	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	Available K (ppm)	Available P (ppm)	Organic Carbon (%)	Saturated paste extract pH	EC (mS cm^{-1})	Saturation percentage (%)
Clay loam	28	34	38	396	4.51	0.95	7.6	2.61	50

شدند و برای تلقیح حفره‌هایی در گلدان‌ها ایجاد شد و در هر حفره ۵۰ گرم از مایه تلقیح قارچی *Glomus mosseae* CA و ۱۵ میلی‌لیتر از مخلوط باکتری‌های *Pseudomonas putida* و *Bacillus pantea* بر پایه تیمارهای موردنظر اضافه و سطح حفره با خاک مورد استفاده پوشانده شد. بذرهای پیش‌جوانه‌زده شده استئوسپرموم به شمار سه عدد در هر گلدان کاشته

بذرهای استئوسپرموم (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') در آغاز با هیپوکلرید سدیم ۱۰ درصد گندزدایی شده و آنگاه دو بار با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شدند. بذرهای ضدعفونی شده برای جوانه‌زنی به محیط گرم و مرطوب انتقال یافتند. گلدان‌ها از خاک سترون پر شده و در حد ظرفیت مزرعه آبیاری

شسته شده مناسب جدا و درون لوله‌های آزمایش در هیدرواکسید پتاسیم (KOH) ۸ درصد غوطه‌ور شدند. در لوله‌های آزمایش با سلفون پوشانده و به مدت پنج دقیقه اتوکلاو شد. ریشه‌های اتوکلاو شده چندین بار با آب شست‌وشو شد تا KOH آن به‌طور کامل از بین برود. سپس ریشه‌ها دوباره درون لوله آزمایش قرار داده شدند و روی آن‌ها آب اکسیژنه (H_2O_2) ریخته شد. پس از گذشت پانزده دقیقه ریشه‌ها با آب مقطر شسته شدند. مقداری اسیدکلریدریک ۱ درصد به ریشه‌های موجود در لوله آزمایش اضافه شد. مدت زمان لازم برای باقی ماندن ریشه‌ها در اسیدکلریدریک سه دقیقه منظور شد. پس از آن رنگ تریپان بلو به ریشه‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش به خوبی تکان داده شدند تا ریشه‌ها در رنگ معلق شوند. مدت زمان دست‌کم چهار ساعت برای باقی ماندن ریشه‌ها در رنگ منظور شد. در نهایت میزان آلودگی ریشه و درصد استقرار محاسبه شد (Giovannetti & Mosse, 1980). برای این منظور ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده را چندین بار با آب مقطر شست‌وشو داده و ریشه‌ها درون یک پتری‌دیش پخش شد. شمار پنجاه عدد ریشه ۱ سانتی‌متری درون یک پتری‌دیش مدرج (۴۹ خانه با ابعاد 1×1 سانتی‌متر) به‌طور تصادفی پخش شد. با استفاده از دستگاه استریومیکروسکوپ با بزرگ‌نمایی پنجاه برابر، شمارش ریشه‌ها روی تقاطع عمودی و افقی انجام و پس از آن آلودگی (ریسه، آرباسکول و ویزیکول) ریشه‌ها تنها روی محل تقاطع بررسی و درصد استقرار بر پایه رابطه زیر محاسبه شد:

$$= \text{درصد استقرار ریشه} = \frac{\text{شمار آلودگی در تقاطع‌های عمودی} + \text{شمار آلودگی در تقاطع‌های افقی}}{\text{شمار تقاطع ریشه با خطوط عمودی} + \text{شمار تقاطع ریشه با خطوط افقی}} \times 100$$

سپس ریشه‌هایی که برای اندازه‌گیری درصد استقرار استفاده شده بودند به آن انتقال یافته و به نمونه‌های پیشین برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه اضافه شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزار SAS بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

شد. گلدان‌ها پس از کشت بذرها و در طول دوره رشد تا مرحله سه برگی به مقدار نیاز گیاه آبیاری شدند. در مرحله سه برگی یک گیاه در هر گلدان حفظ شد و بقیه حذف شدند. همین روش در کاشت گیاهان شاهد تلقیح‌نشده نیز اعمال شد.

برای اعمال تیمار کم‌آبی در آغاز ظرفیت زراعی بستر کشت تعیین شد و آنگاه میزان یک‌سوم و دوسوم ظرفیت زراعی برپایه عدد به‌دست‌آمده محاسبه شد. ملاک آبیاری دوباره، مشاهده خشکی سطح بستر کشت بود و در هر دوره آبیاری میزان محاسبه شده به کار برده شد. برای برآورد میزان آب مورد استفاده گیاه، تبخیر سطحی نیز با آبیاری و توزین دوره‌ای گلدان‌های شاهد بدون گیاه محاسبه و در نهایت توجه شد.

پس از گذشت ۱۲۰ روز از زمان کشت گیاه، گیاهان برداشت شدند و شاخص‌های رشد مانند وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و طول ریشه اندازه‌گیری شد. میزان استقرار ریشه در طول دوره رشد و در پایان دوره رشد گیاه ارزیابی شد. سطح برگ در گیاه با دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل Leaf Area Meter – (ΔT – ENGLAND) اندازه‌گیری شد. پس از برداشت گیاهان، ریشه‌ها از گلدان خارج شده و با آب روان شسته شدند. پس از حذف آب سطحی ریشه‌ها با فشار ملایم دستمال نخی، وزن تر کل ریشه هر گیاه اندازه‌گیری شد. پس از شستشوی ریشه‌ها، حجم ریشه‌ها توسط استوانه مدرج بر پایه میزان افزایش حجم آب نسبت به حالت اولیه برحسب سانتی‌متر مکعب اندازه‌گیری شد. طول ریشه بر پایه روش خطوط مشبک محاسبه شد (Tenant, 1975; Khandan-Mirkohi & Schenk, 2009).

نمونه‌هایی با وزن مشخص از ریشه برای اندازه‌گیری درصد استقرار جدا شده و در محلول آب و الکل ۵۰ درصد نگهداری شد. باقی‌مانده ریشه در خشک‌کن در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه قرار داده شد. اندام هوایی گیاهان نیز به همین شکل برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی پس از توزین به خشک‌کن انتقال یافتند.

رنگ‌آمیزی ریشه‌ها بر پایه روش Koske & Gemma (1989) با کمی تغییر انجام شد. مقداری از ریشه‌های

نتایج و بحث

تأثیر تنش خشکی بر شاخص‌های رشد

با افزایش سطوح خشکی صفات ارتفاع، شمار برگ، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ، طول ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی و نسبت طول به وزن خشک ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). کاهش میانگین ارتفاع گیاه (شکل ۱) و شمار برگ (شکل ۲) در اثر افزایش سطوح خشکی با کاهش وزن اندام هوایی (شکل‌های ۴ و ۵) هماهنگ بود. بنابراین تنش خشکی باعث کاهش ارتفاع گیاه و شمار برگ‌ها شده و در نتیجه وزن خشک اندام هوایی را کاهش داد. کاهش عملکرد گیاه با افزایش خشکی ممکن است به علت افزایش تولید اتیلن در شرایط تنش خشکی باشد. در شرایط کمبود آب، افزایش میزان اسید آسبیزیک از راه کاهش میزان افزایش یاخته‌ای در مریستم برگ و کاهش فعالیت‌های حل‌کنندگی دیواره یاخته‌ای که لازمه طویل شدن برگ است از توسعه سطح برگ جلوگیری می‌کند علاوه بر این افزایش مقاومت لایه میان برگی (مزوفیلی) و روزه‌ای در شرایط تنش خشکی باعث کاهش ورود دی‌اکسیدکربن به درون گیاه و کاهش نورساخت (فتوسنتز) ظاهری گیاه می‌شود و در نتیجه وزن خشک اندام‌های گیاه در اثر پایین آمدن سطح مواد نورساختی کاهش می‌یابد (Ghourchiani *et al.*, 2012). هنگامی که آب به اندازه کافی فراهم باشد ریشه گیاهان رشد کرده و آب کافی را به قسمت هوایی عرضه می‌کند که این موضوع باعث رشد سریع گیاه می‌شود ولی در شرایطی که میزان آب در دسترس ریشه‌ها به اندازه کافی نباشد ریشه‌ها برای دستیابی به آب به عمق بیشتر نفوذ کرده و توسعه بیشتری می‌یابند تا نیاز آبی قسمت‌های هوایی را تأمین کنند. این موضوع باعث افزایش نسبت ریشه گیاه به اندام هوایی خواهد شد.

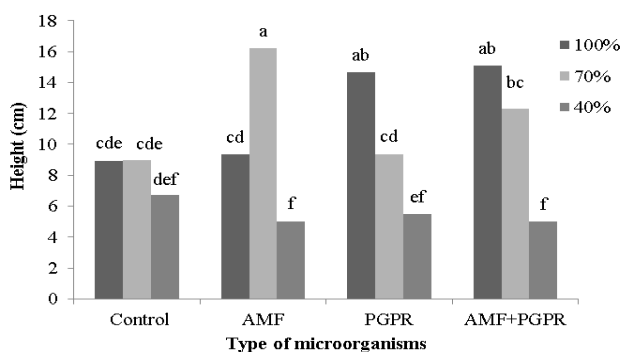
تأثیر قارچ ریشه بر شاخص‌های رشد

نتایج این پژوهش نشان داد که تأثیر قارچ ریشه آرباسکولار (گلوبوس موسه) بر شاخص‌های رشد استئوسپرموم معنی‌دار بود. سطح برگ (شکل ۳)، وزن

تر و خشک اندام هوایی (شکل‌های ۴ و ۵)، وزن تر و خشک ریشه (شکل‌های ۶ و ۷)، طول ریشه (شکل ۹) و حجم ریشه (شکل ۱۰) در شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و چه در شرایط آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ) بود. اما تفاوت شایان ملاحظه‌ای بین گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده در سطح آبیاری ۴۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده نشد. افزایش شاخص‌های رشد و عملکرد با تلقیح قارچ گلوبوس موسه در شرایط تنش خشکی بیانگر کارایی نظام همزیستی قارچ ریشه آرباسکولار در افزایش عملکرد گیاه در خاک‌های با کمبود رطوبت و حاصلخیزی پایین است (Marschner & Dell, 1994). همچنین با افزایش تنش خشکی درصد استقرار ریشه گیاه استئوسپرموم کاهش یافت (شکل ۱۱). نتایج این پژوهش نشان داد به موازات کاهش درصد استقرار ریشه، رشد گیاه نیز چه در شرایط تنش کم‌آبی و چه در شرایط غیر تنش کاهش یافت. به عبارت دیگر یک رابطه مثبت بین درصد استقرار ریشه و افزایش رشد گیاه برقرار بود. کاهش مشاهده شده در رشد اندام هوایی و ریشه گیاه در شرایط تنش کم‌آبی را می‌توان در نتیجه همین کاهش استقرار ریشه و کاهش جذب عناصر کانی دانست. دیگر پژوهشگران نیز به کاهش درصد استقرار ریشه گیاه در شرایط تنش کم‌آبی اشاره کرده‌اند (Al-Karaki *et al.*, 1998; Al-Karaki, 2000). کاهش درصد استقرار ممکن است به کاهش رشد گیاه در شرایط تنش خشکی و کاهش میزان ترشح‌های ریشه‌ای و همچنین به محدودیت دسترسی اسپور قارچ به آب برای جوانه‌زنی مربوط باشد. نتایج بررسی‌های انجام شده نشان داد که تنش خشکی به‌طور متفاوت درصد استقرار ریشه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این ارتباط گزارش شده است که با افزایش تنش خشکی درصد استقرار ریشه یونجه کاهش می‌یابد (Goicoechea *et al.*, 1996). حال آنکه چنین کاهش‌ی بر درصد استقرار ریشه سویا ملاحظه نشد (Porcel & Ruiz-Lozano, 2004). چنین پاسخ‌های متفاوت گیاه تلقیح‌شده با قارچ ریشه‌ای نسبت به تنش خشکی می‌تواند افزون بر شرایط خاک و شدت تنش

موضوع به صورت افزایش در میزان وزن خشک ریشه مشاهده شد (شکل ۷). در پژوهشی که روی گیاه داوودی انجام گرفت، ارتفاع گیاه، سطح برگ، طول ریشه و وزن تر و خشک شاخه‌ها و ریشه‌ها و جذب عناصر غذایی در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌ریشه به‌طور شایان توجهی بیشتر از گیاهان شاهد بود (Sohn *et al.*, 2003). همچنین در این بررسی تلقیح با این قارچ هنگام گلدهی این گیاه نسبت به گیاهان شاهد را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در پژوهشی دیگر با بررسی تأثیر قارچ‌ریشه بر عملکرد لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum*) مشاهده شد هنگامی که قارچ‌ریشه آریسکولار به محیط کشت بذر لیزیانتوس افزوده شد رشد و عملکرد (طول ساقه، شمار شاخه‌های گل‌دهنده در هر مترمربع، وزن شاخه، شمار گل در هر شاخه و عمر گل‌جای) به میزان زیادی افزایش یافت (Pivonia *et al.*, 2010).

خشکی به مؤلفه‌های فیزیولوژیکی گیاه مانند پتانسیل آب برگ (Premachandra *et al.*, 1995) و نیز میزان انباشت تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین مربوط باشد (Procel *et al.*, 2007). در رابطه با تأثیر ریشه بر رشد رویشی، سازوکارهای مختلفی توسط پژوهشگران بیان شده است که یکی از مهم‌ترین این سازوکارها تأثیر ریشه بر جذب آب و عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم از خاک است (Nye & Tinker, 1977). با افزایش جذب آب و مواد غذایی، فعالیت نورساختی و تثبیت دی‌اکسیدکربن و تولید سطح برگ در گیاه افزایش می‌یابد که در نهایت سبب افزایش تثبیت دی‌اکسیدکربن و افزایش زیست‌توده اندام هوایی می‌شود. همچنین افزایش فعالیت نورساختی باعث می‌شود اختصاص کربن به ریشه در گیاهان همزیست بیشتر از گیاهان شاهد باشد که این



شکل ۱. تأثیر قارچ‌ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد گیاهی (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر ارتفاع گیاه استئوسپریموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند. Figure 1. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on plant height of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.

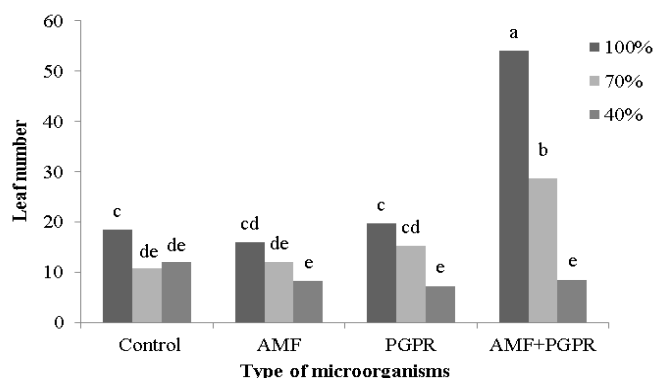
جدول ۲. مقایسه میانگین تأثیر سطوح آبیاری و نهاده زیستی قارچ‌ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر برخی صفات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی گیاه زینتی استئوسپریموم

Table 2. Mean comparison for effects of different irrigation levels and microorganisms of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on some morphological and physiological traits of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix')

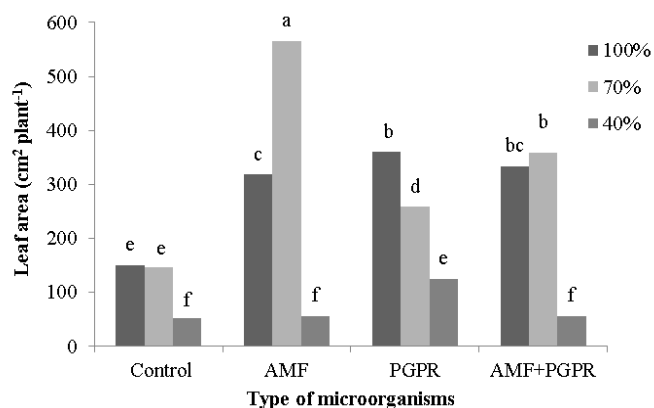
Treatments	Irrigation level (% of field capacity)	Shoot dry to fresh weight ratio	Root dry to fresh weight ratio	Root length to root dry weight ratio	Shoot to root dry weight ratio	Root to shoot dry weight ratio
Irrigation level (% of field capacity)	100	9.37 ^{c*}	22.45 ^b	2479.0 ^a	4.38 ^a	0.270 ^a
	70	11.60 ^b	25.01 ^b	2412.5 ^a	4.91 ^a	0.240 ^{ab}
	40	14.78 ^a	40.07 ^a	1893.6 ^b	5.10 ^a	0.213 ^b
Type of microorganism	AMF+PGPR	12.30 ^a	26.49 ^b	2116.6 ^b	3.46 ^c	0.306 ^a
	AMF	12.93 ^a	27.50 ^b	2087.2 ^b	4.95 ^b	0.209 ^b
	PGPR	11.12 ^a	24.73 ^b	2281.6 ^{ab}	3.53 ^c	0.309 ^a
	Control	11.32 ^a	37.98 ^a	2561.4 ^a	7.24 ^a	0.145 ^c

* حروف همسان در هر ستون تیمار نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر پایه آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

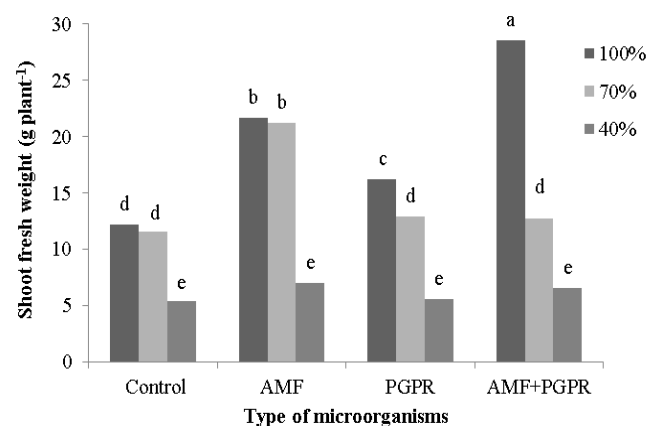
* In each column of treatment group, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on Duncan's Multiple Range Test.



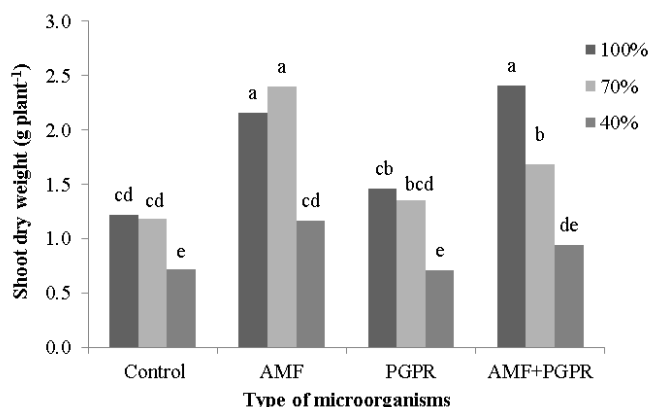
شکل ۲. تأثیر قارچ‌ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد گیاهی (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر شمار برگ گیاه استئوسپرموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند. Figure 2. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on leaf number of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



شکل ۳. تأثیر قارچ‌ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر سطح برگ گیاه استئوسپرموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند. Figure 3. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on leaf area of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.

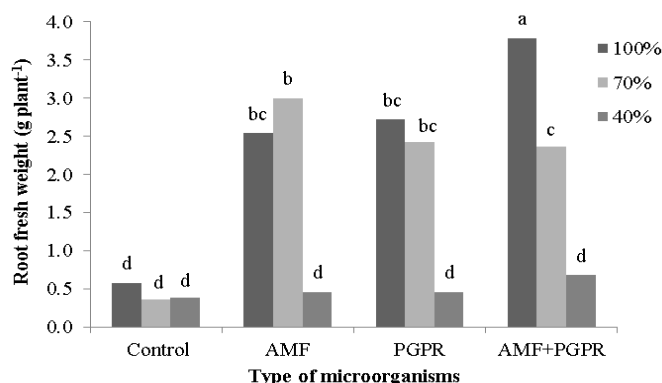


شکل ۴. تأثیر قارچ‌ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر وزن تر اندام هوایی گیاه استئوسپرموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند. Figure 4. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on shoot fresh weight of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



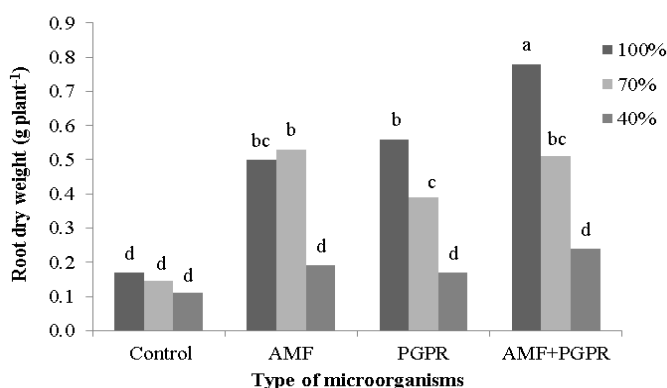
شکل ۵. تأثیر قارچ ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر وزن خشک اندام هوایی گیاه استتوسپریموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند.

Figure 5. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on shoot dry weight of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letter are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



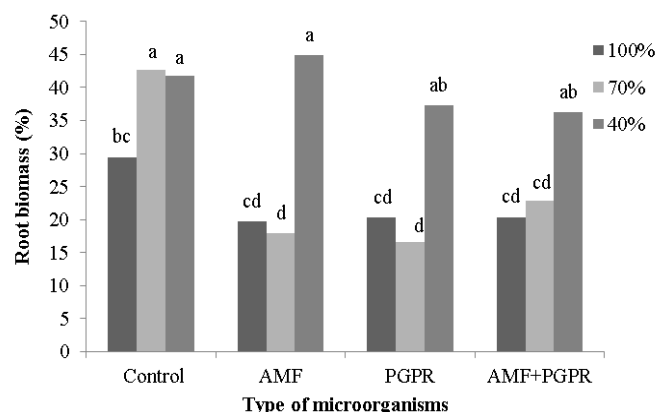
شکل ۶. تأثیر قارچ ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر وزن تر ریشه گیاه استتوسپریموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند.

Figure 6. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on root fresh weight of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



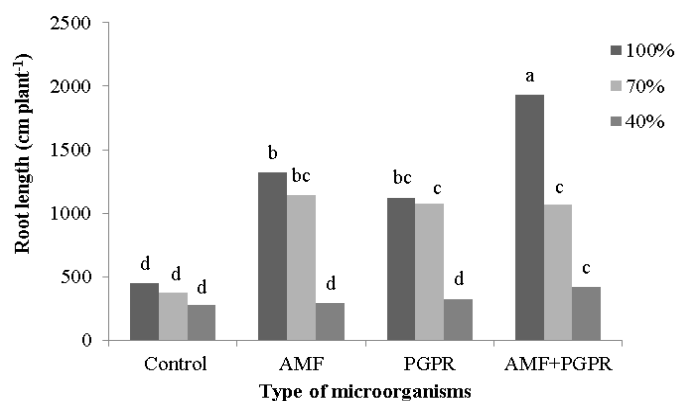
شکل ۷. تأثیر قارچ ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر وزن خشک ریشه گیاه استتوسپریموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند.

Figure 7. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on root dry weight of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



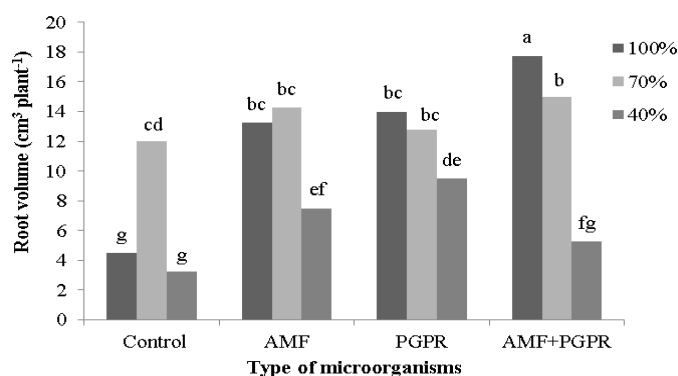
شکل ۸. تأثیر قارچ ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر درصد زی توده ریشه گیاه استئوسپریموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند.

Figure 8. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interaction (AMF+PGPR) on root biomass of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



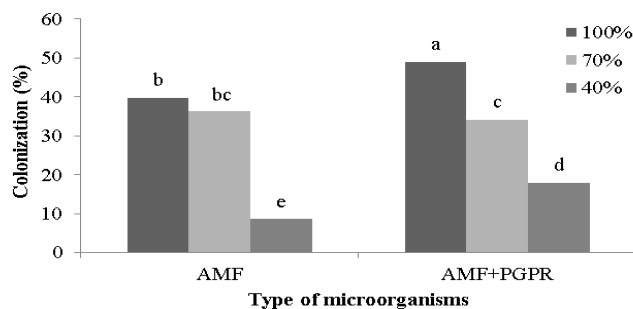
شکل ۹. تأثیر قارچ ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر طول ریشه گیاه استئوسپریموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند.

Figure 9. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on root length of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



شکل ۱۰. تأثیر قارچ ریشه (AMF)، باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و برهمکنش آن‌ها (AMF+PGPR) بر حجم ریشه گیاه استئوسپریموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند.

Figure 10. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their interactions (AMF+PGPR) on root volume of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.



شکل ۱۱. تأثیر قارچ ریشه (AMF) و باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر درصد استقرار قارچ ریشه در ریشه گیاه استئوسپرموم در شرایط آبیاری مختلف. میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک از نظر آماری بدون اختلاف معنی‌دار هستند.

Figure 11. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on colonization percentage of AMF on *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') roots under different watering conditions. Means with similar letters are not significantly different at the $P \leq 0.05$ using Duncan Multiple Range Test.

شده است که تولید اتیلن و آبسزیک اسید که از بازدارنده‌های رشد گیاه به شمار می‌آیند یکی از ویژگی‌های مرسوم باکتری‌های فراریشه‌ای مانند سودوموناس است که می‌تواند تأثیر منفی بر رشد گیاهان داشته باشند (Arshad & Frankenberger, 1989). در پژوهشی تأثیر تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر گیاه نخود ارزیابی شد و نتایج نشان داد که کاربرد هم‌زمان باکتری‌های *Rhizobium* *Bacillus megaterium* و *Trichoderma* در ۴۵ روز پس از کاشت بیشترین تأثیر را بر میزان ماده خشک بوته و جذب مواد غذایی توسط گیاه در مقایسه با تیمار شاهد و تلقیح سطوح هر یک از این باکتری‌ها به صورت منفرد داشت (Rodríguez & Fraga, 1999). افزون بر این نقش هورمون اکسین در افزایش ارتفاع بوته با افزایش انبساط‌پذیری یاخته‌ها و همچنین افزایش غالبیت انتهایی ثابت شده است (Evans & Cleland, 1985). گزارش‌هایی نیز در رابطه با نقش باکتری‌های محرک رشد تولیدکننده اکسین‌ها از جمله سودوموناس بر افزایش (Shaharoon et al., 2006; Vosatka & Gryndler, 2003) و کاهش (Zahir et al., 2003) ارتفاع بوته وجود دارد.

ریشه گیاه به‌عنوان اندام جذب آب و عناصر غذایی از خاک و اندام تولیدکننده ترکیبات مختلف از جمله هورمون‌های رشد، برای رشد و نمو گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد. بررسی‌های مختلف تأثیر مثبت کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های رشد ریشه از جمله افزایش سطح کل ریشه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، شمار ریشه‌های فرعی، شمار و تراکم تارهای

تأثیر باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر شاخص‌های رشد و عملکرد

نتایج این پژوهش نشان داد که تأثیر باکتری‌های محرک رشد (در این پژوهش سودوموناس و باسیلوس) بر شاخص‌های رشد استئوسپرموم معنی‌دار بود. ارتفاع (شکل ۱)، وزن تر و خشک اندام هوایی (شکل‌های ۴ و ۵)، سطح برگ (شکل ۳)، وزن تر و خشک ریشه (شکل‌های ۶ و ۷)، طول ریشه (شکل ۹) و حجم ریشه (شکل ۱۰) نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تأثیر کاربرد PGPR بر تجمع ماده خشک در اندام‌های متفاوت گیاهان مختلف بررسی و مشخص شده است که این باکتری‌ها با سازوکارهای فعالیت خود الگوی تخصیص ماده خشک به اندام‌های مختلف و در نتیجه رشد و نمو بخش هوایی و ریشه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Bashan & Dubrovsky, 1996). چنین تأثیری در افزایش وزن خشک برگ‌های ذرت طی تلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر و آروسپیریولوم نیز مشاهده شد (Kapulnik et al., 1982). همچنین افزایش ماده خشک ساقه ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری آروسپیریولوم گزارش شده است (Bashan & Dubrovsky, 1996). با این حال نشان داده شده که برخی باکتری‌های فراریشه‌ای به دلایل مختلفی از جمله تولید مقادیر زیادی اکسین، رقابت سیدروفورهای تولیدشده توسط آن‌ها برای جذب آهن، تولید اتیلن و سیانید هیدروژن و دیگر سموم گیاهی ناشناخته تأثیر منفی بر رشد گیاهان زراعی دارند و بازدارنده رشد آن‌ها می‌شوند (Barazani & Friedman, 1999). همچنین نشان داده

وزن خشک اندام‌های هوایی به وزن خشک ریشه استئوسپرموم نیز تحت تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد قرار گرفته و تلقیح باکتری باعث کاهش این نسبت در مقایسه با شاهد شد (جدول ۲). تغییر نسبت وزن خشک بخش هوایی بوته به ریشه به نفع افزایش رشد ریشه ذرت با تلقیح بذر با باکتری آروسپیریوم گزارش شده است (Bashan & Dubrovsky, 1996). همچنین افزایش ۴۲/۶ درصدی وزن خشک بخش هوایی بوته ذرت و افزایش ۶۸/۴ درصدی وزن خشک ریشه با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش شده است (Javed *et al.*, 1998). افزایش تولید ماده خشک در گیاهان تلقیح شده را می‌توان به رشد بهتر و در نتیجه جذب عناصر ضروری مانند نیتروژن و فسفر به دلیل افزایش توسعه ریشه نسبت داد.

تأثیر تلقیح مشترک باکتری و قارچ بر شاخص‌های رشد
با توجه به ویژگی‌هایی که قارچ‌ریشه‌های آرباسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه دارند انتظار بر این است که با کاربرد هم‌زمان این دو ریزموجود، رشد گیاه در شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌داری داشته باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که تأثیر تلقیح مشترک باکتری‌های محرک رشد (*Pseudomonas putida*) و قارچ‌ریشه (*Glomus mosseae*) بر شاخص‌های رشدی استئوسپرموم معنی‌دار بود. نزدیک به همه شاخص‌های رشد مورد ارزیابی در تیمارهای همزیست با مخلوط باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌ریشه، در سطوح آبیاری ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از شاهد بود. تلقیح مشترک باعث افزایش ارتفاع (شکل ۱)، شمار برگ (شکل ۲)، وزن تر و خشک اندام هوایی (شکل‌های ۴ و ۵) و ریشه (شکل‌های ۶ و ۷)، سطح برگ (شکل ۳)، زیست‌توده ریشه (شکل ۸)، طول ریشه (شکل ۹)، حجم ریشه (شکل ۱۰)، و استقرار (شکل ۱۱) شد. نتیجه همسانی توسط پژوهشگران دیگر گزارش شده است. افزایش وزن ریشه، وزن خشک اندام هوایی، مقدار آب گیاه و درصد استقرار ریشه در گیاه ذرت در نتیجه تلقیح مشترک قارچ‌ریشه‌های آرباسکولار و باکتری‌های متحمل به خشکی در شرایط تنش خشکی

کشنده همچنین افزایش تقسیم یاخته‌های مریستم ریشه و تحریک تراوشات از ریشه گیاهان مختلف را نشان داده‌اند (Pan *et al.*, 2006). از میان این صفات، افزایش وزن ریشه در اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد عمومی‌تر است البته چنانکه وزن ریشه افزایش نیابد یا افزایش آن زیاد نباشد، طول ویژه ریشه (طول ریشه به ازای هر واحد وزن ریشه) که معیاری از سطح ریشه بیشتر است، افزایش می‌یابد و در نتیجه حجم بیشتری از خاک به وسیله ریشه برای جذب عناصر غذایی جستجو می‌شود. گزارش شده است که سویه SP7 آروسپیریوم برازیلنس موجب افزایش ۶۳ درصدی وزن خشک ریشه سویا شد و این در حالی بود که وزن ریشه را بیش از شش برابر و طول ریشه را بیش از ده برابر افزایش داد (Molla *et al.*, 2001). اسید ۳- ایندول استیک مؤثرترین ترکیب تأثیرگذار بر آغازش ریشه، تقسیم و رشد یاخته است (Vivanco & Flores, 2000) که تأثیر آن به‌طور عمده به صورت افزایش طول ریشه بروز می‌کند (Patten & Glick, 2002). شواهد قانع‌کننده برای ترشح آنزیم ACC دامیناز توسط PGPR که با تحریک رشد از طریق تأثیر بازدارندگی بر تولید اتیلن گیاهان میزبان سبب افزایش طول ریشه آن‌ها می‌شوند، ارائه شده است (Burd *et al.*, 1998; Grichko & Glick, 2001). بررسی در رابطه با تولید سیتوکینین‌ها و اسید جیبرلیک‌ها و دیگر مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند برسینواستروئیدها (Brassinostroids) و تریانکونتانول (Triacantanol) که به تازگی کشف شده‌اند توسط PGPR زمینه نوین پژوهشی است و منابع در دسترس اندکی در مورد بررسی تأثیر تولید این مواد با باکتری‌های محرک رشد بر رشد گیاهان وجود دارند (Banerjee *et al.*, 2006). افزون بر تأثیر غیرمستقیم باکتری‌های محرک رشد با تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه بر رشد ریشه، شواهدی دال بر اینکه این باکتری‌ها به‌طور مستقیم تنفس ریشه و در نتیجه افزایش رشد ریشه را سبب می‌شوند نیز وجود دارد. به‌طوری‌که افزایش میزان تنفس ریشه برخی گونه‌های گیاهی در اثر تلقیح با باکتری آروسپیریوم گزارش شده است (Sarig *et al.*, 1992). بنا بر نتایج این پژوهش نسبت

فسفات می‌تواند با افزایش فسفر قابل‌دسترس در خاک به کاهش مصرف کودهای شیمیایی حاوی فسفر کمک کند. تأثیر هم‌افزایی که بین قارچ‌ریشه آربسکولار و باکتری‌های PGPR، توانست بیشتر صفات از جمله شمار برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، طول ریشه، حجم ریشه، استقرار و جذب فسفر را بیش از دیگر تیمارها افزایش دهد. باکتری‌های PGPR در حدود سطوحی یکسان با قارچ‌ریشه توانست بر جذب فسفر و تأثیر منفی ناشی از کم‌آبی تأثیرگذار باشد. نکته شایان توجه اینجاست که با کاهش میزان آبیاری، کاهش شایان توجهی در شاخص‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی گیاه استئوسپرموم مشاهده شد، ریزموجودهای مورد استفاده در این آزمایش تنها در سطح آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت زراعی قادر به بهبود این شاخص‌ها در گیاه بودند و در سطح آبیاری ۴۰ درصد ظرفیت زراعی هرچند که استئوسپرموم توانست به رشد خود ادامه دهد اما بهره‌گیری از قارچ‌ریشه و باکتری‌های PGPR نقش مؤثری در بهبود رشد گیاه نداشت. این بدان معناست که این ریزموجودها به تغییرپذیری شدید در محیط خاک حساس بوده و کاهش زیاد سطح رطوبت باعث کاهش فعالیت این ریزموجودها می‌شود. بنابراین همزیستی با قارچ‌ریشه‌های و باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند به‌طور شایان توجهی باعث بهبود شاخص‌های رویشی و تغذیه‌ای گیاه زینتی استئوسپرموم شود. باین‌حال برای دستیابی به این برتری‌ها فراهم کردن محیط مناسب برای رشد و بقای این ریزموجودها در خاک باید موردنظر قرار گیرد. به‌طور کلی استفاده هم‌زمان از قارچ *Glomus mossea CA* و باکتری‌های *Bacillus pantea* و *Pseudomonas putida* برای بهبود رشد و تحمل به شرایط کم‌آبی متوسط در گیاه زینتی استئوسپرموم تأکید می‌شود.

مشاهده شده است (Marulanda *et al.*, 2009). گزارش شده است که تلقیح مشترک قارچ‌ریشه‌های آربسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش معنی‌داری در شاخص‌های رشد گیاه کاهو (*Lactuca sativa*) می‌شود (Kohler *et al.*, 2007).

به‌طور کلی کاربرد هم‌زمان باکتری حل‌کننده فسفات و قارچ‌ریشه آربسکولار نسبت به کاربرد جداگانه این ریزموجودها در این پژوهش کارایی بیشتری داشت که احتمال دارد به دلیل وجود یک اثر هم‌افزایی مثبت بین ریزموجودهای حل‌کننده فسفات باشد. نشان داده شده است که تلقیح مشترک قارچ‌ریشه (*Glomus mosseae*) و باکتری‌های محرک رشد (*Bacillus coagulans*) و *Trichoderma harzianum* باعث افزایش ارتفاع، زیست‌توده، محتوای فسفر و استقرار ریشه در گیاه فیکوس بنجامین می‌شود (Srinath *et al.*, 2003). بنا بر گزارش‌ها، برخی باکتری‌ها از جمله سودوموناس‌های فلورنس استقرار قارچ‌ریشه آربسکولار را افزایش می‌دهند (Duponnois & Garbaye, 1991) و از سوی دیگر هنگامی که قارچ‌ریشه‌ها مایه‌کوبی می‌شوند، تراکم سوبیه‌های باکتری به‌طور معنی‌داری نسبت به حالت غیر قارچ‌ریشه‌ای بالا می‌رود (Frey-Keltt *et al.*, 1997). این جنبه همچنین توسط افزایش دوجانبه استقرار گلوموس و سودوموناس تلقیح شده در ریشه اثبات شده است (Meyer & Linderman, 1986).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که استفاده از قارچ‌ریشه‌های آربسکولار با داشتن ریشه‌ها و میسلیم‌های درون و برون ریشه‌ای منطقه تخلیه ریشه را برای جذب آب و مواد غذایی گسترش می‌دهند و می‌توانند تأثیر تنش‌های زیست‌محیطی از جمله تنش رطوبتی را به کمترین برسانند. همچنین استفاده از باکتری‌های حل‌کننده

REFERENCES

1. Al-Karaki, G. N. (1998). Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. *Mycorrhiza*, 8(1), 41-45.
2. Al-Karaki, G. N. (2000). Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10(2), 51-54.
3. Aragno, M. (2003). Beneficial soil microorganisms: A key for sustainable agriculture. in *Proceedings of the Seventh International Conference on Kyusei Nature Farming*.

4. 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), 6208-6215.
5. Arshad, M. & Frankenberger Jr.W. (1989). Biosynthesis of ethylene by *Acremonium falciforme*. *Soil Biology and Biochemistry*, 21(5), 633-638.
6. Banerjee, M. R., Yesmin, L. & Vessey, J. K. (2006). *Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides*. Handbook of microbial biofertilizers. Food Products Press, New York, p. 137-181.
7. Barazani, O. & Friedman, J. (1999). Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria? *Journal of Chemical Ecology*, 25(10), 2397-2406.
8. Bashan, Y. & Dubrovsky, J. (1996). Azospirillum spp. participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level. *Biology and Fertility of Soils*, 23(4), 435-440.
9. Bianciotto, V., Minerdi, D., Perotto, S. & Bonfante P. (1996). Cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. *Protoplasma*, 193(1-4), 123-131.
10. Bolan, N. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and soil*, 134(2), 189-207.
11. Burd, G. I., Dixon, D. G. & Glick, B. R. (1998). A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3663-3668.
12. Duponnois, R. & Garbaye, J. (1991). Effect of dual inoculation of Douglas fir with the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* and mycorrhization helper bacteria (MHB) in two bare-root forest nurseries. *Plant and Soil*, 138(2), 169-176.
13. Evans, M. L. & Cleland, R. E. (1985). The action of auxin on plant cell elongation. *Critical reviews in plant sciences*, 2(4), 317-365.
14. Frankenberger Jr, W. & Arshad, M. (1995). *Phytohormones in soils: microbial production and function*. Marcel Dekker Inc.
15. Frey-Klett, P., Pierrat, J.C. & Garbaye, J. (1997). Location and Survival of Mycorrhiza Helper *Pseudomonas fluorescens* during Establishment of Ectomycorrhizal Symbiosis between *Laccaria bicolor* and Douglas Fir. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(1), 139-144.
16. Ghourchiani, M., Alikhani, H., Akbari, Gh., Zareie, M. & Dadi, I. (2012). Effect of phosphate solubilizing bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi and chemical P fertilizer on yield and yield characters of *Zea mays* under normal and water stress conditions in Karaj. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10(1), 214-224.
17. Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, 84(3), 489-500.
18. Giovannini, A., Zottini, M., Morreale, G., Spena, A. & Allavena, A. (1999). Ornamental traits modification by rol genes in *Osteospermum ecklonis* transformed with *Agrobacterium tumefaciens*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 35(1), 70-75.
19. Graham, J. & Eissenstat, D. (1994). Host genotype and the formation and function of VA mycorrhizae. *Plant and Soil*, 159(1), 179-185.
20. Grichko, V. P. & Glick, B. R. (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39(1), 11-17.
21. Goicoechea, N., Antolin, M., Strnad, M. & Sánchez-Díaz, M. (1996). Root cytokinins, acid phosphatase and nodule activity in drought-stressed mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa plants. *Journal of experimental botany*, 47(5), 683-686.
22. Javed, I., Arshad, M. & Ali, K. (1998). Evaluation of rhizobacteria for their growth promoting activity in maize. *Pakistan Journal of Soil Science*, 2(1), 16-20.
23. Kapulnik, Y., Sarig, S., Nur, I., Okon, Y. & Henis, Y. (1982). The effect of Azospirillum inoculation on growth and yield of corn. *Israel journal of botany*, 31(1-4), 247-255.
24. Khandan-Mirkohi, A. & Schenk, M.K. (2009). Phosphorus efficiency of ornamental plants in peat substrates. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172(3), 369-377.
25. Khandan-Mirkohi, A., Taheri, M.R., Zafar-Farrokhi, F. & Rejali, F. (2015). The effect of mycorrhizal symbiosis on the water uptake efficiency and some growth traits of *Osteospermum (Osteospermum hybrida 'Passion Mix')*. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 45(4), 361-375.
26. 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.
27. Koltai, H. (2010). Mycorrhiza in floriculture: difficulties and opportunities. *Symbiosis*, 52(2-3), 55-63.
28. Koske, R. & Gemma, J. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological research*, 92(4), 486-488.

29. Marschner, H. & Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159(1), 89-102.
30. Marulanda, A., Barea, J.-M. & Azcón, 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.
31. Meyer, J. R. & Linderman, R. (1986). Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(2), 185-190.
32. Molla, A., Shamsuddin, Z., Halimi, M., Morziah, M. & Puteh, A. (2001). Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(4), 457-463.
33. Nowak, J. (2001). The effects of rooting media, CO₂ enrichment, P-nutrition and mycorrhizal inoculation on rooting and growth of *Osteospermum*. in *International Symposium on Growing Media and Hydroponics*, 644.
34. Nye, P.H. & Tinker, P.B. (1977). *Solute movement in the soil-root system*. Studies in Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford. p. 342.
35. 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.
36. Patten, C. L. & Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3795-3801.
37. Pivonia, S., Levita, R., Dori, I., Ganot, L., Meir, S., Salim, S., Koltai, H. (2010). Application of mycorrhizae to ornamental horticultural crops: lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) as a test case. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(S1), 5-10.
38. Porcel, R. & Ruiz-Lozano, J. M. (2004). Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of experimental botany*, 55(403), 1743-1750.
39. Premachandra, G. S., Hahn, D. T., Rhodes, D. & Joly, R. J. (1995). Leaf water relations and solute accumulation in two grain sorghum lines exhibiting contrasting drought tolerance. *Journal of experimental botany*, 46(12), 1833-1841.
40. Rodríguez, H. & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4), 319-339.
41. Sarig, S., Okon, Y. & Blum, A. (1992). Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on growth dynamics and hydraulic conductivity of *Sorghum bicolor* roots. *Journal of Plant Nutrition*, 15(6-7), 805-819.
42. Shaharoon, B., Arshad, M., Zahir, Z. A. & Khalid, A. (2006). Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2971-2975.
43. Sohn, B. K., Kim, K. Y., Chung, S. J., Kim, W. S., Park, S. M., Kang, J. G., Lee, J. H. (2003). Effect of the different timing of AMF inoculation on plant growth and flower quality of chrysanthemum. *Scientia horticulturae*, 98(2), 173-183.
44. Srinath, J., Bagyaraj, D. & Satyanarayana, B. (2003). Enhanced growth and nutrition of micropropagated *Ficus benjamina* to *Glomus mosseae* co-inoculated with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus coagulans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(1), 69-72.
45. Tennant, D. (1975). A test of a modified line intersect method of estimating root length. *The Journal of Ecology*, 995-1001.
46. Tinker, P.B., Jones, M.D. & Durall, D.M. (1992). A functional comparison of ecto- and endo-mycorrhizas. In: D.J. Reid, D.H. Lewis, A.H. Fitter and I.J. Alexander (Ed), *Mycorrhizas in Ecosystems*. (pp. 303-310.) CAB International, Wellingford, England.
47. Toro, M., Azcón, R. & Barea, J. (1998). The use of isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of *Rhizobium* genotype, mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *Medicago sativa*. *New phytologist*, 138(2), 265-273.
48. Van Loon, L. (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119(3), 243-254.
49. Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571-586.
50. Vivanco, J. M. & Flores, H. E. (2000). Control of root formation by plant growth regulators. *Plant growth regulators in agriculture and horticulture*. Ed., Basra, AS, Food Products Press, New York, 1-25.

51. Vosátka, M. & Gryndler, M. (1999). Treatment with culture fractions from *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* mycorrhiza and the response of potato and maize plants to inoculation. *Applied Soil Ecology*, 11(2), 245-251.
52. Zahir, Z. A., Arshad, M. & Frankenberger Jr, W. T. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 97-168.

Effects of arbuscular mycorrhizal fungus and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under drought stress on growth of ornamental osteospermum (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix')

Azizollah Khandan-Mirkohi^{1*}, Mohammadreza Taheri², Forough Zafar-Farrokhi³ and Farhad Rejali⁴

1, 2, 3. Assistant Professors and Former M.Sc. Student, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4. Assistant Professor, Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran

(Received: Sep. 15, 2014 - Accepted: Feb. 21, 2015)

ABSTRACT

Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus mossea* CA) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) of *Bacillus pantea* and *Pseudomonas putida* were evaluated on growth parameters of *Osteospermum* (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix') under different watering conditions (field capacity, two and one third of field capacity). Arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) and PGPR were applied as single or mixed. A factorial trial based on randomized complete block design with 3 replications per treatment and 4 replicates was carried out under greenhouse conditions. Root colonization, growth parameters and P concentration in plant was measured. Results showed that PGPR and mycorrhizal inoculated plants had better nutritional conditions than that of non-inoculated plants. Moreover, there was a synergetic effect between AMF and PGPR in this study. PGPR were as much effective as AMF on alleviating the negative impacts of drought stress. According to the results, applied microorganisms were more effective on improving the growth parameters at 70% of field capacity, while at 40% of field capacity; their effective role was reduced, although the plants were persistent, yet. Results revealed exploitation of AMF and PGPR and administering an optimized irrigation regime can be effective on improving yield of this plant.

Keywords: Field capacity, irrigation, microorganism, root colonization, symbiosis.