اثر تنش خشکی و تلقیح قارچ‌های میکوریزا و باکتری سودوموناس بر برخی ویژگی‌های مورفو–فیزیولوژیک چای‌ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)

سارا صنایعی[۱]، مرتضی برمکی[۲*]، علی عبادی خزینه قدیم[۳]، موسی ترابی گیگلو[۴]

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۵

۱- دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات ، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

٤- استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

*مسئول مکاتبه:Email : m_barmaki@uma.ac.ir

چکیده

اهداف: خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و تولیدات گیاهی را بیش از سایر تنش‌های زیستی و غیرزیستی کاهش می‌دهد. بررسی نقش همزیستی میکوریزایی و باکتری محرک رشد سودوموناس در افزایش مقاومت به خشکی گیاه دارویی چای ترش از اهداف این پژوهش می‌باشد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل درقالب طرح کامل تصادفی، با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۵ به اجرا درآمد. تیمارهای مورد آزمایش شامل سطوح خشکی در چهار سطح، اعمال تنش خشکی در شروع گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی، ۱۰۰درصد گلدهی و بدون اعمال تنش، دو گونه قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae* و*Glomus intraradices*) به علاوه شاهد بدون تلقیح و باکتری ریزوسفری محرک رشد سودوموناس (*Pseudomonas* p-169) به‌علاوه شاهد بدون تلقیح در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با اعمال تنش رطوبتی خصوصیات رشدی گیاه دارویی چای ترش نظیر ارتفاع ، تعداد غوزه در بوته، هدایت روزنه‌ای، وزن خشک کاسبرگ، وزن خشک بذر، وزن خشک و حجم ریشه، وزن هزاردانه و کلروفیل برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت. کاربرد قارچ‌های میکوریزا و باکتری محرک رشد سودوموناس در شرایط تنش خشکی سبب افزایش محتوای نسبی آب گردید که بیشترین این مقدار (٦٤/٣٧ درصد) از تیمارتلقیح شده با قارچ حاصل شد که نسبت به شرایط عدم تلقیح حدود ۳۲ درصد افزایش نشان داد. در پاسخ به تنش خشکی فرآیندهای تنظیم اسمزی در گیاه چای ترش فراهم شد و در شرایط تنش، میزان پرولین (٧/٨٤ میلی گرم بر گرم) وآنزیم آنتی‌اکسیدانت پلی‌فنل‌اکسیداز (١/٥٦ میکروگرم بر گرم) نسبت به شرایط آبیاری کامل به طور معنی‌داری افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: کاربرد قارچ‌های میکوریزا و باکتری محرک رشد سودوموناس سبب تعدیل اثرات منفی تنش خشکی گردید. کودهای زیستی از طریق افزایش رشد و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باعث افزایش مقاومت به تنش خشکی شدند.

واژه های کلیدی: باکتری محرک رشد، پرولین، چای ترش، خشکی، همزیستی میکوریزایی

Effect of Drought Stress and Inoculation of Mycorrihizal Fungi and *Pseudomonas* Spp. On some Morpho-physiological Characteristics of Roselle (*Hibiscus sabdaeiffa* L.)

Sara Sanayei[1], Morteza Barmaki[2*], Ali Ebadi khazine Gadim[3], Mousa Torabi Giglou[4]

Received: November 3, 2019 Accepted: February 23, 2021

1-PhD Student of Crops Ecology, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran.
2- Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran.
3- Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Agricultural and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran.
4- Assist. Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Agricultural and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran.
*Corresponding Author Emai: m_barmaki@uma.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Drought stress is one of the most important environmental stress and a limiting factor for plants production in most parts of the world. The aim of study was to investigate to the role of mycorrhiza and growth promoting bacteria, Pseudomonas spp. symbiosis in increasing drought tolerance of Roselle (*Hibiscus sabdaeiffa* L.).

Materials & Methods: The experiment was performed as factorial based on completely randomized design with 3 replications in the greenhouse of Agricultural Faculty of Mohaghegh Ardabili University in 2016. first factor included 4 drought stress levels (drought stress at flowering, 50% flowering, 100% flowering and no stress), the second factor included two species of mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) plus control without inoculation and third factor included growth promoting rhizosphere bacteria (*Pseudomonas* p-169) plus control without inoculation.

Results: The results showed that by applying drought stress, the plant growth properties of Roselle such as height, number of bolls per plant, stomatal conductance, dry weight of sepals, dry weight of grain, root dry weight and root volume, 1000-grain weight, chlorophyll of leave were significantly reduced. Application of mycorrhizal fungi and *Pseudomonas spp*. In drought stress increased relative water content, the highest amount of which (64.37%) was obtained by inoculation with fungi which showed a 32% increase compared to non-inoculated conditions. In response to drought stress, osmotic adjustment process in Roselle was provided and proline content (7.84 $mg.g^{-1}$) and antioxidant enzymes such as polyphenol oxidase (1.56 $\mu g.g^{-1}$) increased significantly under complete irrigation conditions.

Conclusion: Bacteria improved the effects of drought stress.The biological fertilizers increased drought stress tolerance by increasing growth parameters and moderate in the physiological traits such as antioxidant enzymes activity and photosynthetic pigments.

Keywords: Drought, Growth Promoting Bacteria, *Hibiscus sabdaeiffa* L., Mychorrhizal Fungis, Proline

مقدمه

گیاهان دارویی ذخایر ژنتیکی هر کشور می‌باشند و به همراه داروها و مواد مشتق شده از آن‌ها بخش مهمی از اقتصاد دنیا را به خود اختصاص می‌دهند (نبی‌زاده و کافی ۲۰۰۳). چای‌ترش (*Hibiscus sabdaeiffa* L.) متعلق به خانواده *Malvaceae* است و عمدتاً کاسبرگ آن به‌عنوان دارو قابلیت استفاده دارد. کاسبرگ‌ها دارای اسیدهای آلی اگزالیک، مالتیک، سیتریک و تارتاریک و همچنین ویتامینC، پروتئین، مواد معدنی و آنتوسیانین می‌باشد (احمد و همکاران ۲۰۱۱). کاسبرگ‌های چای ترش حاوی آنتوسیانین می‌باشد که مسئول رنگ قرمز است (خلیل و عبدل ۲۰۱۱). کمبود آب از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی، به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه-خشک دنیاست (حیدری و همکاران ۲۰۰۶). خشکی رشد و تولیدات گیاهی را بیش از سایر تنش‌های زیستی و غیرزیستی کاهش می‌دهد. مهم‌ترین اثرات تنش خشکی در گیاهان زراعی، کاهش تقسیم و توسعه سلولی، اندازه‌ی برگ، طویل شدن ساقه، تولید ریشه (فاروق و همکاران ۲۰۰۹ و لید و همکاران ۲۰۱۰) و کاهش راندمان مصرف آب است. به‌طور کلی اثر کمبود آب بر روی رشد گیاه بستگی به‌شدت تنش و مرحله رشد گیاه دارد (آرکو ۲۰۱۲). کاهش میزان عملکرد بر اثر افزایش خشکی مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح برگ و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه است (اسریوالی و همکاران ۲۰۰۱).

امروزه کودهای زیستی به‌عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی با هدف افزایش باروری خاک و تولید محصولات در کشاورزی پایدار محسوب می‌شوند (وو و همکاران ۲۰۰۵). در نظام‌های کشاورزی استفاده از کودهای زیستی، به‌ویژه در خاک‌های فقیر از عناصر غذایی، در افزایش تولید گیاهان و حفظ کیفیت خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (آبراهام و همکاران ۲۰۰۷). کودهای زیستی، موجودات باکتریایی و قارچی هستند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک، با تولید مقادیر چشمگیری هورمون-های محرک رشد، بر نمو و عملکرد گیاهان زراعی مؤثر بوده و همچنین بر ویژگی‌های خاک تأثیر می‌گذارند (زهاری و همکاران ۲۰۰۱). میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی قادر به بهبود رشد گیاهان از طریق تأمین مواد مغذی گیاهی، ترشح هورمون‌های رشد گیاهی و اسیدهای آلی می‌باشند و سبب افزایش باروری خاک و حفظ سلامت محیط‌زیست می‌شوند (اسیتکن و همکاران ۲۰۱۰). قارچ میکوریزا آربوسکولار در سال‌های اخیر برای مقابله با کم‌آبی و تنش‌های خشکی در بسیاری از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (سانگ ۲۰۰۵). مطالعات بوم‌شناسی و فیزیولوژیکی اثبات کرده است که اغلب همزیستی میکوریزایی باعث جذب بهتر آب از خاک می‌شود. قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش سطح جذب در اطراف ریشه می‌شوند که به گیاه میزبان کمک می‌کنند تا میزان آب بیشتری از خاک جذب نماید (اگ و همکاران ۲۰۰۱). قارچ میکوریزا دارای گونه‌های متعددی می‌باشد که دو گونه *Funneliformis mosseae* و *Funneliformis intraradices* کاربرد زیادی در کارهای تحقیقاتی دارند. از مکانیسم‌های احتمالی افزایش تحمل به خشکی در گیاهان میکوریزایی می‌توان به افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه‌ها (تیان و همکاران ۲۰۱۳)، افزایش جذب آب در شرایط رطوبتی کم به دلیل گسترش ریسه‌های قارچی، ایجاد تعادل اسمزی و حفظ فشار تورگر، افزایش فعالیت فتوسنتزی، تجمع کربوهیدرات‌ها و پرولین و افزایش جذب عناصر غذایی (دپیکا و کوتامسی ۲۰۱۵) اشاره کرد. کم‌آبی هم‌چنین باعث کاهش جذب آب توسط سیستم ریشه گیاه، کاهش تعرق، کاهش هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز و هم‌چنین به هم خوردن موازنه هورمونی در گیاه می‌گردد. عقیده بر این است که همزیستی قارچی میکوریزا آربوسکولار از گیاهان در برابر صدمات تنش خشکی محافظت می‌کند (اگ و همکاران ۲۰۱۵).

قارچ‌های میکوریزا ارتباط آب با گیاه میزبان را به-وسیله افزایش هدایت هیدرولیکی خاک، افزایش نسبت تعرق، کاهش مقاومت روزنه‌ای با تغییر در تعادل هورمون‌های گیاهی بهبود می‌بخشد. این تغییرات سبب

بهبود تغذیه فسفر گیاهان میکوریزایی تحت تنش خشکی می‌شود (ایلوان ۲۰۰۱). سونگ (۲۰۰۵) گزارش نمود در اثر تلقیح قارچ میکوریزا در شرایط تنش خشکی، ریزوسفر خاک بهبود یافته و در اثر توسعه سیستم ریشه ای و بهبود جذب آب و عناصر غذایی، سیستم دفاعی گیاه میزبان تقویت شده و خطرات اکسیداسیون کاهش می-یابد. نتایج تحقیقات نشان داده که باکتری‌های خاک‌زی تحریک کننده رشد قارچ به همراه میکوریزا آربوسکولار می‌توانند سبب افزایش توده زیستی و جذب مواد معدنی حتی در شرایط تنش‌زا شوند (آدسی‌موی و همکاران ۲۰۰۹). در چندین پژوهش انجام شده تیمارهای میکوریزایی، باکتری‌های محرک رشد و کاربرد تلفیقی آن‌ها سبب افزایش رشد رویشی گیاهان شد (ساباناوار و لاکشمن ۲۰۰۸ و بیست و همکاران ۲۰۰۹).

اهمیت تنش خشکی در تعیین سطح زیر کشت گیاه دارویی چای‌ترش و نقش همزیستی میکوریزایی و باکتری محرک رشد سودوموناس در تعدیل اثرات تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیک این گیاه دارویی از اهداف این پژوهش است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۵ به اجرا در آمد. تیمارهای مورد آزمایش شامل سطوح خشکی در چهار سطح (اعمال تنش خشکی در شروع گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی، ۱۰۰ درصد گلدهی و بدون اعمال تنش)، دو گونه قارچ میکوریزا (*Funneliformis mosseae* و*Funneliformis intraradices*) به‌علاوه شاهد بدون تلقیح و باکتری ریزوسفری محرک رشد سودوموناس (*Pseudomonas* sp. p-169) به‌علاوه شاهد بدون تلقیح در نظر گرفته شدند. بذور گیاه چای‌ترش از پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی، دو گونه قارچ میکوریزا از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز و باکتری سودوموناس (دارای از موسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شد. بستر خاکی مورد استفاده شامل نسبت ۲:۱ خاک به ماسه بود که دارای بافت لومی رسی بود (جدول ۱). ابتدا خاک مورد استفاده به‌منظور ضدعفونی به‌مدت یک ساعت در دمای صد درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر در اتوکلاو قرار گرفت و سپس برای تهیه بذر های تلقیح شده با قارچ و باکتری آماده شد. مایه تلقیح قارچی شامل اسپور، ریشه قارچ و قطعات ریشه کلونیزه در بستر شنی به‌میزان ۵۰ گرم با خاک اطراف ریشه اضافه شد (اسماعیل‌پور و همکاران ۲۰۱۳). همچنین مایه تلقیح باکتری دارای جمعیت تقریبی $۱۰^{۷}$ (Colony forming unites, cfu/ml) بود. بذور چای ترش تا سبز شدن و رشد تحت شرایط ۲٤ درجه سانتی‌گراد، رطوبت مناسب، نور و تهویه مناسب گلخانه نگهداری و پس از ۲۰ روز نشاها به گلدان‌ها انتقال یافت. پس از سبزشدن بذرها، تنک کردن گیاهچه‌ها در چند مرحله انجام گردید و در نهایت داخل هر گلدان دو بوته نگهداری شد. آبیاری گلدان‌ها به‌صورت روزانه تا قبل از مرحله گلدهی براساس حد ظرفیت زراعی خاک (به‌صورت توزین روزانه و رساندن وزن گلدان به حد ظرفیت زراعی) به-صورت یکسان صورت گرفت. سپس براساس تیمارهای مورد آزمایش، قطع آبیاری صورت گرفت. در مرحله پایان گلدهی ارتفاع گیاه با استفاده از خط‌کش مدرج اندازه‌گیری و تعداد غوزه‌ها در هر بوته یادداشت‌برداری شد. بعد از برداشت، سایر صفات رویشی شامل وزن خشک کاسبرگ، وزن خشک ریشه، وزن هزار دانه، حجم ریشه‌ها (با استفاده از حجم مشخصی از آب در استوانه مدرج) اندازه‌گیری و برای تعیین وزن خشک، نمونه‌های گیاهی به‌مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردید. هدایت روزنه-ای با استفاده از دستگاه پرومتر مدل Leaf U.S.A Porometer SC-1 اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که با قرار دادن قسمت میانی جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته در داخل سنسور دستگاه اعداد مربوط به میزان

جدول ۱- مشخصات فیزیکو-شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش

ویژگی	آهک	رس	سیلت	شن	کربن آلی	نیتروژن	هدایت الکتریکی	فسفر	پتاسیم	آهن	pH
	(%)						($dS.m^{-1}$)	($mg.Kg^{-1}$)			
میزان	۵	۳۹	۳۰	۳۱	۰/۸۵۸	۰/۰۸	۱/۵٤	۱۲/۲	۲۹۵	۵/۱	۷/۷٦

هدایت روزنه بر حسب mol/m^2s قرائت گردید. شاخص کلروفیل به‌وسیله دستگاه کلروفیل‌سنج دستی مدل CCM2000 اندازه‌گیری شد. محتوای نسبی آب برگ به روش وترلی (۱۹۵۰) ، پرولین به روش ایریگوئن و همکاران (۱۹۹۲) و آنزیم پلی فنول اکسیداز به روش کارو و میشرا (۱۹۷٦) محاسبه شد. جهت تعیین همزیستی قارچ‌ها با ریشه، نمونه‌برداری به‌روش فیلیپس و هایمن (۱۹۷۰) انجام و رنگ‌آمیزی صورت گرفت. برای تعیین کلونیزاسیون ریشه، از روش تلاقی خطوط مشبک استفاده شد (حمزه‌ی و سلیمی ۲۰۱٤). داده‌ها با نرم-افزار SAS نسخه ۹/۲ آنالیز و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

پرولین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و متقابل میکوریزا، باکتری و خشکی بر روی پرولین برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش سطوح تنش خشکی میزان تجمع پرولین افزایش یافت (جدول ۳) و بیشترین و کمترین میزان تولید آن‌ها به ترتیب به تلقیح دوگانه (قارچ و باکتری) و شاهد تعلق داشت. تیمار با قارچ میکوریزا و باکتری باعث کاهش اثر تنش خشکی شد (جدول ۳)؛ پورسل و همکاران (۲۰۰٤) تجمع سطوح بالایی از پرولین در برگ‌ها و پرولین کمتر را در شاخساره‌های گیاه سویا آمیخته شده با قارچ میکوریزا در مقایسه با گیاهان بدون قارچ تحت شرایط تنش خشکی گزارش کردند. همچنین پیرزاد و همکاران (۲۰۱۱) افزایش میزان پرولین را در اثر ایجاد تنش آبی در گیاه *Matricaria chamomilla* L. نشان دادند. مطالعات نشان می‌دهد تحت همزیستی با قارچ‌های میکوریزا، محتوای پرولین در شرایط تنش کاهش (مالر و هافنر ۱۹۹۱) و یا افزایش (سورال ۲۰۰۱ و ویو و زیا ۲۰۰٦) پیدا می‌کند. همچنین گزارش شده است که کاربرد باکتری‌های محرک رشد با پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب کاهش خسارت به اسیدهای چرب و پروتئین‌ها شده و در نتیجه اثر مخرب تنش را کاهش می‌دهند و لذا سنتز و تجمع پرولین به‌عنوان یک عکس‌العمل گیاه به تنش کاهش می-یابد (سینگ و کاپور ۱۹۹۹). افزایش مقادیر پرولین، قند های محلول و کاهش پتاسیم و سدیم (در تلقیح دوگانه) در پژوهش اسمیت و رد (۱۹۹۷) نیز گزارش شده است. قارچ میکوریزا در سطوح بالای تنش خشکی در کاهش میزان پرولین از کارایی بیشتری برخوردار بوده و میزان انباشت پرولین را در بافت برگ به مقدار زیادی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده کاهش داده است. معمولاً گیاهان تلقیح شده با میکوریزا با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان بدون میکوریزا قادرند از شرایط تنش خشکی به‌طور موقت، فرار کنند و کمتر دچار آسیب شوند و در نتیجه میزان پرولین و قندهای محلول نسبت به گیاهان بدون میکوریزا افزایش کمتری نشان می‌دهد. بر اساس نتایج بدست

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات مورفو-فیزیولوژیک چای‌ترش تلقیح شده با میکوریزا و باکتری تحت تنش خشکی

		میانگین مربعات (MS)														
منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	محتوای نسبی آب	آنزیم پلی فنول اکسیداز	ارتفاع بوته	تعداد غوزه در بوته	شاخص کلروفیل	هدایت روزنه‌ای	اندرصی کلونیزاسیون	وزن خشک بذر	وزن خشک ریشه	وزن خشک کاسبرگ	وزن هزار دانه	حجم ریشه
خشکی (D)	۳	۶۵/۰۳**	۲۹۲۱/۹**	۶/۱۵**	۳۳۳۵/۶۰**	۱۱۲/۹۶**	۵۰۴/۱۵**	۱۱۱/۶۷**	۷۲۹/۰**	۵۷/۸۶**	۲۳/۱۰**	۱۹/۵۲**	۴۸۴/۹۴**	۹۳۹/۲۸**
میکوریزا (M)	۲	۱۴/۹۴**	۲۲۴/۴۲**	۱/۰۷**	۶۸۴/۸۴**	۱۲/۰۵**	۳۸/۲۰**	۳/۰۶**	۱۷۰۴۳/۲**	۹/۲۵**	۷/۰۲**	۰/۷۲**	۷/۹۱**	۳۵/۰۹**
D × M	۶	۲/۶۸**	ns۲/۵۲	۰/۲۶**	۱۰۲/۸۲**	۱/۱۸**	۲۳/۹۸**	۲/۱۰**	۱۵۸/۳*	۱/۳۳**	۰/۳۳**	۰/۰۹۵**	۲۲/۰۸**	۲/۰۲۳**
باکتری (B)	۱	۳۸/۲۲**	۲۰/۴۳**	ns۰/۰۶۱	۱۰۳۵/۱۲**	۱/۳۸*	۲/۰**	۹/۴۶**	۱۱۲۷/۱**	۱/۸۷**	۱/۶۱**	۰/۰۳۱**	۳۹۸/۰۹**	۲/۳۴**
D × B	۳	ns۰/۳۲۵	ns۴/۹۷	۰/۰۷۶**	۲۰/۷۱*	ns۰/۵۰	۱۰/۳۴**	ns۰/۰۷۳	ns۲۱/۰۲	۰/۵۱**	ns۰/۲۵	۰/۱۳**	۶/۸۴**	ns۰/۳۸۴
M × B	۲	۸/۶۲**	۳۹۷/۲**	۰/۳۷**	۱۷۴۹/۱**	۳۷/۷۲**	۱۳۰/۰**	۶/۲۴**	۸۳۸/۰**	۳/۸۳**	۰/۹۵**	۲/۵۴**	۴۶۳/۷۳**	۳۴/۸۴**
D × M ×B	۶	۴/۳۷**	۱۴/۴۶**	ns۰/۰۲۸	۷۲/۵۵**	۰/۶۶*	۴/۶۷**	۱/۶۰**	۱۰۹/۲*	۰/۵۸**	۰/۵۶**	۰/۳۲**	۶/۲۱**	۱/۱۰**
خطا	۴۸	۰/۵۴	۱/۸۳	۰/۰۱۷	۶/۱۱	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۱۱	۳۶/۷۶	۰/۰۴۴	۰/۰۵۰	۰/۰۲۴	۰/۹۵	۰/۲۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۹/۶۸	۱/۸۸	۹/۲۸	۲/۴۱	۶/۰۴	۱/۲۶	۲/۴۵	۲۰/۰۱	۵/۷۷۴	۷/۳۰	۸/۷۵	۳/۸۶	۳/۳۲

آمده در این پژوهش، تیمار تلقیحی با قارچ میکوریزا و باکتری، میزان پرولین را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد که این نتیجه با یافته‌های ظفری و همکاران (۲۰۱۸) و سجاده علیخانی و مهرناز محمودی زرندی (۲۰۱۹) همخوانی دارد. بر اساس این آزمایش با افزایش میزان پرولین، محتوای نسبی آب برگ نیز کاهش نشان داد، افزایش پرولین حاکی از افزایش شدت تنش خشکی و کاهش آب در گیاه است که این امر منجر به کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود.

محتوای نسبی آب برگ: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که تلقیح با قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس و همچنین آبیاری به‌موقع، شرایط را برای گیاه مساعدتر کرد. همچنین اثرات متقابل میکوریزا، باکتری و خشکی بر محتوای نسبی آب برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش تنش خشکی محتوای نسبی آب گیاه کاهش (۴۸/۶۶ درصد) یافت. تلقیح با دو گونه قارچ *Funneliformis mosseae* و *Funneliformis intraradices* و باکتری سودوموناس باعث افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب در گیاه چای-ترش در شرایط تنش خشکی شد (جدول ۳). تلقیح با قارچ *Funneliformis intraradices* در شرایط تنش نسبت به شرایط عدم تلقیح محتوای نسبی آب را در حدود ۳۲ درصد افزایش داد (جدول ۳). میسلیوم‌های قارچ میکوریزا آربوسکولار در خاک نقش مهمی در روابط آبی گیاه میزبان دارد و باعث جذب آب از منافذ بسیار ریز خاک می‌شود (بردین ۲۰۰۱). وو و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که صرف نظر از تیمارهای آبی (تنش آبی و آبیاری کامل) میزان تعرق، میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در گیاهان آمیخته شده با قارچ آربوسکولار

بیشتر از گیاهان بدون قارچ بود. اوگ (۲۰۰۱) بیان کرد که میکوریزا احتمالاً 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 میزبان می‌گردد. برهمکنش گیاه با ریزجانداران خاک شرایط خوبی را برای گیاه در برابر تنش کم‌آبی فراهم می‌سازد (ورما و همکاران ۲۰۱٦). با توجه به نتایج این آزمایش این گونه به‌نظر می‌رسد که تنش خشکی می‌تواند باعث کاهش درصد محتوی نسبی آب شود و همچنین استفاده از باکتری سودوموناس و قارچ‌های میکوریزا بهتر از عدم کاربرد آن می‌تواند در تخفیف و تسکین اثر سوء تنش، نقش داشته باشد.

آنزیم پلی فنول اکسیداز: براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر اصلی تنش خشکی و تلقیح با قارچ میکوریزا بر محتوای آنزیم پلی فنول اکسیداز برگ گیاه دارویی چای‌ترش در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. به‌طوری که کم‌ترین مقدار این آنزیم (۰/٦۷ میکروگرم بر گرم) در شرایط آبیاری کامل و بیشترین مقدار آن (۲/۸۳ میکروگرم بر گرم) در شرایط تنش شدید و تلقیح با قارچ میکوریزا حاصل شد (جدول ۳). گیاهان برای کاستن از اثرات مخرب گونه‌های اکسیژن فعال مکانیسم‌های متفاوتی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی اشاره کرد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز هستند که در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند، همچنین به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات و اولین راه دفاعی در برابر صدمات وارده می‌باشند (پن و همکاران ۲۰۰۵). محققان بیان نمودند که افزایش آنزیم‌های فوق در شرایط تنش خشکی نشان دهنده اثر این آنزیم‌ها در کاهش خسارات تنش اکسیداتیو و نقش مهم آن‌ها در مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌باشد. آنزیم پلی فنول اکسیداز تبدیل مونوفنول‌ها را به دی فنول‌ها و همچنین اکسیداسیون دی فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلیمریزاسیون رنگدانه نقش دارند، کاتالیز می‌کند که از این طریق گیاه می‌تواند از تخریب رنگدانه‌ها در طی تنش جلوگیری نماید. بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم در اثر تنش می‌تواند جهت کاهش تخریب رنگدانه‌ها و سیستم‌های فتوسنتزی در طی تنش باشد. تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش‌های محیطی از جمله تنش کمبود آب توسط محققان گزارش شده است (هیرایاما و همکاران ۲۰۰٦). بنابراین افزایش این آنزیم می‌تواند موجب کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن به سیستم فتوسنتزی گیاه شود. این روند تا زمانی که ارتباط بین گیاه و قارچ و باکتری فراهم است، ادامه دارد. یکی از دلایل احتمالی این پدیده این است که قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری‌ها، جذب آب توسط گیاهان را بهبود می‌بخشند و مقاومت گیاه به خشکی را افزایش می‌دهند. این نتایج با یافته‌های عباسپور (۲۰۱۲) و یاداو و همکاران (۲۰۱۵) که درباره مقاومت نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی به تنش خشکی تحقیق کرده بودند، همخوانی دارد. نشان داده شده است که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد از طریق تولید فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی یا تعدیل کردن فتوسنتز، خسارت گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش داده و می‌توانند گیاه را در برابر حضور این گونه‌های اکسیژن فعال حمایت و از آسیب آن به گیاه جلوگیری نمایند (یانگ و همکاران ۲۰۱۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین برخی صفات مورفو-فیزیولوژیک گیاه چای ترش تلقیح شده با میکوریزا و باکتری تحت تنش خشکی

خشکی	میکوریزا	باکتری	پرولین µmol.g FW^{-1}	محتوای نسبی آب (%)	ارتفاع بوته (cm)	تعداد غوزه در بوته	شاخص کلروفیل	هدایت روزنه‌ای mol. m^{-2}s^{-1}	وزن خشک بذر(g)	وزن خشک ریشه (g)	وزن خشک کاسبرگ g.plant^{-1}	حجم ریشه (litr)
شاهد (بدون قطع آبیاری)	شاهد بدون تلقیح	شاهد بدون تلقیح	۳/۱۰l	۷۷/۷۰f	۹۵/۳۳fg	۹/۰۰e	٤٦/٢٦e	١٤/٦٦e	٣/٦٨fg	٣/١٩f	٢/٣٩e	١٥/٦٦e
		سودوموناس	٥/٩٤ij	٨٧/١٦bc	١٢٣/٠٠b	١٢/٦٦a	٥١/٩٦a	١٧/٨٦a	٥/٦٧bc	٣/٦٦e	٣/٣٨b	١٩/٠٠c
	F. mosseae	شاهد بدون تلقیح	٦/٢٦hi	٨٧/٨٣bc	١٢٤/٠٠b	١٣/٠٠a	٥٠/٦٦b	١٧/٨٣ab	٦/٣٨a	٤/٧٢bc	٣/٦٦a	٢٠/٦٦a
		سودوموناس	٤/٩١jk	٨٩/٣٥ab	١٢٥/٦٦ab	١١/٠٠bc	٤٨/١٢d	١٧/٣٠bc	٦/٥١a	٤/٩٧b	٢/٥٦de	١٩/٦٦bc
	F. intraradices	شاهد بدون تلقیح	٤/٤٤k	٩٠/٦٩a	١٢٩/٣٣a	١١/٦٦b	٤٩/٤٦c	١٦/٩٣cd	٥/٩٧b	٤/٦٤bc	٣/١٤b	٢٠/٦٦a
		سودوموناس	٨/٣٥def	٨٦/١٩c	١٢٩/٠٠a	١٠/٠٠d	٤٤/١٠f	١٦/٦٠d	٥/٠٤d	٥/٤٧a	٢/٨٥c	٢٠/٣٣ab
قطع آبیاری در ۱۰۰ درصد گلدهی	شاهد بدون تلقیح	شاهد بدون تلقیح	٦/١٢hi	٦٨/٤٢g	٨٧/٠٠hi	٧/٠٠g	٤٠/٠٦ij	١٢/٩٦g	٣/٢٢h	٢/٧٩gh	١/٧٥f	١٣/٦٦f
		سودوموناس	٧/٠١ghi	٨٠/٠٧de	١١٠/٣٣c	١٠/٣٣cd	٤٦/٢٣e	١٤/٦٠ef	٤/٤٨e	٣/٦٠e	٢/٤٣e	١٧/٣٣d
	F. mosseae	شاهد بدون تلقیح	٧/١٨fgh	٨٠/٧٤d	١٠١/٦٦de	١١/٠٠bc	٤٨/٠٠d	١٢/٣٣hi	٥/٥٤c	٤/٢٠d	٢/٧٣cd	١٧/٦٦d
		سودوموناس	٦/٩٢ghi	٧٦/٢٧f	١١٣/٠٠c	٩/٠٠e	٤٢/٥٣g	١٣/٢٠g	٥/٤٤c	٣/٦٨e	١/٨٢f	١٦/٣٣e
	F. intraradices	شاهد بدون تلقیح	٤/٧٨jk	٨١/٩٥d	١١٣/٦٦c	١٠/٠٠d	٤٦/٠٣e	١٤/١٠f	٥/٠٣d	٣/٦٣e	٢/٨٨c	١٧/٦٦d
		سودوموناس	٨/٨٥cde	٧٨/٢٠ef	٩٤/٦٦g	٨/٦٦ef	٤٢/٤٠g	١٣/٢٠g	٣/٩٩f	٤/٤٠cd	٢/٠٠٢f	١٥/٦٦e
قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی	شاهد بدون تلقیح	شاهد بدون تلقیح	٧/٢٢fgh	٥٧/٢٧l	٨٠/٦٦j	٥/٣٣i	٣٥/٣٣l	١١/٤٠jkl	٢/٧٠i	١/٣٧nm	٠/٧٧jk	٩/٠٠i
		سودوموناس	٧/٥٠fg	٦٤/٧٣hi	١٠٢/٣٣de	٨/٠٠f	٣٩/٩٠ij	١١/٩٣ij	٢/٩٢hi	٢/٥٣hi	١/٢١g	١٢/٠٠g
	F. mosseae	شاهد بدون تلقیح	٨/١٠d.g	٦٦/٧٣gh	٩٧/٠٠fg	٨/٠٠f	٤٠/٥٦hi	١١/٦٣jk	٣/٥٧g	٢/٤٨hij	١/٠٣gh	١٣/٠٠f
		سودوموناس	٩/٠٦cd	٦٦/٤٧ghi	١٠٤/٣٣d	٧/٠٠g	٣٩/٢٦j	١٢/٨٠gh	٣/٧٤fg	٢/٧٤gh	١/١٠gh	١٣/٠٠f
	F. intraradices	شاهد بدون تلقیح	٧/٣٠fgh	٦٧/٥٦g	٩٩/٣٣ef	٧/٠٠g	٤٢/٠٠g	١٢/٣٠hi	٢/١٥j	٢/٩٥fg	١/٨٣f	١٣/٣٣f
		سودوموناس	٩/٦٩bc	٦٤/٣٤ij	٨٩/٣٣h	٦/٦٦g	٤٠/٩٦h	١٢/٨٠gh	٢/٠٠٦jk	٢/٦٣ghi	١/١٦g	١٢/٠٠g
قطع آبیاری در شروع گلدهی	شاهد بدون تلقیح	شاهد بدون تلقیح	٧/٨٤efg	٤٨/٦٦m	٧٥/٣٣k	٢/٦٦j	٢٩/٧٦m	٩/٣٣m	٠/٥١٩n	١/٢٣n	٠/٣٠٢l	٨/٣٣i
		سودوموناس	٨/٨٤cde	٦١/٥٠k	٩٧/٣٣fg	٥/٦٦hi	٣٦/١٦kl	١١/٣٠kl	١/٧٧kl	١/٨٢kl	٠/٦١٤k	١٠/٦٦h
	F. mosseae	شاهد بدون تلقیح	١٠/٣٨b	٦٢/١٦jk	٨٥/٠٠i	٦/٦٦g	٣٦/٣٦k	١١/٠٣l	١/٤٣١m	٢/١٥jk	٠/٩١١hij	١٠/٣٣h
		سودوموناس	١٢/٥٥a	٥٦/٠l	١٠٢/٣٣de	٦/٣٣gh	٣٦/١٠kl	١١/٤٣jkl	١/٩٨jk	٢٣١ij	٠/٧١٤jk	١٠/٦٦h
	F. intraradices	شاهد بدون تلقیح	٩/٦٩bc	٦٤/٣٧ij	٩٥/٣٣fg	٦/٣٣gh	٣٩/٣٣j	١١/٨٦ij	١/٥٠lm	٢/٦١ghi	٠/٨٧١hij	١٣/٠٠f
		سودوموناس	١٠/٣٨b	٥٦/٥٨l	٨٣/٣٣ij	٥/٦٦hi	٤٠/١٠hij	١١/٩٠ij	٢/٠٠٤jk	١/٧٤lm	٠/٧٩٩jkl	١٠/٦٦h
LSD=0.05%			١/٢١٠	٢/٢٢٣	٤/٠٥٨	٠/٨٢٠	٠/٨٧٣	٠/٥٤٧	٠/٣٤٤	٠/٣٧٨	٠/٢٥٧	٠/٧٩٧

شاخص کلروفیل: اثرات اصلی و متقابل تنش خشکی، قارچ میکوریزا و باکتری محرک رشد سودوموناس بر شاخص کلروفیل برگ معنی‌دار ($p\leq0.01$) بود (جدول ۲). با افزایش تنش خشکی میزان کلروفیل در برگ گیاه چای ترش کاهش یافت (جدول ۳). تلقیح با قارچ میکوریزا، باکتری محرک رشد سودوموناس و همچنین آبیاری مطلوب باعث افزایش محتوای کلروفیل برگ شد. به‌طوری که بیشترین مقدار کلروفیل در شرایط تنش خشکی در تیمار تلقیح با قارچ *Funneliformis intraradices* بود که نسبت به شرایط عدم تلقیح حدود ۳۵ درصد افزایش یافت. خشک شدن بافت‌های برگ نه تنها مانع ساخته شدن کلروفیل می‌شود بلکه به‌نظر می‌رسد که باعث تخریب کلروفیل نیز می‌شود. خشکی باعث شکسته شدن کلروپلاست و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد (حیدری شریف‌آبادی ۲۰۰۰). تنش خشکی با ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید اکسیژن‌های فعال سبب تجزیه و تخریب کلروفیل می‌شود.

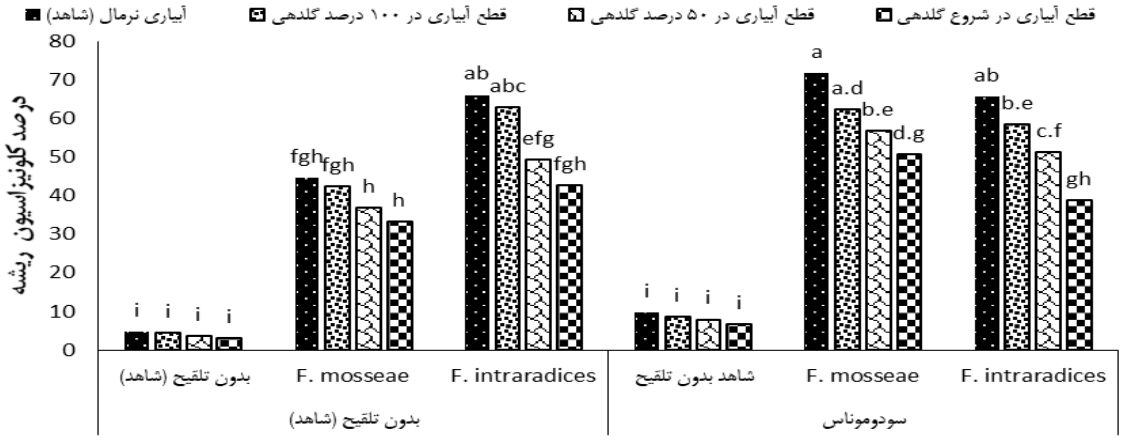
در طی تنش کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوئیدی ناپدید می‌گردند. از طرفی دیگر تنش خشکی باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی کاهش دهنده فعالیت اکسیژن فعال و افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد (روئیز سانچز و همکاران ۲۰۱۱). کاهش میزان کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی که در این تحقیق مشاهده گردید توسط محققین متعددی گزارش شده است

(میرانصاری ۲۰۱۰ و بیرهان و همکاران ۲۰۱۲). کاهش محتوی کلروفیل تحت شرایط تنش کم‌آبی همچنین توسط میسرا و اسریواستاوا (۲۰۰۰) در نعناع ژاپنی نیز گزارش شده است. قارچ‌های میکوریزا می‌توانند موجب افزایش در هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز و در نهایت افزایش در غلظت کلروفیل‌ها در گیاهان پس از تنش آبی گردند (سلواج و کلاپان ۲۰۰۶). حیدری و گلپایگانی (۲۰۱۱) عنوان کردند که تلقیح بذر گیاه دارویی ریحان با باکتری سودوموناس باعث افزایش میزان کلروفیل برگ می‌شود. باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزا پتانسیل خوبی جهت تعدیل و تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه در برابر تنش خشکی داشته و به همین دلیل سبب افزایش بقای گیاه تحت شرایط سخت و متنوع محیطی می‌شوند (ماراسکو و همکاران ۲۰۱۲).

هدایت روزنه‌ای: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثرات اصلی و متقابل تنش کمبود آب بر هدایت روزنه‌ای در سطح احتمال یک درصد ($p\leq0.01$) معنی‌دار بود. کمترین میزان هدایت روزنه‌ای در شرایط تنش شدید (۹/۳۳ mol/m^2s) و بیشترین هدایت روزنه‌ای در شرایط آبیاری کامل (۱۷/۸۶ $mol/m^2 s$) به‌دست آمد (جدول ۳). محدودیت محتوای آب در خاک موجب واکنش‌هایی در گیاهان نظیر بسته شدن روزنه‌ها می‌شود که منجر به کاهش شدید جذب CO_2 و به دنبال آن کاهش در تولید مواد فتوسنتزی (ایفیو گلو و همکاران ۲۰۰۹) و محدودیت تثبیت CO_2 در گیاهان می‌شود. گیاه در واکنش به تنش خشکی از طریق بستن سریع روزنه‌ها (کاهش تعرق) از تلفات بیشتر آب جلوگیری می‌کند (لاولور ۱۹۹۵). کاهش میزان هدایت روزنه‌ای در اثر تنش خشکی را می‌توان ناشی از تأثیر مستقیم و یا غیرمستقیم کمبود آب روی وضعیت سلول‌های محافظ روزنه دانست (سیروس ۲۰۰٤). تنش خشکی موجب کاهش بسته شدن روزنه‌ها، پتانسیل کل آب، مقدار آب، آماس، کاهش در بزرگ شدن سلول‌ها و رشد رویشی می‌گردد. کمیت و کیفیت رشد رویشی گیاه بستگی به تقسیم سلولی، بزرگ شدن سلول‌ها و تمایز دارد و کلیه این حوادث متأثر از تنش خشکی می‌باشند (کوساکا و همکاران ۲۰۰۵). اثرات اصلی و متقابل قارچ میکوریزا و باکتری محرک رشد سودوموناس نیز بر صفات فوق در شرایط تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد ($p\leq0.01$) معنی‌دار به‌دست آمد (جدول ۲). بیشترین مقدار هدایت روزنه‌ای در تیمار تلقیح شده با قارچ *Funneliformis intraradices* حاصل شد که نسبت به گیاهان تلقیح نشده در شرایط تنش خشکی حدود ۲۷/۵ درصد افزایش نشان داد. به‌طوری که یکی از تأثیرهای همزیستی میکوریزایی، تغییر در هدایت روزنه‌ای و تعرق است، همچنان که گزارش شده است در شرایط تنش خشکی، هدایت روزنه‌ای و تعرق در گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی بیشتر است (اگ ۲۰۰۱). همچنین مشاهده شده که قارچ میکوریزا آربوسکولار هدایت روزنه‌ای را در شرایط تنش افزایش داده است (بناندلا و همکاران ۲۰۱۱). پیش تیمار بذر با باکتری موجب گسترش ریشه و دسترسی بهتر به منابع آبی شده و از این طریق موجب کاهش آبسیزیک اسید و افزایش هدایت روزنه‌ای شده است. کاهش هدایت روزنه‌ای، بیان کننده تغییر در موقعیت اسمزی ریشه است که به سرعت روابط آبی را در اندام‌های هوایی تحت تأثیر قرار می‌دهد (رودریگز و همکاران ۲۰۰۵). در بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار و باکتری محرک رشد سودوموناس مشخص شده که میکوریزا و باکتری سبب افزایش تحمل گیاه میزبان در برابر تنش خشکی و اثرهای منفی آن می‌شود. سازوکارهای دفاعی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در برابر صدمات ناشی از استرس خشکی با همزیستی میکوریزایی و باکتریایی افزایش می‌یابد (سیلوا و همکاران ۲۰۱۵). می‌توان گفت تیمارهای تلقیحی با قارچ و باکتری با افزایش جذب عناصر و افزایش سطح برگ باعث افزایش هدایت روزنه‌ای می‌شود.

درصد کلونیزاسیون: تجزیه واریانس داده‌های نشان داد که اثر تنش خشکی، میکوریزا و باکتری محرک رشد

و همچنین اثرات متقابل تنش خشکی در میکوریزا، میکوریزا در باکتری محرک رشد و اثر متقابل سه‌گانه تنش خشکی در میکوریزا در باکتری بر درصد کلونیزاسیون ریشه معنی‌دار بودند (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین اثر سه‌گانه، بیشترین درصد کلونیزاسیون در تیمار بدون تنش خشکی تحت شرایط کاربرد باکتری سودوموناس به‌همراه قارچ *F. mosseae* با میانگین ۷۱/۶۳ درصد مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد ۹۳/٤ درصد افزایش داشت. کمترین میانگین این صفت نیز در تیمارهای بدون تلقیح با قارچ تحت شرایط با و بدون باکتری سودوموناس در هر چهار تیمار آبیاری به‌دست آمد (شکل ۱). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد تحت شرایط استفاده از قارچ و باکتری میزان کلونیزاسیون ریشه نیز افزایش داشت. در همین راستا، پژوهشگران بیان داشتند که گونه‌های بومی میکوریزا، کلونیزاسیون ریشه را در گیاهان دارویی ماریتیغال و اسطوخودوس افزایش دادند (حمزه‌ئی و سلیمی ۲۰۱٤). گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) در تلقیح گیاه نعناع با قارچ میکوریزا گزارش کردند که درصد همزیستی ریشه در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، افزایش داشت که یافته‌های پژوهش حاضر را نیز تائید می‌نماید. کارتیکیان و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که تولید ماده خشک کل، کلروفیل و پروتئین کل در گیاهان میکوریزایی در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش نشان داد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی × میکوریزا × باکتری محرک رشد بر میزان کلونیزاسیون ریشه

خصوصیات رویشی: اثر تنش کمبود آب بر ارتفاع گیاه، تعداد غوزه در هر بوته، وزن خشک و حجم ریشه، وزن هزار دانه، وزن بذر خشک و عملکرد کاسبرگ در سطح احتمال یک درصد ($p\leq0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر قارچ میکوریزا و باکتری محرک رشد سودوموناس نیز بر صفات فوق در سطح احتمال یک درصد ($p \leq0.01$) معنی‌دار شد. با توجه به مقایسه میانگین تأثیر تیمارها (جدول ۳)، ملاحظه می‌گردد با افزایش شدت تنش خشکی تمام صفات رویشی از قبیل ارتفاع بوته، تعداد غوزه در بوته، وزن خشک کاسبرگ، حجم و وزن خشک ریشه، وزن هزار دانه و وزن خشک بذر در گیاه چای‌ترش کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین مقادیر برای تمامی این صفات در تیمار آبیاری کامل حاصل شد و کمترین مقادیر نیز در شرایط تنش آبی شدید (اعمال تنش در شروع گلدهی) به‌دست آمد. اثر رایج تنش خشکی روی گیاهان، کاهش در وزن خشک و تر گیاهان است (آنجام ۲۰۱۱). تأثیر تنش خشکی بر کاهش ماده خشک گیاهان را می‌توان این گونه بیان داشت که به طور کلی، کمبود آب در هر مرحله از رشد گیاه جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی را کاهش می‌دهد که پیامد آن کم شدن ذخیره کربن و کاهش ماده خشک می-باشد (هو و اسچمیدهالتر ۲۰۰۵). تنش طولانی مدت

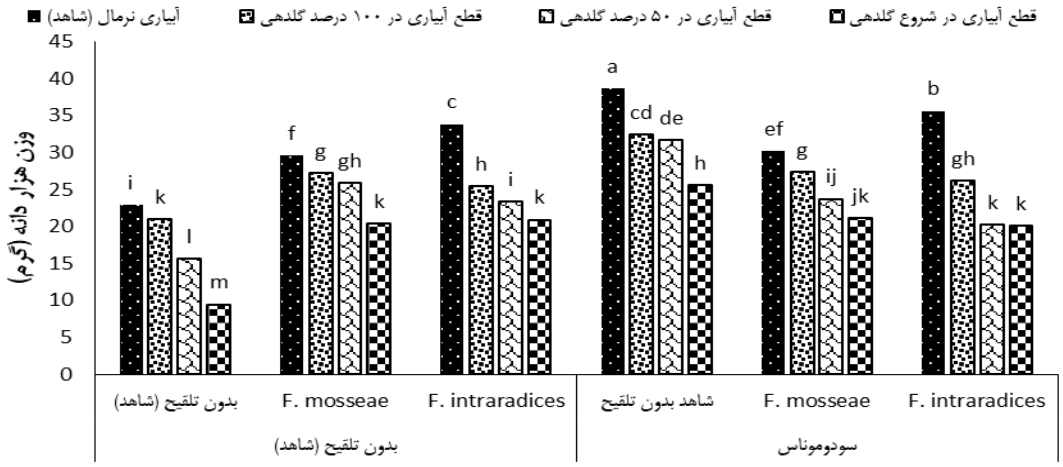
کم‌آبی سبب کاهش رشد سیستم ریشه‌ای و وزن خشک آن‌ها می‌شود که علت آن محرک‌های شیمیایی است که سبب کاهش هدایت سیستم ریشه‌ای می‌شود و در نتیجه شیره گیاهی کمتری از ریشه عبور می‌کند. افزایش مقاومت مکانیکی خاک بر اثر تنش کمبود آب نیز سبب کاهش رشد ریشه می‌شود (پیمانه و زارعی ۲۰۱۳).

کاهش عملکرد در طی افزایش سطح تنش خشکی بر اساس نظر سروالی و همکاران (۲۰۰۱) می‌تواند مربوط به افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش‌های هوایی گیاه باشد. بابایی و همکاران (۲۰۱۰) اذعان داشتند که تنش خشکی ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن خشک اندام رویشی آویشن را کاهش می‌دهد. کاهش در ارتفاع را به‌موازات تنش خشکی می‌توان به اختلال در فتوسنتز به‌واسطه تنش خشکی و کاهش تولید مواد فتوسنتزی جهت ارائه به بخش‌های در حال رشد گیاه و در نهایت عدم دستیابی گیاه به پتانسیل ژنتیکی از نظر ارتفاع دانست. تلقیح با قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری محرک رشد سودوموناس در افزایش شاخص‌های رویشی گیاه در شرایط تنش خشکی مؤثر بود به‌طوری که بیشترین مقادیر ارتفاع بوته، تعداد غوزه در بوته، عملکرد کاسبرگ، حجم و وزن خشک ریشه، وزن هزار دانه و وزن خشک بذر در تلقیح گیاه چای‌ترش با قارچ‌های میکوریزا و باکتری محرک رشد سودوموناس به‌دست آمد و کم‌ترین مقدار این صفات در تیمار شاهد (بدون قارچ و باکتری) حاصل شد (جدول ۳). پژوهشگران اذغان داشتند که بخشی از افزایش رشد گیاه در شرایط استفاده از کودهای زیستی را می‌توان به رابطه مثبتی که بین باکتری‌های محرک رشد و میکوریزا وجود دارد نسبت داد. بدین صورت که باکتری‌های محرک رشد با تولید ترکیباتی موجب می‌شوند که ترشحات ریشه گیاهان افزایش یافته و باعث تحریک و رشد هیف‌های قارچ و نفوذ بهتر آن‌ها در ریشه گیاهان می‌شوند (خیری‌زاده آروق و سیدشریفی ۲۰۱۹). از طرف دیگر قارچ‌های میکوریزا با افزایش فعالیت باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش رشد گیاهان تحت شرایط تنش می‌شوند (جفریز و همکاران ۲۰۰۳). الکراکی و کلارک (۱۹۹۹) گزارش کردند که قسمت عمده کاهش وزن ناشی از تنش رطوبتی از طریق برقراری همزیستی میکوریزایی قابل جبران است. قارچ میکوریزا افزایش جذب عناصر غذایی را از راه افزایش انشعابات ریشه گیاه و ریسه قارچ در یک محدوده معین از خاک ممکن می‌سازد و از این طریق موجب تغییراتی در روابط آبی گیاه و بهبود مقاومت به کم‌آبی و یا تحمل در گیاه میزبان می‌شود (شاه‌حسینی و همکاران ۲۰۱۲). نتایج تحقیقات در گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی نشان داده است که هدایت هیدرولیکی سیستم ریشه‌های گیاهان میکوریزی بیش‌تر از گیاهان غیر میکوریزایی است، که این امر در افزایش سطح ریشه و یا طول ریشه‌های میکوریزایی می‌باشد (ساجدی و رجالی ۲۰۱۱). مطالعات نشان داده است که قارچ میکوریزا موجب جذب بیشتر آب در شرایط تنش خشکی می‌گردد، که دلیل این موضوع تغییر ساختار و رشد بهتر ریشه بیان شد (خلوتی و همکاران ۲۰۰۵). جوشی و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه دارویی بشقابی (*Scutellaria integrifolia* L.) گزارش نمودند که تلقیح ریشه این گیاه با میکوریزا در افزایش رشد و تکثیر گیاه خصوصاً رشد ریشه مؤثر بوده است. سایلو و باگیاراج (۲۰۰۵) در بررسی اثر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا آربوسکولار بر رشد گیاه دارویی صبر زرد گزارش نمودند که ارتفاع بوته، تعداد شاخه، زیست توده گیاه در گیاهان تحت تیمار قارچ میکوریزا نسبت به شاهد افزایش یافت. ویسی و باس (۲۰۰۲) و بانرجی و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که تأثیر مواد تنظیم کننده رشد تولید شده به‌وسیله باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد ریشه از طریق پارامترهایی بروز می‌کند که مهم‌ترین آن‌ها افزایش وزن و انشعابات ریشه و افزایش تارهای مویین ریشه می‌باشد، که از میان آن‌ها افزایش وزن ریشه

عمومی‌تر می‌باشد. مطالعات نشان داد که تغییرات فیتوهورمونی به دلیل استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد سبب افزایش طول ریشه، سطح ریشه (شارونا و همکاران ۲۰۰۸) و وزن خشک ریشه (شارونا و همکاران ۲۰۰٦) شد. یافته‌های رکونا و همکاران (۱۹۹۷) اختصاصی بودن برهم کنش گیاه، قارچ میکوریزا آربسکولار و باکتری‌های رشد ریزوسفری محرک را گزارش کردند. در این آزمایش نیز، تلقیح با قارچ‌های میکوریزا و باکتری محرک رشد توانست میزان حجم ریشه را در شرایط تنش شدید افزایش دهد. تحقیقات برتا و هوکر (۲۰۰۲) نشان داد که تلقیح با قارچ میکوریزا سبب افزایش حجم و زیست توده ریشه می‌شود و این توسعه با افزایش هورمون‌های رشد (کارتیکیان و همکاران ۲۰۰۷ و صفاپور و همکاران ۲۰۱۲) مرتبط است.

در بسیاری از موارد برهم‌کنش قارچ‌های میکوریزا آربسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه اثر هم‌افزایی نشان داده‌اند (جاستر و همکاران ۱۹۹۸). وساتکا و گریندر (۲۰۰۰) اثر هم‌افزایی بر رشد و بهبود وضعیت جذب مواد غذایی ناشی از تلقیح دو گونه قارچ میکوریزا آربسکولار و باکتری‌های مناسب در سیب‌زمینی، فلوریسا و همکاران (۲۰۱۰) اثر هم‌افزایی در اثر کاربرد توأم میکوریزا آربوسکولار و باکتری خاک‌زی تحریک کننده در کشت گل همیشه‌بهار و کوهلر و همکاران (۲۰۰٦) اثر هم‌افزایی میکوریزا آربوسکولار *Funneliformis intraradices* و باکتری *Bacillus subtilis* بر روی گیاه کاهو را گزارش کردند. سانچز گوین و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایش بررسی اثر کودهای زیستی روی دو گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) و همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) دریافتند که کاربرد این کودها در همیشه‌بهار باعث افزایش عملکرد گل و بهبود کیفیت دارویی شد در حالی که در بابونه فقط افزایش عملکرد گل را به‌همراه داشت اما بر کیفیت آن اثری نداشت. شالان (۲۰۰۵) نتیجه گرفت که افزایش حاصل‌خیزی خاک به‌وسیله کودهای بیولوژیک نظیر ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و سودوموناس باعث افزایش و بهبود خصوصیات رشدی گیاه دارویی سیاهدانه مانند تعداد کپسول در بوته، تعداد دانه در کپسول و عملکرد دانه شده است. در پژوهش حاضر، کاربرد باکتری محرک رشد سودوموناس تحت شرایط آبیاری نرمال بیشترین وزن هزار دانه را داشت (شکل ۲). وزن هزار دانه تابع توانایی گیاه در تأمین مواد پرورده برای مخزن‌ها و شرایط محیطی در زمان پر شدن دانه می‌باشد. هر چه تعداد مخازن کمتر باشد، سهم هر مخزن از مواد پرورده افزایش یافته و در نتیجه دانه درشت‌تر و وزن هزار دانه افزایش می‌یابد (رضایی‌چیانه و همکاران ۲۰۱٤). خرم‌دل و همکاران(۲۰۱۰) با بررسی اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاهدانه اظهار داشتند بیشترین وزن هزار دانه در تیمار ترکیبی آزوسپیریلیوم و میکوریزا به‌دست آمد، ولی بین سایر تیمارها از نظر آماری تفاوتی مشاهده نشد. نتایج این آزمایش با نتایج سیدمحمدی و همکاران (۲۰۱۹) روی گیاه استویا همخوانی دارد. بانرجی و همکاران (۲۰۰٦) بیان داشتند که باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش سطح ریشه گیاه می‌شود و افزایش سطح ریشه به‌دلیل دسترسی بیشتر به آب و عناصر غذایی منجر به افزایش رشد گیاه می‌گردد. این پژوهشگران اظهار داشتند که افزایش میزان جذب موجب بالا رفتن نقل و انتقال مواد به دانه شده و در نهایت می‌تواند وزن تک بذر، سرعت پر شدن دانه را افزایش دهد. به‌نظر می‌رسد با کاربرد باکتری، میزان جذب و تحلیل افزایش یافته و موجب بالا رفتن نقل و انتقال مواد به دانه شده و پر شدن دانه افزایش می‌یابد. دوره پرشدن دانه مرحله اصلی تشکیل عملکرد دانه است و طولانی‌تر بودن این دوره امکان انتقال مواد فتوسنتزی بیشتر از مبدأ به مقصد و در نتیجه افزایش عملکرد دانه را فراهم می‌سازد (حق‌بهاری و سیدشریفی ۲۰۱۳) در بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار و باکتری محرک رشد سودوموناس

مشخص شد که میکوریزا و باکتری سبب افزایش بردباری گیاه میزبان در برابر تنش خشکی و کاهش اثر-های منفی آن شده و سازوکارهای دفاعی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در برابر صدمات ناشی از استرس خشکی افزایش می‌یابد (سیلوا و همکاران ۲۰۱۵).



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × میکوریزا × باکتری محرک رشد بر وزن هزار دانه گیاه چای‌ترش

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، با افزایش شدت تنش خشکی از سطح مطلوب آبیاری تا تنش شدید خشکی، رشد رویشی کاهش یافت. این کاهش در ارتفاع بوته، تعداد غوزه و وزن خشک بذر به-ترتیب ۳۷/۷، ۷۰/٤ و ۸۵/۸ درصد محاسبه شد. در این آزمایش استفاده از هر دو گونه قارچ (*Funneliformis mosseae* و*Funneliformis intraradices*) و باکتری محرک رشد (*Pseudomonas* sp. p-169) نسبت به شاهد (بدون میکوریزا و باکتری) در شرایط تنش خشکی مثبت ارزیابی شد. گونه‌های قارچ نسبت به باکتری در افزایش صفات مورفو-فیزیولوژیک بهتر عمل کرده و باعث بهبود بیشتر شرایط تنش خشکی شدند. میزان پرولین و شاخص کلروفیل تحت شرایط تنش شدید خشکی به-ترتیب افزایش ۵۹/۸ درصدی و کاهش ۳۵/٦ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد داشتند. ولی، کاربرد همزمان باکتری سودوموناس و میکوریزا افزایش ۷٤/۹ درصدی محتوی پرولین تحت شرایط تنش شدید خشکی را نشان داد. درصد کلونیزاسیون ریشه با قارچ‌های میکوریزا با افزایش شدت تنش، کاهش ولی تحت شرایط استفاده از باکتری محرک رشد، هم‌افزایی نشان داد. استنباط می-شود قارچ‌های میکوریزا و باکتری محرک رشد سودوموناس با گسترش طول ریشه و افزایش سطح جذب ریشه، موجبات جذب آب و عناصر غذایی بیش‌تر برای گیاه را در شرایط تنش خشکی فراهم آورده است. با توجه به نتایج محققان دیگر به‌نظر می‌رسد که قارچ در فراهمی و متابولیسم عناصر مورد نیاز گیاه تأثیر مهمی داشته و باعث شد تا میزان این عناصر در گیاهان تلقیح شده افزایش یابد. این امر خصوصاً در شرایط تنش برای گیاهان دارای اهمیت زیادی است. براساس نتایج به دست آمده از این آزمایش می‌توان بیان کرد که هر چند با کاهش میزان آب مصرفی و به‌تبع آن بروز تنش خشکی از عملکرد ماده خشک در گیاه کاسته می‌شود، اما با به‌کارگیری کود زیستی به‌ویژه در سطوح بالای تنش خشکی می‌توان تا حدی از بروز اثرات سوء تنش بر عملکرد تولیدی این گیاه کاست که این مسأله را می‌توان به تأثیر مثبت کودهای زیستی در بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاهان در شرایط تنش در نظر گرفت.

منابع مورد استفاده

Abbaspour H, Saeidi-Sar S, Afshari H and Abdel-Wahhab MA. 2012. Tolerance of Mycorrhiza infected Pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. Journal of Plant Physiology, 169(7): 704-709.

Abraham CP, Viswagith V, Prabha S, Sundhar K and Malliga P. 2007. Effect of coir pith based cyanobacterial basal and foliar biofertilizer on *Baseella rubra* L. Acta Agriculturae Slovenica, 89(1):59-63.

Adesemoye A, Torbert H and Kloepper J. 2009. Plant growth- promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. Microbial Ecology, 58: 921-929.

Ahmad YM, Shahlaby EA and Shnan NT. 2011. The use of organic and inorganic cultures in improving vegetative growth, yield characters and antioxidant activity of Roselle plants (*Hibiscus sabdarifa*). African Journal of Biotechnology, 10: 1988-1996.

Alikhani S and Mahmoudi Zarandi M. 2019. Effect of coinoculation with endomycorrhiza, Pseudomonas aeroginosa and Rhizobium meliloti on *Medicago sativa* L. under water stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 32(1): 75-85.

Al-Karaki GN and Clark RB. 1999. Mycorrhizal influence on proteinand lipid of durum wheat grown at different soil phosphorous level. Mycorrhiza, 9: 97-101.

Anjum ShA, Xie XY, Wang ChL, Saleem MF, Man Ch and Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research, 6: 2026-2032.

Aroca R. 2012. Plant responses to drought stress from morphological to molecular features, Springer Heidelberg, New York Dordrecht, London.

Auge RM, Stodola AJW, Tims JE and Saxton AM. 2001. Moisture retention properties of amycorrhizal soil. Plant and Soil, 230: 87-97.

Auge RM, Toler HD and Saxton AM. 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.

Babaee K, Amini Dehaghi M, Modares Sanavi SAM and Jabbari R, 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251. (In Persian).

Banerjee M, Yesmin RL and Vessey JL, 2006. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. In: Handbook of microbial biofertilizers. Eds., Rai, M., K., Food Production Press, U.S.A, Pp: 137-181.

Bearden BN. 2001. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and soil water characteristics of vertisols. Plant and Soil, 229: 245-258.

Benabdellah K, Abbas Y, Abourouh M, Aroca R and Azcon R. 2011. Influence of two bacterial isolates from degraded and non-degraded soils and arbuscular mycorrhizae fungi isolated from semi-arid zone on the growth of *Trifolium repens* under drought conditions: Mechanisms related to bacterial effectiveness. European Journal of Soil Biology, 47: 303-309.

Berta G, Fusconi A and Hooker J. 2002. Arbuscular mycorrhizal modifications to plant root systems: scale, mechanisms and consequences. In Gianinazzi, S., H. Schüepp, J. M. Barea and K. Haselwandter (Eds.). Mycorrhiza Technology in Agriculture, from Genes to Bioproducts. Basel, Switzerland: Verlag, Pp. 71-85.

Birhane E, Sterck FJ, Fetene M, Bongers F and Kuyper TW. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. Oecologia, 169: 895- 904.

Bisht R, Chaturvedi S, Srivastava R, Sharma AK and Johri BN. 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, Pseudomonas fluorescens and Rhizobium leguminosarum on the growth and nutrient status of Dalbergia sissoo Rox. Tropical Ecology, 50: 231-242.

Deepika S, and Kothamasi D. 2015. Soil moisture-a regulator of arbuscular mycorrhizal fungal community assembly and symbiotic phosphorus uptake. Mycorrhiza, 25(1):67-75.

Efeoglu B, Ekmekci Y and Cicek, N. 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. South African Journal of Botany, 75: 34-42.

Elwan LM. 2001. Effect of soil water regimes and inoculation with mycorrhizae on growth and nutrients content of *maize* plants. Zagazig Journal of Agricultural Research, 28:163-172.

Esitken A, Yildiz HE, Ercisli S, Figen Donmez M, Turan M and Gunes A, 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient content contents of organically grown strawberry. Sciential Horticultural, 124:62-66.

Esmaeilpour B, Jalilvand P and Hadian J. 2013. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (*Satureja hortensis* L.). Agroecology Journal, (5)2: 169-177. (In Persian).

Farooq M, Basra SMA, Wahid A, Ahmad N, Saleem BA. 2009. Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid. Journal of Agronomy and Crop Science, 195:237–246.

Gupta ML, Prasad A, Ram M and Kumar S. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasiculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology, 81(1): 77-79.

Hagbahari M, Seyed Sharifi R. 2013. Influence of seed bacterial inoculation (PGPR) growth on yield, rate and grain filling of wheat under different soil salinity condition. Journal of Environmental Stress in crop Sciences, 6 (1): 65-75. (In Persian).

Hamzei J and Salimi F. 2014. Root colonization, yield and yield components of milk thistle (*Silybum marianum*) affected by mycorhizal fungi and phosphorus fertilizer. Journal of Acricultural Science and Sustainable Prosution. 24(4):85-96. (In Persian).

Heidari M and Golpayegani A. 2011. 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, 23: 1-5.

Heidari M, Bakhshandeh AM, Nadeyan H, Fathi G and Alami S. 2006. The effect of different levels salinity and nitrogen on seed yield, uptake and osmotic regulation of Na and K wheat (*Triticum aestivum*) *c.v* Chamran. Journal of Horticultural Science, 37(3): 501-510. (In Persian).

Heidari Sharifabad H. 2000. Plants, aridity and drought research. Institute of forest and rangeland press, 200 pp. (In Persian).

Hirayama M, Wada Y and Nemoto H. 2006. Estimation of drough tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. Breed Science, 56: 47-54.

Hu Y and Schmidhalter U. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. Plant Nutrition, 168: 541-549.

Irigoyen JJ, Emerich DW, Sanchez-diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentration of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84: 55-60.

Jastrow JD, Miller RM and Lussenhop J. 1998. Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. Soil Biology and Biochemistry, 30:905- 916.

Jeffries P, Gianinazi S, Perotto S, Turnau K and Barea JM. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils, 37: 1-16.

Joshee N, Mentreddy SR and Yadav K. 2007. Mycorrhizal fungi and growth and development of micropropagated *Scutellaria integrifolia* plants. Industrial Crops and Products, 25: 169-177.

Karo M and Mishra D.1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315-319.

Karthikeyan B, Jaleel CA, Gopi R and Delveekasundarm M. 2007. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activitvities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs. Journal of Zhejiang University Science, 8(7): 453-457.

Karthikeyan B, Joe MM and Jaleel CA. 2009. Response of some medicinal plants to vesicular arbuscular mycorrhizal inoculations. Journal of Science Research, 1(2): 381-386.

Khalil SE and Abdel-Kader AAS. 2011. The influence of soil moisture stress on growth, water relation and fruit quality of *Hibisicus sabdariffa* L. grown within different soil types. Nature and Science, 9(4):62-74.

Kherizadeh Arough Y and Seyed Shahrifi R. 2019. Effects of endo-mycorrhiza, plant growth promoting rhizobacteria and foliar applicationwith nano zinc oxide on effective traits at grain filling of Triticale under soilsalinitycondition. Journal of Palnt Process and Function, 23(7): 69-84. (In Persian).

Khalvati MA, Mzafar A and Schmidhalter U. 2005. Quantification of water uptake by arbuscularmycorrhizal hypha and its signification for leaf growth, water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. Plant Biology Stuttgart, 7(6): 706-712.

Khorramdel S, Koocheki AR, Nasiri Mahallati M and Ghorbani R. 2010. Effects of biofertilizers on yield and yield components of black cumin (*Nigella sativa*). Iranian Journal of Field Crops Research, 8(5): 768-776. (In Persian).

Kohler J, Caravaca F, Carrasco L and Roldan A. 2006. Contribution of Pseudomonas mendocina and Glomus intraradices to aggregate stabilization and promotion of biological fertility in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. Soil Use and Management, 22: 298-300.

Kusaka M, Lalusin AG and Fujimura T, 2005. The maintenance of growth and turgor in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L. Leeke) cultivars with different root structures and osmo-regulation under drought stress. Plant Science, 168: 1-14.

Lawlor DW. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. pp. 129-160. In: in: N. Smirnoff, N. (ed.), Environment and Plant Metabolism. Bios Scientific Publishers. Oxford, UK.

Li D, Li C, Sun H, Wang W, Liu L and Zhang Y. 2010. Effect of drought on soluble protein content and projective enzyme system in cotton leaves. Frontiers of Agriculture in China, 4: 56-62.

Marasco R, Rolli E, Ettoumi B, Vigani G, Mapelli F, Borin S and Zocchi G, 2012. A drought resistancepromoting microbiome is selected by root system under desert farming. Public library of Science, 7(10): e 48479.

Miransari M. 2010. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. Plant Biology (Stuttg), 12: 563-569.

Misra A and Srivastava NK. 2000. Influence of water stress on Japanese mint. Journal of Herbs, Spices Medicinal Plants, 7: 51-58.

Müller I and Höfner W. 1991. Influence of the VA-mycorrhiza on p uptake and recovery potential of corn (*Zea mays* L.) under water stress conditions. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd, 154:321–323.

Nabizadeh M, Kafi M and Rashed M. 2003. Effects of salinity on growth, yield, elemental concentration and essential oil percent of cumin (*Cuminum cyminum*). Iranian Journal of Field Crop Research, 1(1): 53-60. (In Persian).

Pan J, Wang Q and Snell WJ. 2005. Ciliumgenerated signaling and ciliarelated disorders. Laboratory Investigation, 85:452–463.

Peymaneh Z and Zarei M. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of basic nutrients of *Citrus aurantium* under drought stress conditions. Journal of Soil Biology, 1(1):13-23. (In Persian).

Phillips JM and Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55(1): 157-160.

Pirzad A, Shakiba, MR and ZehtabSalmasi S. 2011. Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla*. Journal of Medicinal Plant Research, 51: 2483-2488.

Porcel R and Ruiz-Lozano JM. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. Journal of Experimental Botany, 55:1743–1750.

Requena N, Jimenez I, Toro M and Barea JM. 1997. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in Mediterranean semi-arid ecosystems. New Phytologist, 136: 667-677.

Rezaei- Chiyaneh I, Tajbakhsh M and Fotohi Chiyaneh S. 2014. Yield and yield components of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in strip intercropping with ajowan (*Carum copticum* L.) influenced by bio and chemical fertilizer. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production, 24(4): 1-15.

Rodriguez P, Torrecillas A, Morales MA, Ortuno MF and Blanco MJ. 2005. Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. Environmental and Experimental Botany, 53: 113-123.

Ruiz-Sanchez M, Armada E, Munoz Y, Garcia de Salamone IE Aroca R, Ruiz-Lozano JM and Azcon R. 2011. Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under wellwatered and drought conditions. Journal of Plant Physiology, 168: 1031–1037.

Sabannavar SJ and Lakshman HC. 2008. Interactions between azotobacter, pseudomonas and arbuscular mycorrhizal Fungi on two varieties of *Sesamum indicum* L. Journal Agronomy and Crop Science, 194:470-478.

Safapour M, Ardakani MR, Khaghani S, Teymoori M, Hezaveh H. and Mafakheri S. 2012. Phytohormonal and polyamines changes of three red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes as affected by Tri partite symbiosis with Mycorrhiza and Rhizobium. Archives Des Sciences, 65(4): 235-240.

Sailo GL and Bagyaraj DJ. 2005. Influence of different AM-fungi on the growth, nutrition and forskolin content of *Coleus forskohlii*. Mycological Research, 109: 795-798.

Sajedi N and Rejali F, 2011. Effect of drought stress, Zinc application and Mycorrhiza inoculation on uptake micro nutrients in maize. Iranian Journal of Soil Research, 25 (2): 83-92. (In Persian).

Sanches Govin E, Rodrigues Gonzales H and Carballo Guerra C. 2005. Influencia de los abonos organicosy biofertilizantes enlacalidad delasespecies medicinales *Calendula officinalis* L. *Matricaria recutita* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 10 (1): 1-10.

Selvaraj T and Chellappan P. 2006. Arbuscular mycorrhizae: Adiverse personality. Review Paper. Cent. Europ. Agriculture Journal, 7: 349-358

Seyedmohammadi N, Barmaki M and Davari M. 2019. Effect of Mycorrhizal fungi on leaf yield, root colonization percentage and some features of *Stevia rebaudiana* root in a soilless culture system. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production, 29(2): 189-204 (In Persian).

Shaalan MN. 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. Egyptian Journal of Agricultural Research, 83:811-828.

Shaharoona B, Arshad M, Zahir ZA and 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.

Shaharoona B, Naveed M, Arshad M and Zahir ZA. 2008. Ferttilizer-dependent efficiency of *Pseudomonas* for improving growth, yield and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). Microbial Biotechnology, 79: 147155.

Shahhosseini Z, Gholami A and Asghari M. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizae and humic acid on water use efficiency and physiological growth indices of maize under water deficit condition. Arid Biome Scientific and Research Journal, 2 (1): 39-57. (In Persian).

Silva EM, Maia LC, Menezes KMS, Braga MB, Melo NF de and Melo AMY. 2015. Water availability and formation of propagules of arbuscular mycorrhizal fungi associated with sorghum. Applied Soil Ecology, 94: 15-20.

Singh S and Kapoor KK. 1999. Inocultaion with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. Biology and Fertility of Soils, 28: 139-14.

Smith SE and Read DJ. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, San Diego, CA.

Song H. 2005. Effects of vesicular arbuscular mycorrhiza on host plant in condition of drought stress and its mechanisms. Electronic Journal of Biology, 1: 44-48.

Sorial ME. 2001. Growth, phosphorus uptake and water relations of wheat infected with an arbuscular mycorrhiza fungus under water stress. Annals of Agricultural Sciences, 39: 909-931.

Sreevalli Y, Baskaran K, Chandrashekara R, Kuikkarni R and et al, 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science, 22: 356-358.

Syros T. 2004. Photosynthetic response and peroxides in relation to water and nutrient deficiency in gerbera. Environment Experiment Botany, 52: 23-31.

Tian M, Chen YL, Li M and Liu RJ. 2013. Structure and function of arbuscular mycorrhiza: a review. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao, 24(8): 2369-2376.

Verma P, Saxena R and Tomar RS. 2016. Rhizobacteria: A promising tool for drought tolerance in crop plants. Proceeding of International Conference on Recent Advances in Biotechnology (Int- BIONANO-2016).

Vessey JK and Buss TJ. 2002. *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation and Naccumulation in grain Iegumes: Controlled-environment studies. Canadian Journal of Plant Science, 82: 282-290.

Vosatka M and Gryndler M. 2000. Response of micropropagated potatoes transplanted to peat media to post-vitro inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. Applied Soil Ecology, 15: 145-152.

Wheutherley PE. 1950. Studies in water relations of cotton plants. The field measurement of water deficit in leaves. New Phytologist, 49(1): 81-87.

Wu QS, Xia RX, Zou YN and Wang GY. 2007. Osmotic solute responses of mycorrhizal citrus (*Poncitrus trifoliate*) seedlings to drought stress. Acta Physiologica Plantarum, 29: 543-549.

Wu QSh and Xia RX. 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on leaf solutes and root absorption areas of trifoliate orange seedlings under water stress conditions. Front. Forest. China, 3: 312−317.

Wu SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC and Wong MH. 2005. Effects of biofertilizers containing N-fixer, P and K solubilizer and AM fungi on maize growth: a greenhouse trail. Geoderma, 125: 155-66.

Yadav A, Suri VK, Kumar A, Choudhary AK and Meena AL. 2015. Enhancing plant water relations, quality, and productivity of Pea (*Pisum sativum* L.) through arbuscular mycorrhizal fungi, inorganic phosphorus,

and irrigation regimes in a Himalayan acid alfisol. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 46(1): 80-93.

Young LS, Hameed A, Peng SY, Shan YH and Wu SP. 2013. Endophytic establishment of the soil isolate Burkholderia sp. CC-Al74 enhances growth and P-utilization rate in maize (*Zea mays* L.). Applied Soil Ecology, 66: 40-47.

Zafari M, Ebadi A. and Jahanbakhsh gode kahriz S. 2018. Combined effect on fungi and bacteria metabolites on increased osmolytes of compatibility of alfalfa in the water deficit stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 31(1): 194-205.

Zaharieva M, Gaulin E, Havaux M, Acevedo E and Monneveux P. 2001. Drought and heat responses in the wild wheat relative *Aegilops geninculateroth*. Crop Science, 41: 1321- 1329.