

کارایی تلقیح ریزوباکتری *Pseudomonas putida* 169 بر بهبود برخی صفات رویشی نهال استبرق (*Calotropis procera* Ait.) تحت تنش خشکی

محمد بهمنی، غلامعلی جلالی¹، احمد اصغرزاده و مسعود طبری کوچکسرای

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس؛ M_Bahmani@Rocketmail.com

دانشیار دانشگاه تربیت مدرس؛ Jalali_g@modares.ac.ir

استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور؛ a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

دانشیار دانشگاه تربیت مدرس؛ Masoudtabari@yahoo.com

دریافت: 92/11/19 و پذیرش: 94/5/12

چکیده

تحقیق پیش رو با هدف بررسی تأثیر ریزوباکتری سودوموناس بر برخی صفات رویشی نهال استبرق (*Calotropis procera* Ait.) تحت تنش خشکی در شرایط گلخانه انجام شد. این آزمایش با دو سطح تلقیح (ریزوباکتری سودوموناس پوتیدا، و شاهد یا عدم تلقیح) و شش سطح تنش خشکی با فواصل آبیاری (3، 6، 9، 12، 15 و 18 روز) در مدت شش ماه به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار شکل گرفت. نتایج نشان داد که اغلب صفات اندام هوایی و زمینی نهال‌های استبرق پاسخ معنی‌داری به تلقیح ریزوباکتری در شرایط تنش خشکی نشان دادند. با این وجود، تا فاصله آبیاری 9 روزه درصد زنده‌مانی، همانند ارتفاع، در نهال تلقیح شده و نشده تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. این در حالی است که بعضاً تا همین فاصله آبیاری، در اندازه برخی پارامترهای رویشی نهال‌های تلقیح نشده نسبت به نهال‌های تلقیح شده کاهش چشمگیری مشاهده نشد. از این تحقیق آشکار می‌شود که در تنش‌های خشکی شدیدتر (فاصله آبیاری بیش از 9 روز)، ریزوباکتری سودوموناس سبب جلوگیری از کاهش اندازه برخی پارامترهای رویشی می‌شود. از این رو، برای تحصیل رویش مطلوب نهال استبرق به همراه تقلیل هزینه‌ها، می‌توان از اعمال ریزوباکتری سودوموناس پوتیدا تا فاصله آبیاری 9 روز پرهیز کرد.

واژه‌های کلیدی: استبرق، سودوموناس، خشکی، زنده‌مانی، رویش

¹ نویسنده مسئول، آدرس: مازندران، نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی، گروه جنگل، کد پستی: 64414-356

مقدمه

ایران با قرار گرفتن در عرض جغرافیایی 25 تا 38 درجه شمالی جزء مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان به شمار می‌رود. بنابر نظر محققان، ایران در سال‌های اخیر جزء کشورهای تحت تنش شدید معرفی شده است (آلکامو، 2000). این در حالی است که تنش خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و مؤثرترین عامل اکولوژیکی محدودکننده استقرار و زنده‌مانی گیاهان در نظر گرفته می‌شود (کرامر و بویر، 1993). به‌طوری‌که امروزه اتخاذ یک رهیافت زیست‌فناوری جهت مقابله با کم‌آبی به یک ضرورت تبدیل شده است (آی پی سی سی، 2001).

در مناطق خشک، گیاهان به فعالیت میکروبی و نیز ریز موجوداتی که فعالیت متابولیت‌شان را افزایش دهند بیشتر وابسته هستند (مورنو و همکاران، 1999). جمعیت‌های میکروبی که دارای توانایی توسعه دامنه فعالیت خود هستند در حفظ و پایداری تعادل زیستی تحت شرایط تنش، خیلی مهم هستند (باره، 2002) و ریز موجودات هم‌زیست گیاهان از جمله ریزوباکتری‌های ریزوسفری در تحریک و تسریع صفات رویشی گیاهان نقش عمده‌ای دارند. در بین ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR¹)، سودوموناس (*Pseudomonas*) به دلیل توزیع گسترده در خاک و تولید طیف متنوعی از متابولیت‌ها و یا کلنیزه ساختن طیف وسیعی از آشیان اکولوژیک به‌ویژه ریزوسفر گیاهان دارای اهمیت ویژه‌ای است (بولتن و همکاران، 1993؛ خاوازی و همکاران، 2005). استفاده از ریزوباکتری‌های جنس سودوموناس به‌عنوان کارآمدترین ریزوباکتری‌های حلال فسفات که به‌صورت کود زیستی باعث بهبود وضعیت تغذیه‌ای خاک، ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی و کنترل بیماری خاک زاد² می‌شود دارای اهمیت بسزایی است (هنری و همکاران، 2008).

خانواده Pseudomonadaceae گروه بزرگی از باکتری‌های گرم منفی هستند که به‌وفور در زیست‌بوم‌های آبی و خاکی یافت می‌شوند و از نظر ریخت‌شناسی، گرم منفی، بدون اسپور، میله‌ای خمیده و یا صاف، متحرک با یک یا چند فلاژل قطبی می‌باشند (تودر، 2004). سودوموناس‌ها از طریق تولید فیتوهورمون‌ها از جمله اکسین، جیبرلین و سیتوکینین، همچنین آمینواسید و سیدروفور سبب تحریک رشد گیاهان می‌شوند (مارچنر و همکاران، 2006). از این‌رو در زیر به برخی پژوهش و تحقیق‌هایی که در ارتباط با کارایی و نقش

ریزوباکتری‌های محرک رشد روی گیاهان انجام شده است پرداخته می‌شود.

طی تحقیقی، دومین‌گوئز (2013) با تلقیح باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر پارامترهای رویشی نهال کاج حلب (*Pinus halepensis*) پی بردند که تلقیح منجر به افزایش ارتفاع، قطر یقه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه نسبت به شاهد شد اما تغییری در غلظت عناصر غذایی از جمله نیتروژن، پتاسیم، فسفر، کلسیم و منیزیم نهال‌ها ایجاد نکرد. هم‌چنین جرمن و همکاران (2000) گزارش کردند که در لوبیای تلقیح شده با *Azospirillum brasilense* طول ریشه‌ها به‌ویژه در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد که می‌تواند در افزایش عملکرد گیاهان سهمیم باشد. مایاک و همکاران (2004) با بررسی اثر باکتری *Achromobacter piechoudii* بر رشد گیاه گوجه‌فرنگی و فلفل در شرایط تنش آبی پی بردند که باکتری سبب افزایش زی‌توده و کاهش تولید اتیلن هر دو گیاه شد.

خسروی و همکاران (1389) با بررسی تلقیح سویه‌های *Sinorhizobium meliloti* بومی دارای توان تولید آنزیم ACC deaminase بر رشد گندم در شرایط تنش خشکی دریافتند که تلقیح با سویه KYA40 موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع و سطح برگ شد و سویه KYA40 در تنش رطوبتی 15-5 درصد آب قابل‌استفاده گیاه سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی گردید. ارشد و همکاران (2008) با بررسی تلقیح گونه‌های سودوموناس دارای ACC دآمیناز بر نخودفرنگی (*Pisum sativum*) تحت تنش خشکی دریافتند که رشد اندام هوایی گیاه عدم تلقیح در شرایط خشکی در مراحل رویشی تا 41 درصد کاهش نشان داد.

به‌طوری‌که در گیاه تلقیح شده در مقایسه با شاهد فقط 18 درصد کاهش یافت. عملکرد دانه زمانی که گیاه در مرحله گلدهی و شکل‌گیری غلاف تحت تنش خشکی قرار داشت کاهش یافت اما تلقیح عملکرد دانه به ترتیب بیشتر از 62 و 40 درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح و بدون تنش) بود. داد و همکاران (2004) مشاهده کردند که تلقیح با باکتری‌های تحریک‌کننده رشد دارای ACC دآمیناز منجر به طول بیشتر ریشه می‌گردد که ممکن است در جذب بیشتر آب در خاک عمیق تحت شرایط تنش خشکی مفید باشد. زهیر و همکاران (2008) با بررسی کارایی باکتری‌های تحریک‌کننده رشد دارای ACC دآمیناز بر تحریک رشد نخودفرنگی تحت شرایط خشکی پی بردند که با کاهش میزان ظرفیت زراعی خاک (100 تا 25 درصد) از مقدار رشد کاسته شد. سویه

¹ Plant Growth Promotion Rhizobacteria

² Soil Burn

طبق دستورالعمل موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، جهت تلقیح بذر با ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد در محیط تاریک، اینوکولوم ریزوباکتری همراه با صمغ عربی (20 درصد) بر اساس نوع تیمار در مایه تلقیح ریزوباکتری *Pseudomonas putida* strain 169 با جمعیت $3/6 \times 10^9$ کلنی سلول (CFU^2) در میلی‌لیتر قرار داده شد. آنگاه، تعداد 10 بذر تلقیح یافته در عمق یک سانتی‌متری بستر کشت گلدان قرار گرفت و بستر کشت گلدان نیز مجدداً با 10 میلی‌لیتر کلنی سلول ریزوباکتری فوق‌آلوده گشت. خاک‌ها با بافت شنی لومی با کوکوپیت مخلوط و در دمای $121/5^\circ C$ و فشار $1/5$ مگا پاسکال اتوکلاو و درون گلدان‌های استریل 4 کیلویی به ابعاد $15 \times 15 \times 20$ سانتی‌متر قرار داده شدند. بذرهای تلقیح یافته و کشت‌شده در گلدان ابتدا در گلخانه به مدت 5 ماه (آبان تا اسفند سال 91) رشد و سپس به مدت شش ماه از فروردین تا شهریورماه سال 92 تحت تنش خشکی به صورت فواصل آبیاری قرار داده شدند (Saxton و همکاران، 1986). میانگین حداقل و حداکثر دمای گلخانه 18 و 30 درصد، و رطوبت نسبی شب و روز آن 32 و 50 درصد بوده است. آبیاری گلدان‌ها با توجه به ظرفیت زراعی خاک (FC^3)، نقطه پژمردگی خاک (PWP^4) و وزن مرجع، با شش سطح فاصله آبیاری (3، 6، 9، 12، 15 و 18 روز) به طوری که گلدان‌ها در هر سطح آبیاری به وزن مرجع (2242 گرم) رسانده می‌شد، انجام شد.

به عبارت دقیق‌تر، اعمال تنش خشکی به طریق فاصله آبیاری با حفظ ظرفیت زراعی خاک به صورت وزنی با استفاده از ترازوی دیجیتال دقیق اعمال شد. به طوری که گلدان‌های 3 روز آبیاری (شاهد) هر سه روز به وزن مرجع ذکر شده رسانده می‌شد. همچنین سایر فواصل آبیاری به ترتیب هر 6 روز، 9 روز، 12 روز، 15 روز و 18 روز یک بار آبیاری به میزان وزن مرجع مذکور انجام می‌گرفت. بنابراین در طول شش ماه تنش خشکی طولانی مدت، تعداد دفعات آبیاری گلدان‌ها بر اساس سطوح فواصل آبیاری به ترتیب 60، 30، 20، 15، 12 و 10 بار آبیاری شدند. قابل ذکر است که با افزایش فواصل آبیاری و دوره تنش به دلیل خشک شدن خاک گلدان‌ها با در نظر گرفتن ظرفیت زراعی خاک، به مقادیر آب آبیاری افزوده می‌شد.

Pseudomonas fluorescens Biotype G در مقایسه با دیگر سویه‌ها بیشترین مقادیر وزن‌تر و خشک، طول ریشه و اندام هوایی، تعداد برگ و کارایی مصرف آب را در مقایسه با عدم تلقیح داشت.

استبرق (*Calotropis procera* Ait.) از تیره استبرقیان (Asclepiadaceae) درختچه‌ای دائمی و چندساله است که در بسیاری از نواحی گرم بیابانی جنوب غربی آسیا، ناحیه مدیترانه تا سواحل آفریقا و همچنین ایران (خوزستان تا بلوچستان) پراکنش دارد. استبرق دارای ارزش‌های اقتصادی - دارویی منحصر به فردی است که در جنگل‌کاری و احیای اراضی تخریب یافته مناطق خشک به‌وفور مورد استفاده واقع می‌گردد (فاکر باهر، 1373). این گیاه در مناطق خشک (بارندگی 30 تا 200 میلی‌متر) قابلیت زیست روی شن‌های روان را داشته و شوری خاک حتی در سطح بالا را به‌خوبی تحمل می‌کند اما با وجود تولید انبوه بذر و قوه نامیه بالای بذر، با مشکلات شدید استقرار و رشد، روبه‌رو است (خائف و همکاران، 1390؛ بهمنی و همکاران، 1393) که دلایل آن به‌طور کامل شناخته شده نیست.

از آنجا که تاکنون پژوهش خاصی مرتبط با تلقیح ریز موجودات خاکزی از جمله ریزوباکتری‌ها، روی گیاه استبرق در داخل و خارج از کشور گزارش نشده است لذا پژوهش حاضر برای اولین بار به دنبال این است تا کارایی تلقیح ریزوباکتری سودوموناس بر بهبود برخی صفات رویشی نهال استبرق در شرایط تنش خشکی را مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس در سال 92-1391 به عمل آمد. بدین مقصود، میوه‌های کپسول مانند تازه استبرق در مردادماه 91 از رویشگاه طبیعی آن در شهرستان تنگستان از توابع استان بوشهر با عرض جغرافیایی $1^{\circ} UTM$ (m 3213206N و طول جغرافیایی $523703 m E$ (UTM) ارتفاع از سطح دریا 58 متر جمع‌آوری شد. سپس در آزمایشگاه، بذرهای سالم و همسان استبرق به مدت دو دقیقه در محلول قارچ‌کش Carboxin Tiram (2 درصد) ضدعفونی شدند (جدول 1) و برای جوانه‌دار شدن، در پتری‌دیش‌های سترون، در محیط گرمخانه با دمای $22/5^\circ C$ ، رطوبت نسبی 65 درصد و روشنایی 16 ساعت روشنایی (با شدت 1000 لوکس نوری) قرار داده شدند.

² Colony Forming Unit

³ Field Capacity

⁴ Plant Welting Point

¹ Universal Transverse Mercator

جدول 1- خصوصیات بذره‌های جمع‌آوری شده درختچه استبرق

نام گونه	مبدأ بذر	تاریخ جمع‌آوری	خلوص (درصد)	وزن هزار دانه (گرم)	تعداد (در کیلوگرم)	رطوبت (درصد)	قوه نامیه (درصد)
استبرق	بوشهر	مرداد 91	100	8/41	11800	52/2	95

جدول 2- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

هدایت الکتریکی ($\mu\text{s/m}$)	pH (گل اشباع)	شن (%)	رس (%)	کربن آلی (%)	نیتروژن (ppm)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	آهن (ppm)	منگنز (ppm)	روی (ppm)
0/328	7/71	50	20	1/33	1/13	0/2	9	0/13	0/02	0/08

Excel نسخه 2013 انجام شد. شایان‌ذکر است به دلیل خشکیدگی و پایین بودن درصد زنده‌مانی نهال‌ها در سطوح بالاتر تنش خشکی در اواسط دوره، تمام اندازه‌گیری‌ها و تجزیه و تحلیل آماری در نهال‌های عدم تلقیح تا 12 روز دور آبیاری و نهال‌های ریزوباکتری تا فاصله آبیاری 15 روز صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس و میانگین مربعات⁷ آزمایش نشان داد که تلقیح ریزوباکتری سودوموناس تأثیر معنی‌دار بر برخی صفات رویشی نهال‌های استبرق تحت شرایط تنش خشکی دارد. به طوری که در آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن، اغلب صفات رویشی نهال‌ها از جمله اندام هوایی و زمینی به طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح ریزوباکتری و تنش خشکی قرار گرفتند (جدول 3، 4 و 5).

صفات اندام هوایی

اندام هوایی نهال‌های استبرق از جمله زنده‌مانی، و میزان آب نسبی برگ تفاوت معنی‌داری در سطح آماری یک و پنج درصد نسبت به تلقیح ریزوباکتری سودوموناس و تنش خشکی و اثر متقابل آن‌ها نشان دادند (جدول 3). در هر دو تیمار تلقیح و عدم تلقیح، زنده‌مانی نهال‌ها تا فاصله آبیاری 9 روزه برابر 100 درصد بود و پس از آن کاهش یافت. در تیمار عدم تلقیح، نهال‌های استبرق فقط توانستند تا فاصله آبیاری 12 روز زنده بمانند. اما نهال‌های تلقیح یافته ریزوباکتری توانستند در سطح آبیاری 15 روز 26/66 زنده‌مانی داشته باشند و در آبیاری 18 روزه بسیار ضعیف و فقط در حد 1/66 درصد زنده بمانند. بزرگ‌ترین اندازه ارتفاع نهال‌ها در تیمار ریزوباکتری با فواصل 3، 6 و 9 روز آبیاری و در تیمار عدم تلقیح با فاصله 3 و 6 روز آبیاری مشاهده شد.

قبل از اجرای آزمایش، نیتروژن و فسفر به ترتیب با روش کج‌دلال¹ و اولسن، پتاسیم، آهن، منگنز و روی به روش عصاره‌گیری خاک و قرائت آن با استفاده از دستگاه جذب اتمی انجام گردید. کربن آلی با روش والکی و بلاک²، pH خاک در گل اشباع و عصاره آن و هدایت الکتریکی (EC) در عصاره اشباع خاک انجام شد (علی‌احیایی و بهبهانی زاده، 1372). درصد شن، سیلت و رس خاک به روش هیدرومتر بایکاس و بافت خاک از طریق مثلث بافت محاسبه شد (جدول 2).

اندازه‌گیری‌ها و آنالیز داده‌ها

در پایان دوره وزن‌تر و خشک ساقه و ریشه با ترازوی دیجیتال (با دقت 0/001 گرم)، ارتفاع و قطر یقه با خط‌کش سنجش شد. جهت تعیین حجم ریشه، ابتدا گلدان‌ها به مدت یک ساعت در ظرف حاوی آب قرار داده شدند و بعد از شستشوی کامل ریشه‌ها، در استوانه مدرج قرار گرفتند و از اختلاف جابه‌جایی آب، حجم ریشه محاسبه شد. سطح ریشه به روش اتکینسون³ برآورد شد (بوهان، 1979). میزان آب نسبی برگ (RWC⁴) طبق رابطه علی‌زاده (1387) و یانگ و همکاران (2007) و تراکم طول ریشه از روش نیومن (1966) و سطح برگ با استفاده از دستگاه اسکنر Leaf Area Meter اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی (CRD⁵) با سه تکرار، با مجموع 108 نهال (2×6×3×3) صورت گرفتند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 21 و مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن⁶ در سطح آماری پنج و یک درصد و رسم جداول نیز با استفاده از نرم‌افزار

¹ Kejdahl

² Walkley and Black

³ Atkynsyun

⁴ Relative Water Content

⁵ Complete Randomized Design

⁶ Duncan's Multiple Range Test

⁷ Mean of Square

استبرق از جمله وزن‌تر، سطح، حجم، ارتفاع و وزن خشک ساقه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح ریزوباکتری سودوموناس پوتیدا واقع شدند که با نتایج دومین‌گوئز و همکاران (2013) روی نهال کاج حلب (*Pinus halepensis*)، مایاک و همکاران (2004) بر رشد گیاه گوجه‌فرنگی و فلفل و همچنین زهیر و همکاران (2008) روی نخودفرنگی (*Pisum sativum*) مطابقت دارد. احتمال می‌رود این افزایش رشد نهال‌ها را می‌توان به توانایی تولید ایندول استیک اسید (IAA^1) و افزایش فسفر قابل‌حل ریزوباکتری‌ها مربوط دانست (اشرف‌الزمان و همکاران، 2009).

بنابراین با افزایش فواصل آبیاری در نهال‌های تلقیح ریزوباکتری و عدم تلقیح روند کاهش در ارتفاع نهال‌ها دیده شد. همچنین وزن‌تر و خشک ساقه نیز با افزایش فاصله آبیاری، روند نزولی نشان داد. بیش‌ترین وزن‌تر ساقه در فاصله آبیاری 3 روز نهال‌های عدم تلقیح و تلقیح ریزوباکتری دیده شد. درحالی‌که تیمار تلقیحی ریزوباکتری با فاصله آبیاری 3 روز بیش‌ترین وزن خشک ساقه را به نمایش گذاشت. قطر یقه در تیمار تلقیح ریزوباکتری سودوموناس در مقایسه با عدم تلقیح از مقادیر بیشتری برخوردار بود که با افزایش فواصل آبیاری، روند کاهش داشت. محتوی آب نسبی برگ در نهال‌های ریزوباکتری با فاصله 3 روز آبیاری (68/87) بیش‌ترین میزان را نشان داد (جدول 4).

صفات اندام زمینی

اندام زمینی نهال‌های استبرق از جمله وزن‌تر، خشک، طول و تراکم طول ریشه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح ریزوباکتری سودوموناس قرار گرفتند. به‌طوری‌که تمام صفات اندام زمینی تحت تأثیر شرایط تنش خشکی و اثرات متقابل آن با تیمار تلقیح واقع شدند (جدول 3). در نهال‌های ریزوباکتری سودوموناس با فاصله آبیاری 3 روز، بیش‌ترین مقدار وزن‌تر و خشک‌ریشه (3/081 گرم، 12/72) دیده شد. بزرگ‌ترین اندازه طول ریشه با میزان 36/75 سانتی‌متر، در نهال‌های ریزوباکتری سودوموناس با آبیاری 9 روز مشاهده شدند. بیش‌ترین مقادیر سطح و حجم ریشه به ترتیب با میزان 1968/46 سانتی‌متر مربع و 12/55 سانتی‌متر مکعب در نهال‌های ریزوباکتری با فاصله آبیاری 3 روز رؤیت شدند (جدول 5).

بحث و نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که تنش خشکی ایجادشده در فواصل آبیاری 9 روزه کاهش در زنده‌مانی نهال‌های استبرق ایجاد نکرد. به‌عبارت دیگر، استبرق بدون تلقیح ریزوباکتری هم می‌تواند تا 9 روز آبیاری نشود بدون اینکه کاهش در زنده‌مانی آن حاصل آید. همچنین زنده‌مانی نهال‌های تلقیح نشده استبرق تا فاصله آبیاری 12 روز اختلاف چندانی با نهال‌های تلقیح شده نداشت درحالی‌که در دور آبیاری 15 روز خشک شدند این در حالی است که در این دوره آبیاری نهال‌های تحت تلقیح توانستند زنده‌مانی 26/6 درصدی را نشان دادند.

صفات رویشی نهال‌های استبرق به‌طور معنی‌داری در سطح آماری (5 و 1 درصد) تحت تأثیر تلقیح ریزوباکتری سودوموناس پوتیدا و تنش خشکی دوره‌ای قرار گرفتند. اندام زمینی و هوایی نهال‌های

¹ Indol Acetic Acid

جدول 3- میانگین مربعات اثرات تلقیح ریزوباکتری سودوموناس بر صفات رویشی (اندام هوایی و زمینی) نهالهای استبرق تحت تنش خشکی

منابع تغییر	درجه آزادی	زنده‌مانی	ارتفاع	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	آب نسبی برگ
تلقیح	1	250/7**	191/36**	0/334Ns	0/163**	299/65**
خشکی	5	12870/7**	1097/58**	24/1**	1/38**	3407/4**
تلقیح×خشکی	5	170/7**	73/24**	1/52**	0/088**	250/54**
خطا	24	4/86	7/52	0/311	0/008	33/56
کل	36					
منابع تغییر	درجه آزادی	ریشه‌به‌ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه	حجم ریشه
تلقیح	1	0/429Ns	21/32**	0/847**	223/75**	21/0**
خشکی	5	1/019**	84/41**	5/20**	767/65**	87/16**
تلقیح×خشکی	5	0/313**	9/73**	0/341*	118/61**	8/84*
خطا	24	0/010	0/496	0/109	4/95	2/54
کل	36					

** ، * ، و Ns به ترتیب معنی‌داری در سطح 1، 5٪ و عدم معنی‌داری آماری است. (مقادیر ارائه‌شده در جدول، بیانگر MS است)

جدول 4- مقایسه میانگین اثرات متقابل تلقیح ریزوباکتری سودوموناس و تنش خشکی بر صفات رویشی اندام هوایی نهالهای استبرق

تلقیح (اینوکولوم)	خشکی (روز)	زنده‌مانی (%)	ارتفاع (سانتی‌متر)	وزن تر ساقه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	آب نسبی برگ (%)
عدم تلقیح	3	100 ^a	32 ^a	4/99 ^a	1/218 ^b	57/57 ^b
		±0/000	±0/5	±0/18	±0/022	±0/497
	6	100 ^a	30/16 ^a	4/6 ^{ab}	1/096 ^b	41/30 ^c
		±0/000	±2/2	±0/52	±0/118	±6/19
	9	100 ^a	29 ^a	3/75 ^{bc}	0/743 ^{de}	49/45 ^{bc}
		±0/000	±1/15	±0/069	±0/000	±4/05
	12	75 ^c	22 ^{bc}	2/68 ^d	0/566 ^f	49/26 ^{bc}
		±2/88	±1/15	±0/33	±0/039	±6/98
	15	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-
تلقیح ریزوباکتری سودوموناس	3	100 ^a	33/33 ^a	5/325 ^a	1/411 ^a	68/87 ^a
		±0/000	±1/76	±0/025	±0/043	±2/45
	6	100 ^a	32/83 ^a	3/285 ^{cd}	0/674 ^{ef}	50/34 ^{bc}
		±0/000	±2/35	±0/314	±0/042	±1/79
	9	100 ^a	31/66 ^a	2/77 ^{cd}	0/917 ^c	43/11 ^c
		±0/000	±1/66	±0/514	±0/043	±3/03
	12	80 ^b	24/33 ^b	2/773 ^{cd}	0/879 ^{cd}	42/65 ^c
		±2/88	±3/17	±0/67	±0/006	±2/79
	15	26/6 ^d	18/66 ^c	0/725 ^c	0/549 ^f	27/23 ^d
		±1/66	±0/88	±0/10	±0/098	±2/012
	18	-	-	-	-	-

میانگین‌های دارای حروف مشترک در ستون آزمون چند دامنه‌ای دانکن بیانگر عدم تفاوت معنی‌داری است. میانگین ± خطای معیار

جدول 5- مقایسه میانگین اثرات متقابل تلقیح ریزوباکتری سودوموناس و تنش خشکی بر صفات رویشی اندام زمینی نهال‌های استبرق

تلقیح (اینوکولوم)	خشکی (روز)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	طول ریشه (سانتی‌متر)	سطح ریشه (سانتی‌متر مربع)	حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب)	
عدم تلقیح	3	7/25 ^b	2/185 ^b	26 ^b	1402/53 ^{bc}	8/5 ^b	
		±0/89	±0/389	±0/577	±360/83	±2/020	
	6	2/94 ^{cd}	1/451 ^c	22 ^{bcd}	1004/8 ^{cde}	7 ^{bc}	
		±0/789	±0/449	±1/732	±316/003	±1/732	
	9	2/87 ^{cd}	0/914 ^{cd}	25/66 ^b	1077/43 ^{cd}	6/53 ^{bc}	
		±0/111	±0/000	±2/33	±233/428	±0/837	
	12	1/98 ^{de}	0/577 ^{de}	21/5 ^{cd}	443/525 ^{fg}	3/25 ^d	
		±0/025	±0/001	±0/866	±76/177	±0/433	
	15	-	-	-	-	-	
	18	-	-	-	-	-	
	تلقیح ریزوباکتری سودوموناس	3	13/72 ^a	3/081 ^a	25 ^{bc}	1968/46 ^{ab}	12/55 ^a
			±0/063	±0/120	±1/732	±122/916	±0/086
		6	3/67 ^{cd}	1/437 ^c	21/33 ^{cd}	641/816 ^{def}	4/8 ^{cd}
			±0/655	±0/004	±1/201	±28/094	±0/115
		9	3/275 ^{cd}	0/993 ^{cd}	36/75 ^a	1651/11 ^{ab}	8/5 ^b
			±0/146	±0/257	±1/299	±137/236	±1/443
		12	2/346 ^{de}	0/896 ^{cd}	21/5 ^{cd}	614/916 ^{def}	4/5 ^{cd}
			±0/311	±0/009	±2/020	±96/152	±0/288
15		1/28 ^{ef}	0/560 ^{de}	20/5 ^d	528/043 ^{efg}	4/1 ^{cd}	
		±0/011	±0/016	±0/288	±14/865	±0/057	
18		-	-	-	-	-	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در ستون آزمون چند دامنه‌ای دانکن بیانگر عدم تفاوت معنی‌داری است. میانگین ± خطای معیار

دریافتند که بسیاری از ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاهان دارای آنزیمی به نام 1-آمینو سیکلوپروپان-1-کربوکسیلات (ACC) دامیناز هستند. این آنزیم می‌تواند 1-آمینو سیکلوپروپان-1-کربوکسیلات که پیش ماده مستقیم ساخت اتیلن در گیاهان عالی است را به آمونوم و آلفا کتوتیترات تبدیل نموده و از این طریق موجب کاهش اتیلن ناشی از تنش شود (یانگ و هافمن، 1984). در حقیقت، طی این فرایند آمونوم به‌عنوان منبع نیتروژن توسط باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرد (گلیک و همکاران، 1998).

با توجه به تحقیقات گذشته می‌توان اظهار داشت که گونه‌های ریزوباکتری سودوموناس یکی از تحریک‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که بر سرعت و افزایش رشد، شکل‌گیری ریشه و ریشه‌های مویی و کنترل پاتوژن در اغلب گونه‌های جنگلی کارآمد بوده‌اند (هینونسالو و همکاران، 2004) به‌طوری‌که متابولیت‌های متعددی از قبیل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و ویتامین‌ها را تولید می‌کنند که بر رشد گیاهی و ریز موجودات

در تحقیق پیش رو، با تلقیح ریزوباکتری سودوموناس در مقایسه با عدم تلقیح سبب افزایش مشخصه‌های طولی، سطح و حجم ریشه و نیز افزایش ارتفاع، وزن تر و خشک ساقه و ریشه در نهال استبرق تحت تنش خشکی شد که می‌توان بیان کرد که ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلف به‌طور مستقیم و غیرمستقیم، از جمله تولید کربوهیدرات‌ها، رشد گیاهان و متعاقب آن سرعت رشد، تقسیم سلولی و اندازه سلول را افزایش داده‌اند (گلیک، 1995). به‌طور مشابه، در تحقیقی روی گیاه گوجه‌فرنگی و فلفل با تلقیح باکتری *Achromobacter piechaudii* ARV8 تحت شرایط تنش آبی، افزایش وزن تر و خشک هر دو گیاه به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به شاهد مشاهده شد (مایاک و همکاران، 2004). این در حالی است که برخی محققان اثرات فیتوهورمونی به‌خصوص آبسزیک اسید (ABA) را در مقاومت به خشکی گیاهان تلقیح شده به ریزوباکتری‌ها مرتبط می‌دانند (بویره و همکاران، 2007). اخیراً محققین

نشد. با این اوصاف، می‌توان استنتاج کرد که برای رویش نهال استبرق در شرایط تنش خشکی با آبیاری کمتر از 9 روز به ریزوباکتری سودوموناس نیاز نیست.

تشکر و قدردانی

از همکاری مسئولین محترم آزمایشگاه تکنولوژی جنگل و مرتع، گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی تربیت مدرس نور، کارشناسان مرکز آینده‌پژوهی سازمان تحقیقات و جهاد خودکفایی نیروی دریایی سپاه پاسداران انقلاب اسلامی، بخش تخصصی بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور و مرکز تحقیقات منابع طبیعی بوشهر و تمامی کسانی که به نحوی در پیشبرد این طرح تحقیقاتی مشارکت داشتند، نهایت سپاس و تشکر را داریم.

موجود خاک تأثیر می‌گذارند (پریکریل، 1985). بنابراین توسعه و گسترش تلقیح میکروبی چندمنظوره، روشی نویدبخش در افزایش اثرات مثبت ریز موجودات است که می‌تواند بر پایه اثرات بیش از یک یا ترکیبی از ریز موجودات باشد.

به‌طورکلی، از نتایج تحقیق حاضر می‌توان جمع‌بندی کرد که در تنش‌های خشکی شدیدتر (آبیاری بیش از 9 روز)، استفاده از ریزوباکتری سودوموناس سبب جلوگیری از کاهش اندازه برخی پارامترهای رویشی می‌شود. این در حالی است که نهال‌های استبرق تلقیح شده با ریزوباکتری و بدون تلقیح با ریزوباکتری بدون هیچ‌گونه تفاوتی تا فواصل آبیاری 9 روزه به زنده‌مانی مطلوب خود ادامه دادند و بعضاً تا همین فاصله آبیاری، در اندازه برخی پارامترهای رویشی نهال‌های تلقیح نشده نسبت به نهال‌های تلقیح شده افت قابل‌ملاحظه‌ای دیده

فهرست منابع:

1. بهمنی، م.، جلالی، غ.ع.، اصغرزاده، ا. و طبری کوچکسرای، م. 1393. اثرات تلقیح ریزوباکتریایی محرک رشد گیاهی بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق. نشریه زیست‌شناسی خاک، 2 (1): 86-80
2. خاوازی، ک.، رحمانی، ه. و ملکوتی، ج. 1385. ضرورت تولید صنعتی کود زیستی در ایران. موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، 439 صفحه.
3. خانف، ن.، تقوایی، م.، صادقی، ح. و نیازی، ع. 1390. بررسی اثرهای متقابل نور و درجه حرارت بر جوانه‌زنی بذر استبرق (*Calotropis procera* L.) مجله علمی پژوهشی مرتع، 5 (1): 26-19
4. قورجیانی، م.، اکبری، غ.م.، علیخانی، ح.، الله دادی، ا. و زراعی، م. 1390. اثر قارچ میکوریزآربسکولار و باکتری *Pseudomonas fluorescence* بر ویژگی‌های بلال، میزان کلروفیل و عملکرد گیاه ذرت در شرایط تنش رطوبتی، مجله دانش آب‌وخاک، 21 (1): 98-114.
5. علی‌زاده، ا. (1387). رابطه آب‌وخاک و گیاه، انتشارات دانشگاه امام رضا مشهد.
6. علی‌احیایی، م. و بهبهانی زاده، ع.ا. 1372. نقش ریزمغذی‌ها در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.
7. خسروی، ه.، علیخانی، ح. و یخچالی، ب. 1389. اثر تلقیح سویه *Sinorhizobium meliloti* بومی دارای توان تولید آنزیم ACC deaminase بر رشد گندم در شرایط تنش خشکی، مجله پژوهش آب در کشاورزی، 24 (2).
8. فاخر باهر، ز. 1373. گیاهان مولد کائوچو، شماره 100، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.
9. گلستانه، س. ر.، عسکری، ح.، گلدسته، ش.، دوستی مظفری، ا. و فرار، ن. 1388. مطالعه چرخه زندگی پروانه برگ‌خوار استبرق (*Danaus chrysippus* L. (Lep. Nymphalidae) در استان بوشهر، فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی، 1 (1): 1-11.
10. Alcamo, J. Henrichs, T. and Osch, T.R. 2000. World water in 2025 global modeling and scenario analysis for the world commission on water for the 21st century, Center for

- Environmental systems research. University of Kassel. Kurt Wolters Strasse Kassel, Germany. 49 pp.
11. Ashrafuzzaman, M. Hossein, F.A. Razi, I. Anamul, M. Zahurul, M. Shahidullah, S.M. and Meon, S. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology* 8: 1247-1252.
 12. Arshad, M. Shaharoon, B. and Mahmood, T. 2008. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACCdeaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). *Pedosphere* 18(5): 611–620
 13. Boutraa, T. 2010. Effects of water stress on root growth, water use efficiency, leaf area and chlorophyll content in the desert shrub *Calotropis procera*, *Journal of International of Environmental Application and Science* 5 (1): 124-132.
 14. Boiero, L. Perrig, D. Masciarelli, O. Pena, C. Cassán, F. Luna, V. 2007. Phytohormone production by strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Applied Microbiology of Biotechnology* 74: 874–880.
 15. Bohm, W. 1979. Methods of studying root systems. *Ecological Studies*, SpringerVerlag., Berlin, 188 pp.
 16. Bolton, H.J. Fredrickson, J.K. and Elliott, L.F.1993. Microbial ecology of the rhizosphere. In: Metting, F.B.J. (Ed.), *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, New York, pp. 27–63.
 17. Dominguez, N. Daniel. M, Ana, D.L.C, José, A. and Saiz, D.O. 2013. Effects of *Pseudomonas fluorescens* on the Water Parameters of Mycorrhizal and Non-Mycorrhizal Seedlings of *Pinus halepensis*. *Agronomy Journal* 2013. 3: 571-582
 18. Dodd, I. C. Belimov, A. A. Sobeih, W. Y. Safronova, V. I. Grierson, D. and Davies, W. J. 2004. Will modifying plant ethylene status improve plant productivity in water-limited environments? In *Proceedings for the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 September–1 October 2004*. Available online at http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/1/3/4/510_doddicref.htm (Verified on April 28, 2008).
 19. Glick, B. Penrose, R. and Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology* 190:63–68.
 20. Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 109-117.
 21. German, M. A. Burdman, S. Yaacov, O., and Kigel, J. 2000. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. *Biology and Fertility of Soils* 32: 259–264
 22. Heinonsalo, J. Frey-Klett, P. Pierrat, J.C. Churin, J.L. Vairelles, J. Garbaye, J. 2004. Tree growth effect and potential impact on soil microbial communities of mycorrhizal and bacterial inoculation in a forest plantation. *Soil Biology and Biochemistry* 36. 211–216.
 23. Henry, S. Texier, S. Hallet, S. Bru, D. Dambreville, C. Chèneby, D. Bizouard, F. Germon, J. C. And Philippot, L.2008. Disentangling the rhizosphere effect on nitrate reducers and denitrifiers: insight into the role of root exudates. *Environmental Microbiology* 10(11): 3082–3092
 24. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2001. *Climate Change 2001: Impacts, Adaptation, and Vulnerability Contribution of Working Group II to the Third Assessment Report of the IPCC*. Cambridge University Press, Cambridge UK.
 25. Ibrahim, A.H. 2013. Tolerance and avoidance responses to salinity and water stresses in *Calotropis Procera* and *Suaeda aegyptiaca*. *Turk Journal of Agarcic and Forestry* 37: 352-360.

26. Kramer, P.J. and Boyer, JS. 1993. Water Relations of Plants and Soils. Academic Press. San Diego, CA
27. Marschner, P. Solaiman, Z. and Rengel, Z. 2006. Rhizosphere Properties of *Poaceae* Genotypes Under P-limiting Conditions. Plant and Soil 283: 11–24M
28. yak, S. Tirosh, T. and Glick, B. R. 2004. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science 166: 525–530
29. Moreno-Ortego, J.L. Falchini, L. Renella, G. Landi, L. Nannipieri, P. 1999. Use of the ecological dose (ED50) to assess to toxicity of Cd on soil microbial and biochemical parameters. In: Dick, RP (Ed.) Enzymes in the Environment: Activity Ecology and Applications, Granada, Spain, July 12–15, p 129.
30. Newman, E.I. 1966. A methods of estimating the total length of root in sample. Journal of Applied. Ecology 3:139-145.
31. Prikryl, Z. Vancura, V. and Wurst, M. 1985. Auxin formation by rhizosphere bacteria as a factor of root growth. Biology Plantarum 27. 159-163.
32. Taghvaei, M. Khaef, N. and Sadeghi, H. 2012. The effects of salt stress and prime on germination improvement and seedling growth of *Calotropis procera* L. seeds. *Journal of Ecology and field biology* 35(2): 73-78.
33. Tezara, W. Colombo, R. Coronel, I. Marin, O. 2011. Water relations and photosynthetic capacity of two species of *Calotropis* in a tropical semi-arid ecosystem, *Annals of Botany* 107: 397-405.
34. Todar, K. 2004. Pseudomonas and its relatives. <http://www.texbookofbacteriology.net/pseudomonas>. Etc. html.
35. Yang, S. F. and Hoffman, N. E. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. Annual Review. Plant Physiology 35: 155–189.
36. Yang, Y. Liu, Q. Han, C. Qiao, Y.Z. Yao, X.Q. and Yin, H.J. 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. *photosynthetica* 45(4): 613-619.
37. Zahir, Z. A. Munir, A. Asghar, H. N. Arshad, M., and Shaharona, B. 2008. Effectiveness of rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 18(5): 958–963