نشریه زیست‌شناسی خاک / جلد 7 / شماره 1 / 1398

10.22092/sbj.2018.121271.130

بررسی تأثیر باکتری حل کننده فسفر و قارچ میکوریزا بر شاخص‌های رشدی گیاه اسفرزه در شرایط شور

احمدرضا دهقانی تفتی[1]، سهراب محمودی، حسینعلی علیخانی و معصومه صالحی

دکتری مهندسی کشاورزی-زراعت، دانشگاه بیرجند؛ ahmadreza4814@yahoo.com

دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند؛ smahmoodi@birjand.ac.ir

استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران؛ halikhan@ut.ac.ir

استادیار، مرکز ملی تحقیقات شوری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران؛ salehimasomeh@gmail.com

دریافت: 97/2/3 و پذیرش: 97/7/18

چکیده

بهره‌گیری از ریزسازواره‌های خاکزی می‌تواند بخشی از اثرات منفی تنش شوری را کاهش دهد. به‌منظور بررسی اثر شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده ترکیبات فسفری بر خصوصیات رشدی گیاه دارویی اسفرزه (*Plantagoovata* Forsk.) دو آزمایش طراحی و اجرا شد. در آزمایش اول به‌منظور غربال‌گری گونه مقاوم باکتری حل-کننده فسفات در شرایط تنش شوری، 40 باکتری تحت آزمون نیمه کمی توان انحلال فسفات در شرایط شوری محیط کشت قرار گرفتند. برای این ارزیابی میزان نسبی انحلال فسفات، نسبت قطر هاله بر قطر کلنی تعیین گردید. سپس گونه برتر که بالاترین توان حل فسفات معدنی در شوری 60 دسی زیمنس بر متر داشت، انتخاب شد. مقایسه توالی 16S rRNA و آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد که سوش جدا شده *Pseudomonas fluorescens* بود. آزمایش دوم به‌صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود. عامل اول سه سطح شوری شامل 2/5 ، 5 و 10 دسی‌زیمنس بر متر، عامل دوم قارچ میکوریزا شامل عدم کاربرد قارچ و گونه‌های *Funneliformis mosseae*، *Rhizophagus intraradices* و *Glomus fasciculatum* و عامل سوم شامل دو سطح عدم کاربرد باکتری و کاربرد باکتری برتر حاصل از آزمایش شناسایی باکتری بود. صفات مورد اندازه‌گیری شامل وزن خشک ساقه و ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه، پاسخ رشد میکوریزایی و درصد کلونیزاسیون ریشه بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا بر صفات وزن خشک ساقه و ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه، پاسخ رشد میکوریزایی و درصد کلونیزاسیون ریشه و اثر متقابل تنش شوری، قارچ میکوریزا و باکتری بر وزن خشک ساقه در سطح احتمال 1 درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل تنش شوری و باکتری بر نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار بود. بیشترین وزن خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در ترکیب تیماری 2/5 دسی زیمنس بر متر و کاربرد قارچ *Glomus fasciculatum* به‌میزان 1/07 گرم در گیاه و 0/29 حاصل شد. بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی در ترکیب تیماری شوری 10 دسی زیمنس بر متر + قارچ *Rhizophagus intraradices* به‌میزان 76/7 درصد بود. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و باکتری نشان داد بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی در ترکیب تیماری شوری 10 دسی زیمنس بر متر + کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* به‌میزان 45/6 درصد بود و بیشترین کلونیزاسیون ریشه در شوری 10 دسی زیمنس بر متر به‌وسیله قارچ میکوریزا *Rhizophagus intraradices* به‌میزان 65/1 درصد حاصل شد. نتایج نشان داد هر چند افزایش شوری توانست مولفه‌های رشدی گیاه را کاهش دهد، لکن کاربرد همزمان باکتری حل کننده فسفات معدنی و قارچ میکوریزا توانست اثرات منفی تنش شوری را تا حدی جبران نماید. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان کاربرد همزمان باکتری *Pseudomonas fluorescens* و قارچ *Rhizophagus intraradices* را برای دستیابی به حداکثر تولید گیاه دارویی اسفرزه توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: اسفرزه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، ریشه به ساقه، پاسخ رشد میکوریزایی، کلونیزاسیون ریشه.

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: بیرجند، دانشگاه بیرجند-دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

مقدمه

شوری یکی از ویژگی‌های طبیعی اکوسیستم‌ها در مناطق خشک و نیمه خشک است و همچنین می‌تواند از فعالیت‌های انسانی مانند آبیاری ناشی شود (پاریهار و همکاران، 2015). بر اساس تعریف شانون و گریو (1998) شوری عبارت است از حضور بیش از اندازه نمک‌های قابل حل و عناصر معدنی در محلول آب و خاک که منجر به تجمع نمک در ناحیه ریشه شده و گیاه را در جذب آب کافی از محلول خاک با مشکل مواجه می‌سازد. در چنین شرایطی برای دستیابی به عملکرد مطلوب، شناخت ویژگی‌های آب و خاک، اطلاع از رفتار گیاهان مختلف و سازوکارهای تحمل به شوری امری بنیادی است (هرناندز و همکاران، 2017). بر اساس مطالعات انجام شده یکی از راه‌های بهبود شرایط رشد و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش شوری استفاده از ریزسازواره‌های خاکزی است. ریزسازواره‌ها از سازوکارهای مختلف برای کاهش تنش شوری در محصولات کشاورزی استفاده می‌کنند (میلوشویچ و همکاران، 2012).

قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار از فراوان‌ترین قارچ‌ها در خاک‌های کشاورزی می‌باشند. این قارچ‌ها پنج تا 50 درصد زیست‌توده میکروبی خاک و پنج تا 36 درصد زیست‌توده خاک را تشکیل می‌دهند (پاترسون و همکاران، 2016). نقش قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار در افزایش توانایی گیاهان میزبان در جذب عناصر غذایی که نسبتاً غیر متحرک هستند مانند فسفر و تعدادی از عناصر کم مصرف از مهمترین اثرات مفید شاخته شده قارچ‌های میکوریزا می‌باشد (گویسو و همکاران، 2016). سازوکارهای گوناگونی می‌تواند موجب افزایش جذب فسفر توسط گیاهان میکوریزایی گردد که از بین آن‌ها می‌توان به: جستجوی حجم بیشتری از خاک، بالا بودن سرعت جذب فسفر توسط هیف قارچ‌های میکوریزا و افزایش انحلال فسفات خاک اشاره کرد (سلوراج و چلپن، 2006).

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] گروهی از ریزجانداران خاکزی هستند که می‌توانند به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و نمو گیاه اثر مفید داشته باشند (شیوانکومار و بهاکتاواتچالو، 2017). افزایش غیرمستقیم رشد گیاه زمانی اتفاق می‌افتد که این باکتری‌ها برخی از اثرات مضر میکروارگانیسم‌های پاتوژن (اغلب قارچ‌ها) را با استفاده از یک یا چندین مکانیسم حذف و یا تعدیل نمایند، در صورتی‌که افزایش مستقیم رشد گیاه معمولاً مستلزم تولید یک ترکیب خاص و مؤثر بر رشد گیاه و یا تسهیل در جذب عناصرغذایی مورد نیاز گیاه توسط این باکتری‌ها است (وانگ و همکاران، 2011). *سودوموناس*‌ها یکی از مهمترین باکتری‌های حل‌کننده فسفات در ریزوسفر گیاهان می‌باشند، که به دلیل طیف گسترده‌ای از صفات تحریک‌کننده رشد گیاه مانند تولید اکسین، تولید آنزیم ACC- دآمیناز، تولید سیدروفور، سالیسیلیک اسید و کیتیناز بطور مستقیم یا غیرمستقیم باعث افزایش رشد گیاه نیز می‌گردند (تراپت و همکاران، 2016). از طرفی برخی از گونه‌های *سودوموناس* به‌دلیل توانایی در توسعه میکوریزایی به عنوان باکتری کمک‌کننده میکوریز نیز شناخته می‌شوند (گاربی، 1994).

اسفرزه[2] گیاهی از تیره بارهنگ[3] می‌باشد. گیاهان تیره بارهنگ در نواحی مختلف کره زمین، بخصوص مناطق معتدل پراکنش دارند، اما منشاء اولیه آن‌ها هند و پاکستان است (چاکرابورتی و پاتل، 1992). گونه‌های اسفرزه در فلور ایران پراکنش طبیعی دارند (ایزدی دربندی و همکاران، 2018). اما پرداختن به کشت و کار آن‌ها درکشور پیشینه چندانی ندارد، در حال حاضر تولید این محصول، جزء 15 گونه اول دارویی قرار گرفته و پرداختن به زراعت آن از اولیت اقتصادی برخوردار است (بقالیان، 1387). ترکیبات موجود در دانه اسفرزه شامل 30-20 درصد موسیلاژ (آرابینوکسیلین)[4]، انواع آلکالوئیدها، آمینواسیدها، قندها، پلی‌ساکاریدها، اسیدهای چرب[5] لینولئیک[6]، اولئیک[7] و پالمتیک[8] و پروتئین می‌باشد (درماردروسین، 2001). در طب سنتی از این گیاه در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند فشار خون، مشکلات ادراری، بیماری‌های چشمی، اختلالات ریوی و قلبی، رماتیسم، نقرس، حساسیت‌های پوستی و غیره استفاده می‌شده است (زرگری، 1375). تحقیقات جدید پزشکی اثر بخشی این گیاه در درمان بیماری‌های مخاطی، روده‌ای، اسهال و ایجاد خاصیت ملینی را ثابت کرده است. از سوی دیگر پودر پوسته دانه اسفرزه به‌عنوان یک فیبر هیدروکلویید در درمان دیابت نوع دوم مؤثر است. نتایج پژوهش محققان نشان داد که فیبر اسفرزه تأثیر بسزایی در کاهش میزان کلسترول، چربی و قند خون داشته و باعث

1. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

2. *Plantago ovata* Forsk.
3. *Plantaginaceae*
4. Mucilage (Arabinoxylan)
5. Fatty acids
6. Linoleic acid
7. Oleic acid
8. Palmitic acid

کاهش خطر ابتلا به سرطان کلون داشت (نقدی بادی و همکاران، 1382).

در یک پژوهش شوری 8 دسی‌زیمنس بر متر به عنوان آستانه تحمل گیاه دارویی اسفرزه تعیین گردید (تومار و همکاران، 2005). همچنین افزایش شوری به 12 دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش درصد جوانه زنی، طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه و نسبت اندام‌هوایی به ریشه اسفرزه شد (صفرنژاد و همکاران، 1386). کاربرد قارچ میکوریزا و ازتوباکتر باعث افزایش کلونیزاسیون ریشه، تعداد پنجه در بوته، ارتفاع بوته، تعداد سنبله در بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، بیوماس و درصد موسیلاژ گیاه دارویی اسفرزه شد (قاسمی و همکاران، 1392). در تحقیقی دیگر کاربرد قارچ *Glomus fasciculatum* و *Azotobacter chroococcum* عملکرد بذر، پوسته دانه، ارتفاع بوته، تعداد سنبله در بوته، وزن هزار دانه، میزان جذب عناصر فسفر، پتاسیم و نیتروژن گیاه دارویی اسفرزه را افزایش داد (کومار و همکاران، 2011). اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا بر تعداد بذر در دانه، درصد اسانس بذر و آنتول، غلظت پتاسیم در برگ، ارتفاع بوته، وزن خشک بوته و تعداد چتر در بوته گیاه دارویی انسیون معنی‌دار بود. نتایج نشان داد در شرایط تنش شوری صفات کمی و کیفی گیاه انسیون با تلقیح قارچ میکوریزا بهبود یافت (معصومی زواریان و همکاران، 1394). در تحقیقی دیگر کاربرد ازتوباکتر و قارچ میکوریزا آربوسکولار منجربه افزایش طول ریشه و ساقه، وزن تر و خشک گیاه، کلروفیل کل و کارتینوئید، میزان NRA[1] و CA[2] و کاهش پرولین گیاه دارویی اسفرزه شد (هنیف و همکاران، 2014).

بر اساس برخی مطالعات، گیاه دارویی اسفرزه به شوری مقاومت داشته، بومی ایران بوده و از نظر اقتصادی و دارویی ارزشمند است. با توجه به نقش قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسفات‌های نامحلول در کاهش اثرات منفی تنش‌های محیطی، این آزمایش با هدف گزینش گونه‌های مناسب قارچ میکوریزا و باکتری حل-کننده فسفات‌های نامحلول در شرایط تنش شوری و بررسی اثرات متقابل این عوامل بر خصوصیات رشدی گیاه دارویی اسفرزه طراحی و اجراء شد.

1. Nitrate reductase activity
2. Carbonic anhydrase

مواد روش‌ها

انتخاب باکتری برتر

در این آزمایش به منظور غربال‌گری[3] و تعیین گونه گونه مقاوم باکتری حل کننده فسفات‌های نامحلول معدنی در شرایط تنش شوری، 40 باکتری از بانک ژن ریزجانداران گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران تهیه گردید. باکتری‌ها به‌طور تصادفی از خاک‌های مناطق مختلف، شامل خاک مزرعه کشاورزی مورد کاشت، مناطق آیش و مناطق بیابانی و شور جمع‌آوری شده بود. سپس این نمونه‌ها تحت شوری 40 دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفته تا باکتری‌های حساس به شوری از آن‌ها حذف شده، گونه‌های مقاوم باقی بمانند. در مرحله بعدی باکتری‌های به جا مانده با استفاده از محیط کشت اسپربر معدنی تحت آزمون نیمه کمی توان انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی در شوری 60 دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفتند (اسپربر، 1958). پلیت‌های تلقیح شده در دمای 28 درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. برای این ارزیابی (میزان نسبی انحلال فسفات)، نسبت قطر هاله (HD[4]) بر قطر کلنی (CD[5]) تعیین گردید سپس گونه برتر[6] که بالاترین توان حل فسفات معدنی در شوری 60 دسی زیمنس بر متر داشت انتخاب گردید (فضائلی و همکاران، 1389؛ مرچان و همکاران، 2003).

شناسایی باکتری

به‌منظور تکثیر ژن 16s rDNA از پرایمرهای عمومی 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') و 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT) استفاده شد. برنامه PCR با استفاده از آنزیم تگ پلیمراز انجام گرفت. دناتوراسیون اولیه به‌منظور جدا شدن دو رشته DNA الگو در دمای 95 درجه سلسیوس به مدت چهار دقیقه انجام گرفت. 30 سیکل شامل یک دقیقه دناتوراسیون در دمای 95 درجه سلسیوس انجام گرفت. اتصال پرایمرها به توالی DNA به مدت 30 ثانیه در دمای 60 درجه سلسیوس انجام گرفت. فرآیند طویل‌سازی 35 ثانیه در دمای 72 درجه سلسیوس انجام شد. طویل سازی نهایی در دمای 72 درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه انجام شد و نگهداری در دمای چهار درجه سانتیگراد صورت گرفت (مادئونو و همکاران، 2011). همچنین به-منظور نظارت بر کیفیت محصولات PCR، الکتروفورز آن‌ها بر روی ژل یک درصد انجام گرفت. سپس تعیین

3. Screening
4. Halo Diameter
5. Colony Diameter
6. Super Strain (Superior)

توالی DNA حاصل بر اساس آنالیز مولکولی به کمک نرم افزار Blast در پایگاه NCBI مورد بررسی قرار گرفته و تشابه آن‌ها با اطلاعات موجود در GenBank مقایسه و ثبت گردید.

آماده‌سازی زادمایه جدایه‌های برتر

جهت تهیه زادمایه از باکتری‌های منتخب، ابتدا باکتری‌ها بر روی محیط کشت جامد[1] (NA) بازکشت شدند. پس از گذشت 48 ساعت از رشد باکتری‌ها، یک لوپ از کشت تازه هر جدایه به درون یک ارلن 250 میلی‌لیتری حاوی 100 میلی لیتر از محیط کشت (NB[2]) مایه‌زنی و در دمای 28 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت با شدت 120 دور در دقیقه تکان داده شدند. سپس یکسان‌سازی جمعیت به نحوی صورت گرفت که سوسپانسیون باکتری (زاد مایه) دارای جمعیت تقریبی 1×10^8 سلول باکتری (cfu/ml[3]) بود. مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون کشت تازه هر جدایه به هر بذر اضافه و تلقیح گردید (مرچان و همکاران، 2003).

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش گلخانه‌ای در سال 1393 در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بیرجند بر روی گیاه دارویی اسفرزه (*Plantago ovata* Forsk.) انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود. عامل اول سه سطح شوری شامل 2/5 (به‌عنوان شاهد)، 5 و 10 دسی زیمنس بر متر، عامل دوم قارچ میکوریزا شامل عدم کاربرد قارچ (به‌عنوان شاهد) و گونه‌های *Funneliformis mosseae*، *Rhizophagus intraradices* و *Glomus fasciculatum* و عامل سوم باکتری حل‌کننده فسفات معدنی شامل دو سطح عدم کاربرد باکتری (به‌عنوان شاهد) و کاربرد باکتری برتر که در آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تهران تهیه شد.

برای اعمال تیمار تنش شوری ابتدا خاک مورد استفاده را آزمایش کرده و شوری آن تعیین شد. نتایج بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول 1 ارائه شده است. سپس با استفاده از کلرید و سولفات سدیم، کلسیم و منیزیم شوری خاک به‌میزان مورد نظر (2/5، 5 و 10 دسی زیمنس بر متر) رسانده شد. در این روش با توجه به شوری مورد نظر در هر سطح آزمایش، ابتدا کل مواد جامد محلول در آن شوری با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد، سپس با توجه به شوری خاک مورد استفاده میزان کل مواد جامد محلول برای رساندن خاک به شوری مورد نظر محاسبه گردید (بریندها و الانگو، 2012):

$$TDS\ (mg/L)=K\times EC\ (ds/m)$$

$$K= 640\ (EC\leq 5\ ds/m)$$

$$K= 800\ (EC>5\ ds/m)$$

در مرحله بعد محلول‌هایی با استفاده از نمک‌های نام برده با میزان کل مواد جامد محلول مورد نظر آماده شد. محلول نهایی با استفاده از افشانه به خاک اضافه شد و با دست ورز داده شد. در نهایت برای اطمینان از صحت انجام کار، شوری خاک اندازه‌گیری شد. در طول آزمایش آبیاری گلدان‌ها در حد ظرفیت مزرعه با توزین هر روزه گلدان‌ها و با آب مقطر صورت گرفت.

جهت تهیه زادمایه قارچ میکوریز آربسکولار از ماسه بادی به عنوان بستر کشت پایه و از سورگوم علوفه‌ای به عنوان گیاه تله‌ای استفاده شد. ابتدا گلدان‌های پلاستیکی 4 کیلوگرمی به مدت 12 ساعت در محلول هیپوکلرید سدیم 10 درصد ضد عفونی و سپس برای از بین بردن اثر هیپوکلرید سدیم چندین بار با آب به دقت شستشو داده شدند. ماسه بادی چندین بار با آب معمولی شستشو و بعد از خشک شدن در آون با مقداری خاک فقیر از نظر عناصر غذایی به نسبت وزنی 4 قسمت خاک و 1 قسمت ماسه مخلوط و در اتوکلاو با دمای 121 درجه سانتی گراد و فشار 1/3 اتمسفر به مدت نیم ساعت و در سه نوبت با فواصل زمانی 24 ساعت استریل و درون گلدان‌های ضد عفونی شده اضافه شد. قبل از کاشت مقدار کافی بذر سورگوم توسط الکل و محلول هیپوکلرید سدیم 10 درصد ضد عفونی سطحی و چند مرتبه با آب مقطر استریل شستشو گردید. بذرهای ضد عفونی سطحی شده در شرایط سترون و توسط پنس استریل شده بر روی پلیت‌های محتوی آب آگار جامد شده اضافه و سپس در انکوباتور با دمای 26-24 درجه سانتی گراد قرار داده شدند تا جوانه‌دار شوند. بخشی از خاک سطحی هر یک از گلدان‌های اتوکلاو شده برداشته شد و در عمق 10 سانتی‌متری از سطح بستر، مقدار 150 گرم از زادمایه قارچ میکوریزا (حاوی اسپور، ریشه‌های کلونیزه شده گیاه و خاک بستر) پخش گردید و با لایه‌ای از خاک بستر پوشانده شد. زادمایه‌های قارچ میکوریزا از شرکت زیست فناور توران تهیه شد. به منظور کاهش احتمال آلودگی، سطح گلدان‌ها با لایه‌ای به ضخامت یک سانتی‌متر از شن استریل پوشانیده شد. سپس در هر گلدان 15عدد بذر مورد کاشت قرار گرفت. گلدان‌ها به مدت 4 ماه در گلخانه با دمای 28 درجه سانتی‌گراد در روز و 20 درجه

1. Nutrient Agar
2. Nutrient Broth
3. Colony Forming Units

سانتی‌گراد در شب، طول دوره روشنایی 14-12 ساعت و مقدار نور 10 هزار لوکس نگهداری شدند. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی پس از خشک شدن خاک و گیاهان، قسمت هوایی گیاهان حذف گردید. محتویات هر گلدان مخلوط و یکنواخت شده و درون کیسه‌های پلاستیکی قرار داده و تا زمان شروع آزمون در یخچال در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

جدول 1- برخی از ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی خاک مورد آزمایش

pH	هدایت الکتریکی	نیتروژن کل	پتاسیم قابل جذب	منگنز	روی	آهن	فسفر قابل جذب	مس
	دسی زیمنس بر متر	درصد	قسمت در میلیون					
7/12	0/93	0/08	210	1/96	0/63	2/65	8	0/25

کلر	بیکربنات	سدیم	منیزیم	کلسیم	بافت
میلی‌گرم بر کیلوگرم					
18	9	92	38	52	لومی شنی

جهت اعمال تیمار قارچ میکوریز آربسکولار، در هنگام کشت بذور حدود پنج تا هفت سانتی‌متر از قسمت بالایی خاک هر گلدان برداشته شد و در واحدهای آزمایشی که قرار بود تیمار قارچ میکوریزا مورد بررسی قرار گیرد ابتدا 50 گرم خاک حاوی مایه تلقیح قارچ به هر گلدان اضافه شد و سپس در هر گلدان 15 عدد بذر مورد کاشت قرار گرفت. تعداد گلدان‌ها در هر تکرار 24 عدد و در مجموع 72 گلدان بود. در واحدهایی از آزمایش که باکتری حل‌کننده فسفر مورد استفاده قرار گرفت، بذرها قبل از کاشت با یک میلی‌لیتر از زادمایه باکتری با جمعیت 1×10^{8} cfu/ml^{-1} مایه‌زنی شدند. گلدان‌ها در مرحله چهار برگی گیاهچه‌ها تنک شد و در نهایت پنج گیاهچه باقی ماند. در تمام مدت آزمایش، کنترل علف‌های هرز بصورت وجین دستی بود و هیچگونه علف‌کشی مورد استفاده قرار نگرفت.

در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک برای محاسبه وزن خشک ساقه و ریشه ابتدا گیاه از خاک گلدان خارج و به دو بخش ریشه و اندام هوایی تقسیم شد. سپس ریشه‌ها با استفاده از آب جاری شسته شدند و نمونه‌ها به مدت 72 ساعت در دمای 75 درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس وزن خشک هر نمونه اندازه‌گیری شد. با استفاده از داده‌های وزن خشک ریشه و ساقه نسبت وزن خشک ریشه به ساقه محاسبه شد. برای محاسبه پاسخ رشد میکوریزایی از رابطه زیر استفاده شد (هتریک و همکاران، 1992):

$$Mycorrhizal\ growth\ response = \frac{AM - NM}{NM} \times 100$$

(AM) = وزن خشک گیاه میکوریزایی

(NM) = وزن خشک گیاه غیرمیکوریزایی

نتایج و بحث

شناسایی باکتری

بررسی نتایج حاصل از اثر شوری 40 دسی زیمنس بر متر بر باکتری‌ها نشان داد واکنش جدایه‌های مختلف باکتری به تنش شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین نتایج آزمون نیمه کمی انحلال فسفات معدنی بر اساس نسبت قطر هاله (HD) بر قطر کلنی (CD) نشان داد جدایه‌های باکتریایی واکنش متفاوتی به تنش شوری داشته‌اند، بطوریکه در شوری 40 دسی زیمنس بر متر جدایه 6b3 بالاترین توانایی حل فسفات معدنی با نسبت قطر هاله شفاف حاصل از انحلال فسفات به قطر کلونی به‌میزان 9/3 و جدایه 7b3 بدون توانایی رشد کمترین توانایی حل فسفات معدنی را از خود نشان داده است (جدول 3). بررسی اثر شوری 60 دسی زیمنس بر متر بر جدایه‌های باقیمانده باکتری نشان داد شوری اثر معنی‌داری بر جدایه-های باکتری داشته است (جدول 2)

مقایسه میانگین نتایج آزمون نیمه کمی انحلال فسفات معدنی نشان داد افزایش سطح تنش شوری موجب کاهش توانایی حل فسفات معدنی شده است (جدول 3). نتایج نشان داد 24 جدایه باکتری قادر به رشد در شوری 60 دسی زیمنس بر متر نبودند (جدول 3). بیشترین توانایی حل فسفات معدنی در شوری 60 دسی زیمنس بر متر به جدایه 8b2 با نسبت قطر قطر هاله شفاف حاصل از انحلال فسفات به قطر کلونی به‌میزان 2/7 تعلق داشت و این جدایه برای شناسایی و تکثیر در مراحل بعدی آزمایش انتخاب شد (جدول 3). نتایج بررسی نشان داد علی‌رغم آنکه جدایه 6b3 بیشترین توانایی حل فسفات معدنی در شوری 40 دسی زیمنس بر متر از خود نشان داد لکن با افزایش شوری به 60 دسی

زیمنس بر متر برتری خود را در حل فسفات از دست داد..

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس اثر شوری بر توانایی حل فسفات معدنی باکتری‌ها در شوری 60 دسی‌زیمنس بر متر

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		60 دسی زیمنس بر متر
باکتری	38	3/3**
خطای آزمایشی	84	0/03
کل	122	1/05
ضریب تغییرات (درصد)		22

ns: غیرمعنی‌دار؛ * و ** معنی‌دار به‌ترتیب در سطوح احتمال پنج و یک درصد

در مقابل جدایه 8b2 علی‌رغم آنکه در شوری 40 دسی زیمنس بر متر جدایه برتر در حل فسفات معدنی نبود لکن به علت آنکه با افزایش شوری به 60 دسی زیمنس بر متر توانایی حل فسفات معدنی آن کمتر از دیگر جدایه‌ها کاهش یافت و در نهایت توانایی بالاتری در حل فسفات معدنی در شوری 60 دسی زیمنس بر متر از خود نشان داد (جدول 3).

مقایسه توالی 16S rRNA و دیگر باکتری‌ها در پایگاه بانک ژن NCBI انجام شد. توالی RNA ریبوزومی 16s جدایه 8b2 99 درصد شباهت با توالی‌های *Pseudomonas fluorescens* داشت. روی هم‌اندازی متعدد توالی‌ها و آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد که سوش جدا شده به *Pseudomonas fluorescens* نزدیک‌تر بود (شکل 1). محققان دیگری نیز به همین روش اقدام به شناسایی باکتری‌های خاکزی با کارایی بالا در حل فسفات و مقاوم به تنش‌های محیطی کرده‌اند که به نتایج مشابهی دست یافته‌اند (ویاس و همکاران، 2009؛ رفاکی و همکاران، 2015؛ احسان و همکاران، 2016).

وزن خشک ساقه

تجزیه واریانس نتایج نشان داد تنش شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار، باکتری حل‌کننده فسفات معدنی، اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار، تنش شوری و باکتری حل کننده فسفات معدنی و اثر متقابل تنش شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل-کننده فسفات معدنی در سطح احتمال 1 درصد اثر معنی‌داری بر وزن خشک ساقه داشت (جدول 4).

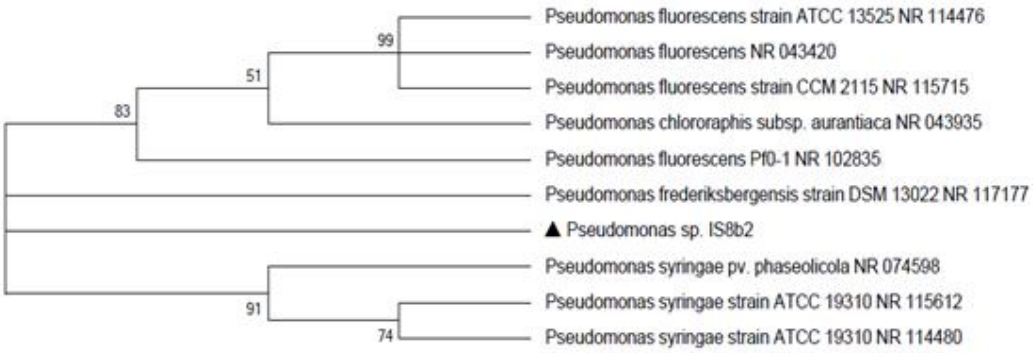
مقایسه میانگین اثرمتقابل تنش شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده فسفات معدنی نشان داد بیشترین وزن خشک ساقه در ترکیب تیماری S1M2B0 به‌میزان 3/9 گرم در گیاه حاصل شد. وزن خشک ساقه در این ترکیب تیماری تفاوت آماری معنی‌داری با ترکیب تیماری S1M1B1، S1M2B1 ، S1M3B1 نداشت (جدول 5). این نتایج نشان داد در شوری کم تفاوت آماری معنی‌داری بین اثر گونه‌های مختلف ریزسازواره‌های خاکزی بر وزن خشک ساقه وجود نداشت. در شوری S1 کمترین وزن خشک ساقه به تیمار M0B0 به‌میزان 3/1 گرم در گیاه تعلق داشت.

نکته جالب آن بود که میزان وزن خشک ساقه در تمامی ترکیبات تیماری S2 که قارچ میکوریزا آربوسکولار استفاده شده بود بیش از ترکیب تیماری S1M0B0 باکتری بود. کمترین وزن خشک ساقه در بین تمامی ترکیبات تیماری به ترکیب تیماری S3M0B0 به‌میزان 1/65 گرم در گیاه تعلق داشت (جدول 5). یافته‌های این پژوهش نشان داد از یک طرف افزایش تنش شوری موجب کاهش وزن خشک ساقه شده است و از طرف دیگر کاربرد ریزسازوره‌های خاکزی موجب کاهش اثرات منفی تنش شوری و افزایش وزن خشک ساقه شد، به‌طوریکه ترکیبات تیماری که در آن‌ها قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده فسفات معدنی به‌کار رفته بود بیشترین وزن خشک ساقه را داشتند.

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس آزمون نیمه کمی انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی (قطر هاله\قطر کلونی)

40 دسی زیمنس بر متر				60 دسی زیمنس بر متر			
جدایه باکتری	قطر هاله\قطر کلونی	جدایه باکتری	قطر هاله\قطر کلونی	جدایه باکتری	قطر هاله\قطر کلونی	جدایه باکتری	قطر هاله\قطر کلونی
6b3	9/3a	2b2	6defg	6b3	2cdef	2b2	1/9efg
7b1	8/7a	4b1	6defg	7b1	2/2bcde	4b1	0i
17b1	8/3ab	6b1	6defg	17b1	0i	6b1	0i
17b3	7/3bc	8b3	6defg	17b3	0i	8b3	0i
15b1	7cd	11b2	5/7efg	15b1	2/1bcdef	11b2	0i
7b2	7cd	12b2	5/7efg	7b2	0i	12b2	0i
13b3	6/7cde	1b1	5/7efg	13b3	2defg	1b1	0i
13b2	6/3cde	8b1	5/7efg	13b2	2/3bc	8b1	2/3b
1b2	6/3cde	9b1	5/7efg	1b2	0i	9b1	0i
2b1	6/3cde	13b1	5/3fg	2b1	1/8fg	13b1	0i
3b1	6/3cde	12b3	5gh	3b1	1/9efg	12b3	2/1bcdef
3b3	6/3cde	4b2	5gh	3b3	1/4h	4b2	1/7g
5b2	6/3cde	6b2	5gh	5b2	0i	6b2	0i
8b2	6/3cde	5b3	4hi	8b2	2/7a	5b3	0i
9b2	6/3cde	4b3	3/7i	9b2	0i	4b3	0i
10b3	6defg	12b1	3/5i	10b3	0i	12b1	0i
11b3	6defg	10b1	3/3i	11b3	2/3bcd	10b1	1/7g
15b2	6defg	10b2	3/3i	15b2	1/9efg	10b2	0i
17b2	6defg	9b3	3i	17b2	0i	9b3	0i
1b3	6defg	7b3	0j	1b3	0i	7b3	0i

ستون‌های با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD محافظت شده در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل 1- درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده از ژن RNA ریبوزومی 16s جدایه 8b2 و باکتری‌های خانواده سودوموناس

جدول 4- میانگین مربعات مولفه‌های رشدی در تجزیه واریانس داده‌های گیاه دارویی اسفرزه

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	ریشه به ساقه	پاسخ رشد میکوریزایی	درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها
		میانگین مربعات				
بلوک	2	0/01 ns	0/0009 ns	0/0002 ns	13/8 ns	2/76 ns
تنش شوری	2	7/25**	0/508**	0/0007 ns	6187/**	1603 **
میکوریزا	3	3/3**	0/647**	0/018**	6619**	21793 **
باکتری	1	0/96**	0/001 ns	0/004**	257**	147 **
تنش شوری×میکوریزا	6	0/15**	0/019**	0/001**	985**	281 **
تنش شوری×باکتری	2	0/05 **	0/0008 ns	0/0009 *	162 **	0/735 ns
میکوریزا×باکتری	3	0/01 ns	0/012 **	0/001**	50/1 ns	21/11 ns
شوری×میکوریزا×باکتری	6	0/02 **	0/004 ns	0/0005 ns	33/0 ns	3/84 ns
خطا	46	0/004	0/001	0/0002	27/0	8/61
ضریب تغییرات (درصد)		2/1	5/5	6/4	19/2	5/6

ns، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد

نتایج تحقیقات مؤید یافته‌های این پژوهش در زمینه اثرگذاری مثبت ریزسازواره‌های خاکزی بر وزن خشک ساقه گیاه در شرایط تنش شوری می‌باشد (سینگ و همکاران، 2017). شوری با جلوگیری از جذب آب و عناصر غذایی ضروری، افزایش ورود عناصر مضر همچون Na^+ و Cl^-، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و تخریب غشاء سلولی و ساختار کلروپلاست گیاه منجر به کاهش تولید در گیاه می‌شود (فهد و همکاران، 2015؛ نگلرو و همکاران، 2017). از طرف دیگر قارچ‌های میکوریزا با افزایش سطح جذب آب و عناصر غذایی ضروری، جلوگیری از ورود عناصر مضر به گیاه، تحریک تولید آنتی اکسیدان‌های گیاهی و حذف گونه‌های فعال اکسیژن و باکتری حل کننده فسفات معدنی با افزایش تولید هورمون‌های گیاهی مؤثر در رشد و افزایش فراهمی عناصر غذایی به خصوص فسفر منجربه افزایش تولید و رشد گیاه می‌شوند (پاترسون و همکاران، 2016؛ ساکسنا و همکاران، 2017؛ ندیم و همکاران، 2017). با افزایش تنش شوری اثرگذاری کاربرد ریزسازواره‌های خاکزی نمایان‌تر شد، به‌طوری‌که تفاوت بین بیشترین و کمترین وزن خشک ساقه در شوری 2/5 دسی‌زیمنس بر متر 21 درصد بود اما با افزایش تنش شوری تفاوت بین بیشترین و کمترین وزن خشک ساقه در شوری 10 دسی‌زیمنس بر متر به 46 درصد رسید. از آنجاکه وزن خشک ساقه شاخص بسیار مهمی در ارزیابی واکنش گیاه به تیمارهای آزمایشی و میزان رشد آن می‌باشد، لذا با توجه به واکنش گیاه می‌توان نتیجه گرفت کاربرد ریزسازواره‌های خاکزی می‌تواند شرایط رشدی گیاه را بالاخص در شرایط تنش شوری بهبود بخشد.

وزن خشک ریشه

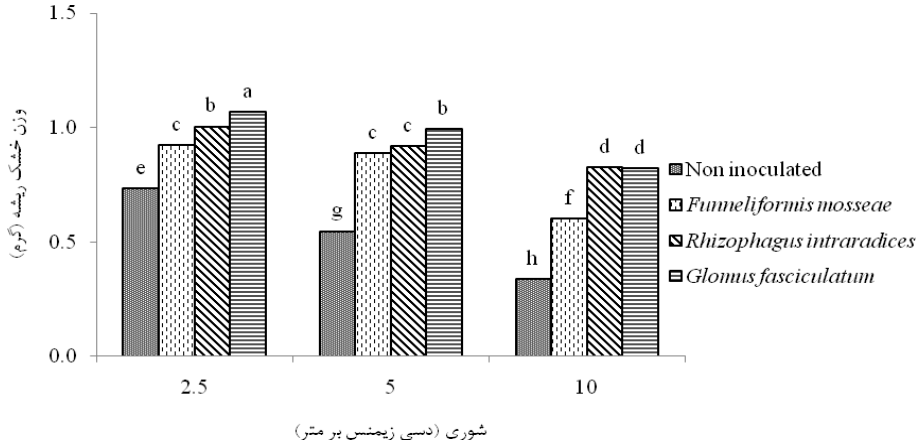
تجزیه واریانس نتایج نشان داد تنش شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار، اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار و اثر متقابل قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده فسفات معدنی اثر معنی‌داری در سطح احتمال 1 درصد بر وزن خشک ریشه گیاه داشته است (جدول 4).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار نشان داد بیشترین وزن خشک ریشه در ترکیب تیماری S1M1 به‌میزان 1/07 گرم در گیاه و کمترین وزن خشک ریشه در ترکیب تیماری S3M0 به‌میزان 0/34 گرم در گیاه حاصل شد (شکل 2). در سطوح مختلف شوری کمترین وزن خشک ریشه به تیمار عدم مصرف قارچ میکوریزا آربوسکولار تعلق داشت. بررسی نتایج نشان داد در تمامی سطوح شوری کمترین میزان وزن خشک ریشه به عدم کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار تعلق داشت و با کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار وزن خشک ریشه گیاه افزایش یافت (شکل 2). تحقیقات مختلفی اثر مثبت قارچ میکوریزا آربوسکولار را بر تحریک رشد و وزن خشک ریشه گیاهان گزارش کرده‌اند (اسکاگل و همکاران، 2017؛ پاندی و گارگ، 2017). در سطوح 2/5 و 5 دسی‌زیمنس بر متر کاربرد قارچ *Glomus fasciculatum* بیشترین وزن خشک ریشه را حاصل نمود اما در شوری 10 دسی‌زیمنس بر متر کاربرد قارچ *Rhizophagus intraradices* بیشترین وزن خشک ریشه را حاصل نمود (شکل 2).

جدول 5- اثر متقابل تنش شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل‌کننده فسفات معدنی بر وزن خشک ساقه گیاه دارویی اسفرزه

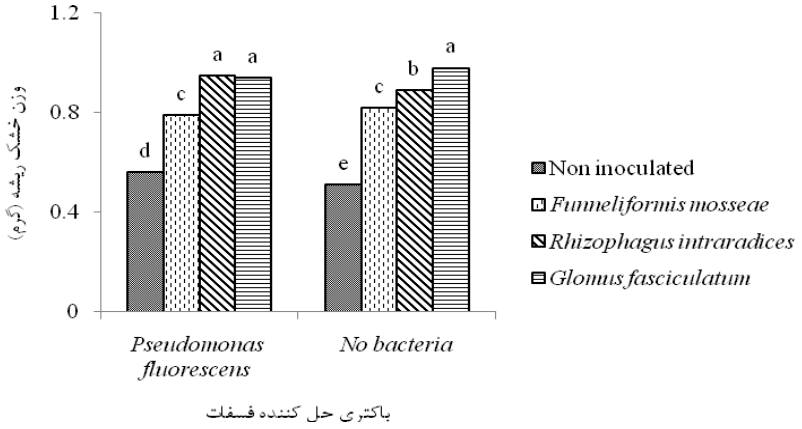
شوری (دسی زیمنس بر متر)	تیمار			وزن خشک ساقه (گرم در گیاه)
	قارچ میکوریزا آربوسکولار		باکتری حل‌کننده فسفات معدنی	
2/5 (S1)	(M0) عدم مصرف قارچ میکوریزا	(B1)	+	3/23 g
	(M0) عدم مصرف قارچ میکوریزا	(B0)	-	3/10 h
	(M1) گلوموس فسیکولاتوم	(B1)	+	3/81 ab
	(M1) گلوموس فسیکولاتوم	(B0)	-	3/59 def
	(M2) ریزوفاگوس اینترادیسس	(B1)	+	3/84 a
	(M2) ریزوفاگوس اینترادیسس	(B0)	-	3/9 a
	(M3) فونلیفورمیس موسه	(B1)	+	3/86 a
	(M3) فونلیفورمیس موسه	(B0)	-	3/62 cde
5 (S2)	(M0) عدم مصرف قارچ میکوریزا	(B1)	+	2/97 ij
	(M0) عدم مصرف قارچ میکوریزا	(B0)	-	2/55 l
	(M1) گلوموس فسیکولاتوم	(B1)	+	3/66 cd
	(M1) گلوموس فسیکولاتوم	(B0)	-	3/48 f
	(M2) ریزوفاگوس اینترادیسس	(B1)	+	3/72 bc
	(M2) ریزوفاگوس اینترادیسس	(B0)	-	3/59 de
	(M3) فونلیفورمیس موسه	(B1)	+	3/52 ef
	(M3) فونلیفورمیس موسه	(B0)	-	3/28 g
10 (S3)	(M0) عدم مصرف قارچ میکوریزا	(B1)	+	1/88 n
	(M0) عدم مصرف قارچ میکوریزا	(B0)	-	1/65 o
	(M1) گلوموس فسیکولاتوم	(B1)	+	3/06 hi
	(M1) گلوموس فسیکولاتوم	(B0)	-	2/77 k
	(M2) ریزوفاگوس اینترادیسس	(B1)	+	3/29 g
	(M2) ریزوفاگوس اینترادیسس	(B0)	-	2/87 jk
	(M3) فونلیفورمیس موسه	(B1)	+	2/65 l
	(M3) فونلیفورمیس موسه	(B0)	-	2/31 m

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) محافظت شده، به لحاظ آماری در سطح احتمال 5 درصد با هم تفاوتی ندارند.



شکل 2- اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر وزن خشک ریشه

بررسی نتایج اثر متقابل قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده فسفات معدنی نشان داد بیشترین وزن خشک ریشه در ترکیب تیماری M1B0 به‌میزان 0/98 گرم در گیاه تعلق داشت. این میزان وزن خشک ریشه تفاوت آماری معنی‌داری با ترکیب تیماری کاربرد M2B1 و ترکیب M1B1 نداشت. کمترین وزن خشک ریشه با 0/51 گرم در گیاه به ترکیب تیماری M0B0 تعلق داشت (شکل 3). در مجموع وزن خشک تجمعی ریشه ترکیبات تیماری دریافت کننده باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* بیشتر از وزن خشک تجمعی ترکیبات تیماری عدم دریافت باکتری بود (3/24 گرم در گیاه وزن خشک در مقایسه با 3/2 گرم در گیاه وزن خشک) (شکل 3). این نتایج از طرفی بیانگر اثر مثبت باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* بر وزن خشک ریشه گیاه دارویی اسفرزه می‌باشد و از طرف دیگر نشان دهنده اثر مثبت و هم‌افزایی قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده فسفات معدنی بر تولید ریشه گیاه دارویی اسفرزه است. با توجه به نقش بسیار مهم ریشه گیاه در جذب آب و عناصر غذایی بالاخص در شرایط تنش محیطی می‌توان نتیجه گرفت کاربرد همزمان قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده فسفات معدنی می‌تواند منجر به توسعه رشد و افزایش وزن خشک ریشه گیاه دارویی اسفرزه شود. محققان دیگری نیز اثرگذاری مثبت قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری محرک رشد را بر وزن خشک ریشه گزارش کردند (پاتاک و همکاران، 2017؛ ویسن و همکاران، 2017).



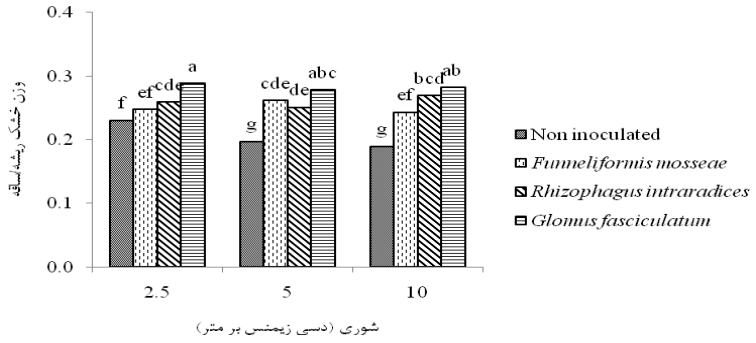
شکل 3- اثر متقابل باکتری حل کننده فسفات معدنی و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر وزن خشک ریشه

نسبت ریشه به ساقه

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌های نسبت وزن خشک ریشه به ساقه نشان داد اثر قارچ میکوریزا آربوسکولار، باکتری حل‌کننده فسفات معدنی، اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار و قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری حل کننده فسفات معدنی در سطح احتمال 1 درصد و اثر متقابل تنش شوری و باکتری حل کننده فسفات معدنی در سطح 5 درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول 4). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار نشان داد بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در ترکیب تیماری S1M1 به‌میزان 0/29 حاصل شد. نتایج نشان داد با کاربرد قارچ *Glomus fasciculatum* نسبت وزن خشک ریشه به ساقه علی‌رغم کاهش اندک تفاوت معنی‌داری با افزایش شوری به 5 و 10 دسی زیمنس بر متر نیافته است.

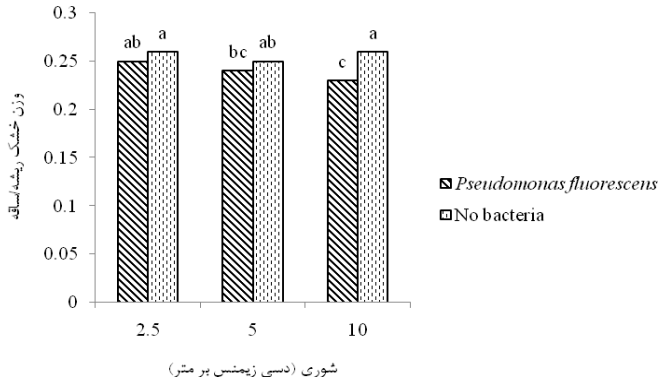
کمترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در ترکیب تیماری S3M0 به‌میزان 0/19 حاصل شد (شکل 4). بررسی نتایج نشان داد کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار موجب افزایش نسبت ریشه به ساقه شده است. به عبارت دیگر قارچ میکوریزا آربوسکولار رشد ریشه را بیش از ساقه گیاه تحریک کرده است از طرفی با توجه به کاهش وزن خشک ساقه گیاه با افزایش تنش شوری می‌توان گفت کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار توانسته است اثرات منفی تنش شوری بر رشد ریشه گیاه را کاهش دهد. نتایج نشان داد در ترکیباتی که قارچ میکوریزا آربوسکولار به کار رفته بود با افزایش شوری تفاوت آماری معنی‌داری

در نسبت وزن خشک ریشه به ساقه به وجود نیامد اما در ترکیب تیماری که قارچ میکوریزا آربوسکولار به کار نرفته بود نسبت وزن خشک ریشه به ساقه کاهش یافت. محققان مختلفی اثرگذاری قارچ میکوریزا آربوسکولار را بر افزایش نسبت وزن خشک ریشه به ساقه گیاهان و کاهش اثر منفی تنش شوری بر نسبت وزن خشک ریشه به ساقه را گزارش کرده‌اند (پوراس سوریانو و همکاران، 2009؛ وانگ و همکاران، 2011).



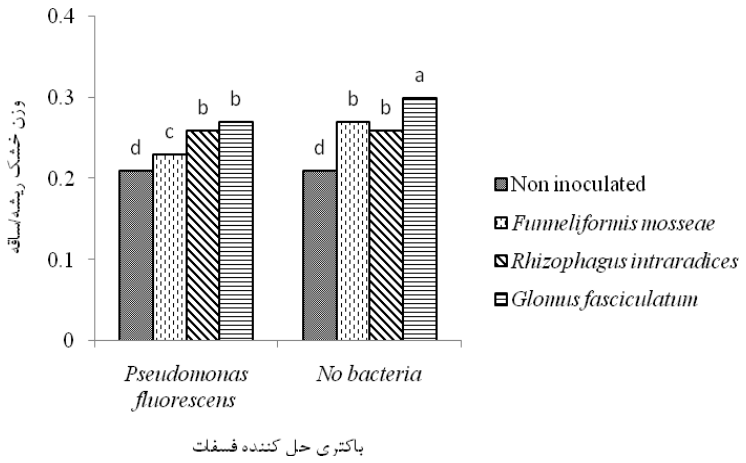
شکل 4- اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر نسبت وزن خشک ریشه به ساقه

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و باکتری حل کننده فسفات معدنی نشان داد بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در ترکیب تیماری S3B0 و S1B0 به میزان 0/26 حاصل شد. این نسبت وزن خشک ریشه به ساقه تفاوت آماری معنی‌داری با ترکیب تیماری S2B0 و ترکیب تیماری شوری S1B1 نداشت. کمترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در ترکیب تیماری S3B1 به میزان 0/23 حاصل شد (شکل 5). نتایج نشان داد از لحاظ عددی در همه سطوح شوری با کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* نسبت وزن خشک ریشه به ساقه گیاه دارویی اسفرزه کاهش یافت. این امر به این علت بود که کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* به عنوان یک باکتری محرک رشد، رشد ساقه و اندام هوایی گیاه را بیش از ریشه گیاه تحریک نموده است و لذا باعث کاهش نسبت وزن خشک ریشه به ساقه گیاه شده است. این امر عکس فعالیت قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار بود که در تمامی سطوح شوری کاربردشان موجب افزایش نسبت وزن خشک ریشه به ساقه شده بود، به عبارت دیگر قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار رشد ریشه گیاه دارویی اسفرزه را بیش از ساقه گیاه تحریک کرده بودند. محققان دیگری نیز کاهش نسبت وزن خشک ریشه به ساقه به‌واسطه مصرف باکتری‌های محرک رشد در گیاهان را گزارش کرده‌اند (وانگ و همکاران، 2011).



شکل 5- اثر متقابل تنش شوری و باکتری حل کننده فسفات معدنی بر نسبت وزن خشک ریشه\ساقه

مقایسه میانگین نتایج اثر متقابل باکتری حل کننده فسفات معدنی با قارچ میکوریزا آربوسکولار نشان داد بیشترین نسبت وزن ریشه به ساقه در ترکیب تیماری M1B0 به‌میزان 0/3 حاصل شده است. کمترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در ترکیب تیماری M0B1 و ترکیب تیماری M0B0 به‌میزان 0/21 حاصل شد (شکل 6). دو ترکیب تیماری دارای کمترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه نشان داد فارغ از کاربرد یا عدم کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی کمترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه به ترکیبی تیماری تعلق داشت که در آن قارچ میکوریزا آربوسکولار نبود. این نتایج اهمیت نقش قارچ میکوریزا آربوسکولار در افزایش رشد ریشه و در نتیجه افزایش نسبت وزن خشک ریشه به ساقه نشان می‌دهد.

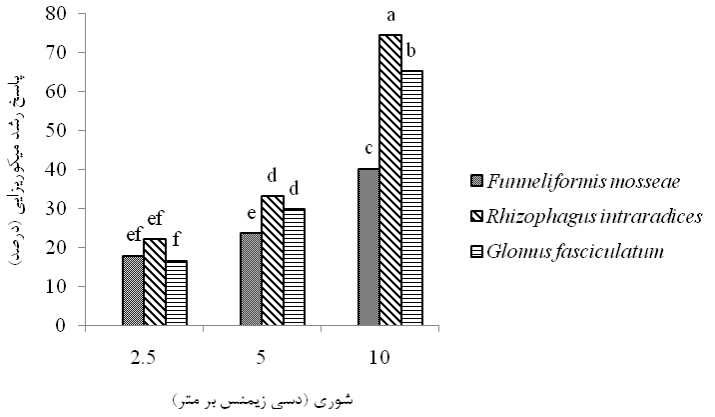


شکل 6- اثر متقابل باکتری حل کننده فسفات معدنی و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر نسبت وزن خشک ریشه به ساقه

پاسخ رشد میکوریزایی

تجزیه واریانس نتایج نشان داد تنش شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار، باکتری حل کننده فسفات معدنی، اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار و اثر متقابل تنش شوری و باکتری حل کننده فسفات معدنی اثر معنی‌داری در سطح احتمال 1 درصد بر پاسخ رشد میکوریزایی قارچ میکوریزا آربوسکولار داشته‌اند (جدول 4).

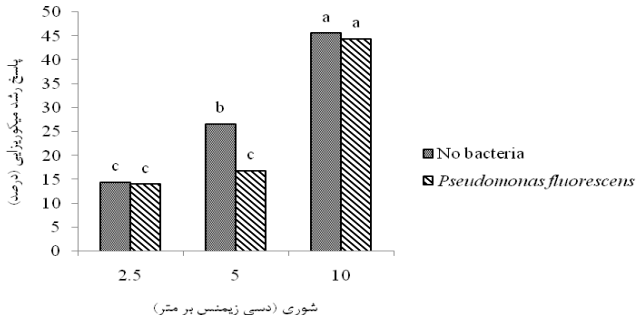
مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار نشان داد بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی قارچ میکوریزا آربوسکولار در ترکیب تیماری S3M2 به‌میزان 76/7 درصد و کمترین پاسخ رشد میکوریزایی بهره‌گیری از قارچ میکوریزا آربوسکولار در ترکیب تیماری S1M1 به‌میزان 16/8 درصد بود (شکل 7). بررسی نتایج نشان داد بهره‌گیری از قارچ میکوریزا آربوسکولار در همه سطوح شوری با افزایش پاسخ رشد میکوریزایی همراه بوده است، لکن پاسخ رشد میکوریزایی با توجه به سطح شوری و گونه قارچ متفاوت بود. نتایج بیانگر آن بود که پاسخ رشد میکوریزایی گونه‌های قارچ میکوریزا آربوسکولار در شوری 2/5 دسی‌زیمنس بر متر تفاوت آماری معنی‌داری باهم نداشت اما با افزایش شوری علاوه بر افزایش پاسخ رشد میکوریزایی بهره‌گیری از قارچ میکوریزا آربوسکولار تفاوت پاسخ رشد میکوریزایی گونه‌های مختلف قارچ معنی‌دار شد، لکن در همه سطوح شوری قارچ *Rhizophagus intraradices* بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی را از خود نشان داد. مثلا قارچ *Funneliformis mosseae* علی‌رغم آنکه پاسخ رشد میکوریزایی در سطح دیگر گونه‌های قارچ میکوریزا آربوسکولار در سطح شوری 2/5 دسی‌زیمنس بر متر نشان داد لکن با افزایش شوری علی‌رغم افزایش پاسخ رشد میکوریزایی، در سطح پایین‌تری نسبت به دیگر گونه‌های قارچ میکوریزا آربوسکولار قرار گرفت به طوریکه در شوری 10 دسی‌زیمنس بر متر پاسخ رشد میکوریزایی آن نسبت به قارچ *Rhizophagus intraradices* 36/3 درصد کمتر بود (شکل 7). تحقیقات محققان مختلفی بیانگر افزایش پاسخ رشد میکوریزایی بهره‌گیری از قارچ میکوریزا آربوسکولار در شرایط تنش شوری می‌باشد لکن کارایی متفاوتی از گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا آربوسکولار را گزارش کردند (ایساهیبی و همکاران، 2017؛ ساکسنا و همکاران، 2017).



شکل 7- اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر پاسخ رشد میکوریزایی

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و باکتری حل کننده فسفات معدنی نشان داد بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی در ترکیب تیماری S3B1 به‌میزان 45/6 درصد حاصل شد. کمترین پاسخ رشد میکوریزایی در ترکیب تیماری S1B1 به‌میزان 14 درصد بود (شکل 8). نتایج نشان داد کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* باعث افزایش پاسخ رشد میکوریزایی شده است. بررسی‌ها نشان داد با افزایش شوری پاسخ رشد میکوریزایی کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* افزایش یافت. از آن‌جاکه نتایج نشان داد افزایش شوری موجب کاهش وزن خشک ساقه گیاه شده است و از طرفی کاربرد ریزسازواره‌های خاکزی وزن خشک ساقه گیاه را افزایش داده است (جدول 5)، لذا سنجه پاسخ رشد میکوریزایی که یک سنجه نسبی است در شرایط کاربرد باکتری همزمان با افزایش شوری روند افزایشی داشته است. هر چند در نهایت بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* 31/1 درصد کمتر از بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار بود. این نتایج نشان داد اثرگذاری قارچ میکوریزا آربوسکولار در شرایط تنش شوری بسیار بیشتر از باکتری حل کننده فسفات معدنی می‌باشد. محققان گوناگونی اثر گذاری کاربرد باکتری‌های محرک رشد در افزایش میزان رشد گیاهان را گزارش کردند (سینگ و همکاران، 2017؛ شیوانکومار و بهاکتاواتچالو، 2017).

نکته قابل توجه در این پژوهش این بود که، علی‌رغم آن‌که پاسخ رشد میکوریزایی به‌واسطه کاربرد و عدم کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* در شوری 2/5 و 5 دسی-زیمنس بر متر تفاوت آماری معنی‌داری با هم نداشت، ولی در شوری 5 دسی‌زیمنس بر متر، کاربرد باکتری موجب کاهش پاسخ رشد میکوریزایی شد (شکل 8). در توضیح این پدیده می‌توان گفت، از آنجاکه نتایج نشان داد، افزایش شدت تنش شوری موجب افزایش پاسخ رشد میکوریزایی گیاه شده است (شکل 7)، لذا کاهش پاسخ رشد میکوریزایی به‌واسطه کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* را می‌توان به کاهش شدت اثرات تنش بر گیاه به‌واسطه کاربرد باکتری نسبت داد.



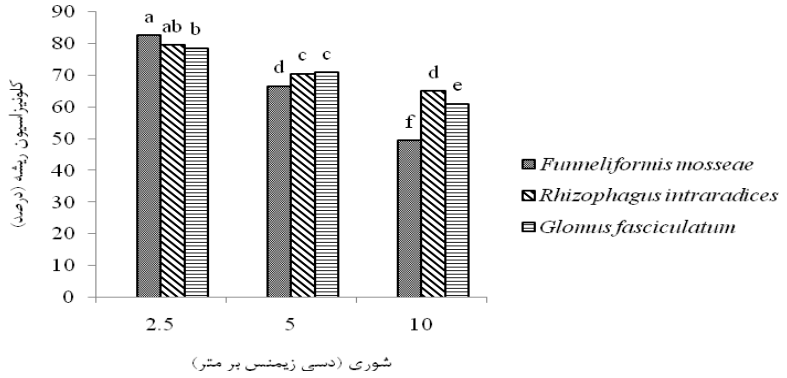
شکل 8- اثر متقابل تنش شوری و باکتری حل کننده فسفات معدنی بر پاسخ رشد میکوریزایی

درصد کلونیزاسیون ریشه

تجزیه واریانس نتایج نشان داد تنش شوری، قارچ میکوریزا آربوسکولار، باکتری حل کننده فسفات معدنی و اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار در سطح احتمال 1 درصد بر درصد کلونیزاسیون ریشه معنی‌دار بود (جدول 4).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا نشان داد بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه به‌میزان 82/7 درصد در ترکیب تیماری S1M3 حاصل شد. البته این میزان تفاوت آماری معنی‌داری با ترکیب تیماری شوری S1M2 نداشت (شکل 9). این میزان درصد کلونیزاسیون ریشه تفاوت آماری معنی‌داری با ترکیب تیماری S1M1 نداشت (شکل 9). با افزایش شوری درصد کلونیزاسیون ریشه کاهش یافت. به‌طوریکه کمترین درصد کلونیزاسیون ریشه در ترکیب شوری S3M3 به‌میزان 49/5 درصد حاصل شد.

در شوری 10 دسی‌زیمنس بر متر بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه به قارچ *Rhizophagus intraradices* به‌میزان 65/1 درصد تعلق داشت (شکل 9). روند کاهشی درصد کلونیزاسیون ریشه با افزایش میزان شوری در تحقیقات دیگر محققان نیز گزارش شده است (پوراس سوریانو و همکاران، 2009؛ ژانگ و همکاران، 2011). اما کاهش کمتر درصد کلونیزاسیون ریشه در سطوح بالای شوری می‌تواند مزیتی در جهت حفظ اثرات مثبت کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار باشد، لذا هر گونه از قارچ میکوریزا که درصد کلونیزاسیون ریشه بیشتری در شوری بالا داشته باشد پتانسیل اثر بخشی بیشتر بر گیاه را دارا می‌باشد و در بین گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا آربوسکولار *Rhizophagus intraradices* این خصوصیت را دارا بود.



شکل 9- اثر متقابل تنش شوری و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر درصد کلونیزاسیون ریشه اسفرزه

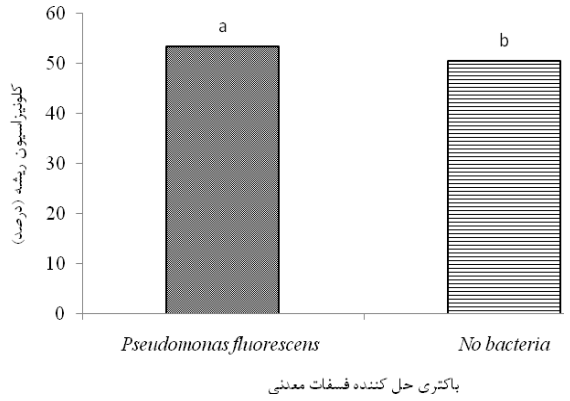
نکته جالب این بود که علی‌رغم آن‌که قارچ *Funneliformis mosseae* در شوری 2/5 دسی زیمنس بر متر بیشترین درصد کلونیزاسیون را در بین گونه‌های قارچ مورد آزمایش از خود نشان داد اما با افزایش تنش شوری درصد کلونیزاسیون آن با شدت بیشتری روند کاهشی یافت به‌طوریکه در شوری 10 دسی زیمنس بر متر کمترین درصد کلونیزاسیون ریشه را به خود اختصاص داد. از طرف دیگر قارچ *Rhizophagus intraradices* روند معکوسی از خود نشان داد بطوریکه علی‌رغم آنکه در شوری 2/5 دسی زیمنس بر متر کمترین درصد کلونیزاسیون ریشه را داشت، لکن با افزایش تنش شوری شیب کاهشی کمتری به خود گرفت بطوریکه در شوری 10 دسی زیمنس بر متر بالاترین درصد کلونیزاسیون ریشه را به خود اختصاص داد (شکل 9).

مقایسه میانگین اثر متقابل نتایج نشان داد درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه دارویی اسفرزه با کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* 53/5 درصد و عدم کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی 50/6 درصد بود (شکل 10). این نتایج بیانگر اثر مثبت باکتری حل کننده فسفات معدنی بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه دارویی اسفرزه است. محققان دیگری نیز اثربخشی کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهان را گزارش کردند (سباناور و لاکشمن، 2008). باتوجه به این‌که در این پژوهش مشخص شد، افزایش شدت تنش، موجب

کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه می‌شود، افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه به‌واسطه کاربرد باکتری حل کننده فسفات معدنی *Pseudomonas fluorescens* را می‌توان به اثر مثبت کاربرد این باکتری در کاهش اثرات منفی شوری نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد باکتری *Pseudomonas fluorescens* از بین دیگر جدایه‌های موجود توانایی بیشتری در حل فسفات معدنی خاک در شرایط تنش شوری دارد. هر چند افزایش شوری توانست خصوصیات تولیدی گیاه دارویی اسفرزه را کاهش دهد، لکن کاربرد همزمان باکتری حل کننده فسفات معدنی و قارچ میکوریزا توانست اثرات منفی تنش شوری را تا حدی جبران نماید. در بین قارچ‌های میکوریزا *Rhizophagus intraradices* بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه در بالاترین سطح شوری آزمایش و بیشترین پاسخ رشد میکوریزایی را در افزایش مولفه‌های رشدی گیاه دارویی اسفرزه از خود نشان داد. همچنین کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* توانست درصد کلونیزاسیون ریشه را افزایش داده و مولفه‌های رشدی گیاه دارویی اسفرزه را بهبود بخشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان کاربرد همزمان باکتری *Pseudomonas fluorescens* و قارچ *Rhizophagus intraradices* را برای دستیابی به حداکثر تولید گیاه دارویی اسفرزه توصیه نمود.



شکل 10- اثر باکتری حل کننده فسفات معدنی بر درصد کلونیزاسیون ریشه اسفرزه

فهرست منابع:

1. بقالیان، ک. 1387. اثر رطوبت خاک و هوا بر کمیت و کیفیت موسیلاژ اسفرزه. پایانامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه تهران، ایران.
2. زرگری، ع. 1375. گیاهان دارویی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. چاپ ششم. ص 205-194.
3. صفر نژاد، ع.، سلامی، م.، و حمیدی، ح. 1386. بررسی خصوصیات مورفولوژی گیاهان دارویی اسفرزه (*Plantago ovata* و *Plantago psyllium*) در برابر تنش شوری. پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی. 75: 160-152.
4. فضائلی، ع.، بشارتی، ح.، و پیرولی بیرانوند، ن. 1389. تأثیر شوری بر کارایی همزیستی سینوریزوبیوم ملیلوتی با ارقام مختلف یونجه. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب). 24(3): 253-263.
5. قاسمی، ک.، فلاح، ک.، رییسی، س.، و حیدری، ف. 1392. اثر کودهای اوره و زیستی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی اسفرزه (*Plantago ovata* Frosk). مجله پژوهش‌های تولید گیاهی. 20(4): 116-101.

6. معصومی زواریان، ا.، یوسفی راد، م.، و اصغری، م. 1394. بررسی اثرات قارچ میکوریزا بر روی خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی انیسون (*Pimpinella anisum*) تحت تنش شوری. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی. 4(56): 148-139.

7. نقدی بادی، ح.، دست پاک، آ.، و ضیایی، س.ع. 1382. مروری بر گیاه اسفرزه (*Plantago ovata* Forsk.) و *Plantago Psyllium*). فصلنامه گیاهان دارویی. 1(9): 17-1.

8. Abrol, I. P., Yadav, J. S. P., and Massoud, F. I. 1988. Salt-affected soils and their management (No. 39). Food and Agriculture Org.
9. Baon, J. B., Smith, S. E., and Alston, A. M. 1993. Mycorrhizal responses of barley cultivars differing in P efficiency. Plant and Soil, 157(1): 97-105.
10. Brindha, K., and Elango, L. 2012. Impact of tanning industries on groundwater quality near a metropolitan city in India. Water Resource Management, 26(6), 1747-1761.
11. Chakraborty, M. K., and Patel, K. V. 1992. Chemical Composition of Isabgol (*Plantago ovata* Forsk.). Seed Journal and Food Science. 29: 389-390.
12. Dermarderosian, A. 2001. The review of natural production. Facts and comparision. Awalters Kluwer Company. (pp. 473-476). USA.
13. Ehsan, M., Ahmed, I., Hayat, R., Iqbal, M., Bibi, N., and Khalid, N. 2016. Molecular Identification and Characterization of Phosphate Solubilizing Pseudomonas sp. Isolated from Rhizosphere of Mash Bean (*Vigna Mungo* L.) for Growth Promotion in Wheat. Journal of Agricultural Science and Technology, 18(3): 775-788.
14. Essahibi, A., Benhiba, L., Oussouf, F. M., Babram, M. A., Ghoulam, C., and Qaddoury, A. 2017. Improved rooting capacity and hardening efficiency of carob (*Ceratonia siliqua* L.) cuttings using arbuscular mycorrhizal fungi. Archives of Biological Sciences, 69(2): 291-298.
15. Fahad, S., Hussain, S., Matloob, A., Khan, F. A., Khaliq, A., Saud, S and Faiq, M. 2015. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. Plant Growth Regulation, 75(2): 391-404.
16. Garbaye, J. 1994. Mycorrhization helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis [interaction, specificity]. Acta Botanica Gallica (France).
17. Guissou, T., Babana, A. H., Sanon, K. B., and Ba, A. M. 2016. Effects of arbuscular mycorrhizae on growth and mineral nutrition of greenhouse propagated fruit trees from diverse geographic provenances. BASE.
18. Haneef, I., Faizan, S., Perveen, R., and Kausar, S. 2014. Impact of bio-fertilizers and different levels of cadmium on the growth, biochemical contents and lipid peroxidation of *Plantago ovata* Forsk. Saudi Journal of Biological Sciences, 21(4): 305-310.
19. Hernández, J. A., Barba-Espín, G., Clemente-Moreno, M. J., and Díaz-Vivancos, P. 2017. Plant Responses to Salinity Through an Antioxidative Metabolism and Proteomic Point of View. In Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective, Volume 2, (pp. 173-200). Springer International Publishing.
20. Hetrick, B. A. D., Wilson, G. W. T., and Cox, T. S. 1992. Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landrace, and ancestors. Canadian Journal of Botany, 70(10), 2032-2040.
21. Izadi-Darbandi, E., and Mehdikhani, H. 2018. Salinity effect on some of the morphophysiological traits of three plantago species (*Plantago* spp.) Scienntia Horticulturae. 236, 43-51.
22. Jaleel, C. A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 60(1): 7-11.

23. Kumar, V., Singh Solanki, A., and Sharma, S. 2011. AM Fungi and A. chroococcum affecting yield, nutrient uptake and cost efficacy of isabgoal (*Plantago ovata*) in indian arid region. Thai Journal of Agricultural Science, 44: 53-60.
24. Madueno, L., Coppootelli, B.M., Alvarez, H.M. and Morelli, I.S. 2011. Isolation and characterization of indigenous soil bacteria for bioaugmentation of PAH contaminated soil of semiarid Patagonia, Argentina. International Biodeterioration and Biodegradation. 65: 345-351.
25. Merchan, F., Breda, C., Hormaeche, J. P., Sousa, C., Kondorosi, A., Aguilar, O. M., and Crespi, M. 2003. A Krüppel-like transcription factor gene is involved in salt stress responses in *Medicago* spp. Plant and Soil, 257(1): 1-9.
26. Milošević, N. A., Marinković, J. B., and Tintor, B. B. 2012. Mitigating abiotic stress in crop plants by microorganisms. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 123: 17-26.
27. Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A., and Ashraf, M. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. Biotechnology Advances, 32(2): 429-448.
28. Negrão, S., Schmöckel, S. M., and Tester, M. 2017. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. Annals of Botany, 119(1): 1-11
29. Pandey, R., and Garg, N. 2017. High effectiveness of Rhizophagus irregularis is linked to superior modulation of antioxidant defence mechanisms in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. genotypes grown under salinity stress. Mycorrhiza, 1-14.
30. Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., and Prasad, S. M. 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. Environmental Science and Pollution Research, 22(6): 4056.
31. Pathak, D., Lone, R., and Koul, K. K. 2017. Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Association in Potato (*Solanum tuberosum* L.): A Brief Review. In Probiotics and Plant Health (pp. 401-420). Springer Singapore.
32. Paterson, E., Sim, A., Davidson, J., and Daniell, T. J. 2016. Arbuscular mycorrhizal hyphae promote priming of native soil organic matter mineralisation. Plant and Soil, 408(1-2): 243-254.
33. Porras-Soriano, A., Soriano-Martín, M. L., Porras-Piedra, A., and Azcón, R. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. Journal of Plant Physiology, 166(13): 1350-1359.
34. Rfaki, A., Nassiri, L., and Ibijbijen, J. 2015. Isolation and Characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of faba bean (*Vicia faba* L.) in Meknes Region, Morocco. British Microbiology Research Journal, *6*(5): 247.
35. Sabannavar, S. J., and Lakshman, H. C. 2008. Interactions between Azotobacter, Pseudomonas and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Two Varieties of *Sesamum indicum* L. Journal of Agronomy and Crop Science, 194(6): 470-478.
36. Saxena, B., Shukla, K., and Giri, B. 2017. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Tolerance of Salt Stress in Plants. In Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants (pp. 67-97). Springer Singapore.
37. Scagel, C. F., Bryla, D. R., and Lee, J. 2017. Salt exclusion and mycorrhizal symbiosis increase tolerance to NaCl and CaCl2 salinity in 'Siam Queen'basil. HortScience, *52*(2): 278-287.
38. Selvaraj, T., and Chellappan, P. 2006. Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality. Journal of Central European Agriculture, *7*(2): 349-358.
39. Shannon, M. C., and Grieve, C. M. 1998. Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia Horticulturae, 78(1): 5-38.

40. Shivakumar, S., and Bhaktavatchalu, S. 2017. Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in the Improvement of Vegetable Crop Production under Stress Conditions. In Microbial Strategies for Vegetable Production (pp. 81-97). Springer International Publishing.
41. Singh, S. R., Joshi, D., Tripathi, N., Singh, P., and Srivastava, T. K. 2017. Plant Growth-Promoting Bacteria: An Emerging Tool for Sustainable Crop Production under Salt Stress. In Bioremediation of Salt Affected Soils: An Indian Perspective (pp. 101-131). Springer International Publishing.
42. Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research, *9*(6): 778-781.
43. Trapet, P., Avoscan, L., Klinguer, A., Pateyron, S., Citerne, S., Chervin, C., and Besson-Bard, A. 2016. The Pseudomonas fluorescens siderophore pyoverdine weakens Arabidopsis thaliana defense in favour of growth in iron-deficient conditions. Plant Physiology, pp 1537.
44. Tomar, O. S., Minhas, P. S., and Dagar, J. C. 2005. Isabgol (*Plantago ovata* Forsk): A Potential Crop For Saline Irrigation And Moderate Alkali Soils.
45. Visen, A., Bohra, M., Singh, P. N., Srivastava, P. C., Kumar, S., Sharma, A. K., and Chakraborty, B. 2017. Two pseudomonad strains facilitate AMF mycorrhization of litchi (*Litchi chinensis Sonn*.) and improving phosphorus uptake. Rhizosphere, *3*: 196-202.
46. Vyas, P., Rahi, P., and Gulati, A. 2009. Stress tolerance and genetic variability of phosphate-solubilizing *Pseudomonas fluorescent* from the cold deserts of the trans-Himalayas. Microbial Ecology, 58(2): 425-434.
47. Wang, X., Pan, Q., Chen, F., Yan, X., and Liao, H. 2011. Effects of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on soybean growth as related to root architecture and availability of N and P. Mycorrhiza, 21(3): 173-181.
48. Zhang, H., Wu, X., Li, G., and Qin, P. 2011. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing fungus (*Mortierella* sp.) and their effects on Kostelelzkya virginica growth and enzyme activities of rhizosphere and bulk soils at different salinities. Biology and Fertility of Soils, 47(5): 543.

Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria and Mycorrhizal Fungi on Growth Parameters of Isabgol in Saline Conditions

A. Dehghanitafti[1], S. Mahmoodi, H. Alikhani, and M. Salehi
Ph.D of Agronomy, University of Birjand; E-mail: ahmadreza4814@yahoo.com
Professor assistant, Department of agronomy and plant breeding, University of Birjand; E-mail: smahmoodi@birjand.ac.ir
Professor, Department of soil engineering, University of Tehran; E-mail: halikhan@ut.ac.ir
National Salinity Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran; E-mail: salehimasomeh@gmail.com
Received: April, 2018 & Accepted: October, 2018

Abstract:

Some beneficial soil microorganisms can reduce salt stress in many crops. Two experiments were carried out to study the effect of salinity and microorganisms on the growth characteristics of *Plantago ovata* Forsk. In the first experiment, tolerant species of phosphate-soluble bacteria screened in a salinity stress condition, a number of bacteria were subjected to semi-quantitative phosphate solubility test. The superior isolate was identified as *Pseudomonas fluorescens* based on the sequence 16S rRNA gene and other phylogenetic analysis. The second experiment was a factorial experiment in randomized complete block design with three replications. The first factor was three levels of salinity (2.5, 5 and 10 dS/m), the second factor was mycorrhizal fungus including *Funneliformis mosseae, Rhizophagus intraradices* and *Glomus fasciculatum,* and the third factor consisted of two levels of non-bacterial and bacterial application. Shoot and root dry weight, root to shoot dry weight ratio, mycorrhizal growth response and root colonization percentage were measured. Analysis of variance showed that interaction of salinity stress and mycorrhizal fungus on shoot dry weight was significant at level 1% probability. The interaction of salinity stress and bacteria on the ratio of root dry weight to shoot was significant at 5% probability level. The highest root dry weight and root/shoot ratio (1.7 and 0.9 respectively) were obtained at 2.5 dS/m + *Glomus fasciculatum* treatment. The highest mycorrhizal growth response percentage was 76.7% at 10 dS/m + *Rhizophagus intraradice* treatment. Comparison of the mean interactions between salinity stress and bacteria showed that the highest mycorrhizal growth response percentage was obtained in the 10 dS/m salinity + *Pseudomonas fluorescens* treatment (45.6%). The results also showed that salinity decreased the yield of Isabgol, but the simultaneous application of PSB and AMF could compensate the negative effects of salinity stress. According to the results, it is possible to use the simultaneous application of *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizophagus intraradices* to maximize the production of *Plantago ovata* Forsk.

Keywords: Isabgol, Shoot dry weight, Root dry weight, Root to shoot dry weight, Mycorrhizal growth response, Root colonization.

[1.] Corresponding author: Department of agronomy and plant breeding, University of Birjand