

تأثیر تلقیح ریزوباکتر روی بهبود ویژگی‌های رویشی نهال سرو شیراز تحت تنش کم‌آبی

مرتضی روکی^۱، مسعود طبری کوچکسرای^{۲*}، سید احسان ساداتی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه جنگلداری، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی نور، نور، ایران

^۲ استاد گروه جنگلداری، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی نور، نور، ایران

^۳ استادیار پژوهش، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، ساری، ایران

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: mtabari@modares.ac.ir

پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵

دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: سرو شیراز (*Cupressus sempervirens* L. var. *fastigiata*) گونه‌ای همیشه سبز و بومی کشور است که به دلیل ارزش‌های متنوع به‌ویژه استفاده در پارک‌ها و فضای سبز شهری، مورد توجه فراوانی اغلب مناطق اقلیمی کشور از جمله استان‌های زاگرس می‌باشد. نظر به ضعیف بودن خاک و محدودیت منابع آب، مشکل تولید نهال آن در برخی از این مناطق مشهود است. این تحقیق برای نخستین بار با تلقیح ریزوباکتر *Pseudomonas fluorescens* به بستر خاک، مقاومت و تغییرات صفات رویشی نهال آن به تنش کم‌آبی را دنبال می‌کند.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار ریزوباکتر (تلقیح و عدم تلقیح) و سطوح مختلف آبیاری (۳، ۶، ۹ و ۱۲ روزه) در سه تکرار چهارتایی طراحی شد. پس از ۱۵۰ روز ویژگی‌های رویشی نهال‌ها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: با افزایش دوره آبیاری (تنش کم‌آبی)، زنده‌مانی، رویش طولی، زی‌توده اندام هوایی و زی‌توده کل به صورت معنی‌داری کاهش یافتند. به طوری که تمام نهال‌ها در سطح آبیاری ۱۲ روزه از بین رفتند و زنده‌مانی نهال در دوره آبیاری ۹ روزه به ۴۹/۸۳ درصد کاهش پیدا کرد. قطر یقه، طول ریشه، حجم ریشه و نسبت زی‌توده ریشه به اندام هوایی با افزایش دوره آبیاری تغییری نکرد. این در حالی است که در نهال‌های تلقیح یافته با ریزوباکتر، درصد زنده‌مانی، رویش ارتفاعی، زی‌توده اندام هوایی، زی‌توده ریشه، زی‌توده کل و شاخص کیفیت نهال نسبت به نهال‌های تلقیح نشده بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: نهال‌های سرو تلقیح شده با ریزوباکتر سودوموناس قادر به تحمل تنش‌های کمبود آب و افزایش عملکرد رویشی در شرایط خشکی هستند، اما در شرایط بهینه، تلقیح باکتری تأثیر مثبتی بر درصد زنده‌مانی نهال ندارد.

واژه‌های کلیدی: باکتری سودوموناس فلورسنس، تنش خشکی، زنده‌مانی، زی‌توده، شاخص کیفیت نهال

مقدمه

گیاهی و هدایت روزنه‌ای و افزایش غلظت ABA (آبسیزیک اسید) و تغییر نوع آنزیم‌ها رخ می‌دهد (Sanchez-blanco et al., 2008).

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)^۱ به‌عنوان کودهای زیستی می‌توانند با استفاده تثبیت نیتروژن، تولید ایندول استیک اسید (IAA) و کنترل بیمارگرهای گیاهی، باعث افزایش رشد و تحمل گیاه

خشکی از مهم‌ترین عوامل تهدید بقای نونهال‌ها در مرحله استقرار است (Garau et al., 2008). از این‌رو، آگاهی از پاسخ نو نهال‌ها به تنش خشکی مسئله اساسی در موفقیت جنگل‌کاری در مناطق خشک محسوب می‌شود (Elfeel & Al-Namo, 2011). در شرایط خشکی تغییراتی در ساختار گیاه، مانند کاهش در رشد، پتانسیل اسمزی بافت‌های

¹ Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

تأثیر سوء خشکی و بهبود رشد نهال‌ها شد (Rincon *et al.*, 2008). در بررسی انجام شده توسط Dominguez و همکاران (۲۰۱۲) نهال‌های *Pinus halepensis* به قارچ *Tuber melanosporum* و باکتری سودوموناس فلورسنس تحت شرایط گلخانه آلوده شدند. پنج ماه پس از تلقیح، باکتری، وزن خشک ریشه و ارتفاع نهال‌ها را نسبت به شاهد بهبود بخشید. در یافته‌های Liu و همکاران (۲۰۱۳)، باکتری *Bacillus subtilis* پس از سه ماه توانست وزن خشک ساقه و ریشه نهال‌های *Platycladus orientalis* را در شرایط آبیاری مطلوب به ترتیب ۳۴/۸ و ۱۵/۴ درصد و در شرایط خشکی ۱۹/۲ و ۱۳/۹ درصد افزایش دهد.

از مطالعات داخل کشور می‌توان به تحقیق حسنی و همکاران (۲۰۱۲) اشاره کرد که کاربرد سویه سودوموناس فلورسنس (به مدت ۲۰ روز) به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک اندام‌های هوایی نهال‌های پسته کشت‌شده درون تیوپ شد. بهمنی و همکاران (۱۳۹۳) نیز در تحقیقی با دو سطح تلقیحی (ریزوباکتر سودوموناس پوتیدا و شاهد) و شش سطح تنش خشکی دوره‌ای (۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ روز فاصله آبیاری) روی نهال استبرق (*Asclepias procera*) بیش‌ترین رویش طولی را در نهال‌های تلقیح شده و با آبیاری ۳، ۶ و ۹ روزه، و بزرگ‌ترین اندازه طول ریشه و نسبت طول ریشه به ساقه را در آبیاری ۹ روزه مشاهده کردند. شول و همکاران (۱۳۹۴) نیز در بررسی اثر همزیستی قارچ میکوریز آریسکولار (*Glomus mosseae*) و باکتری سودوموناس فلورسنس سویه P₅₂ بر رشد نهال‌های پسته رقم قزوینی^۲، آزمایشی را با چهار سطح خشکی و چهار سطح کود زیستی به مدت ۸۰ روز اجرا کردند و پی بردند که بیشترین میزان حجم ریشه و وزن خشک ریشه متعلق به تیمار باکتری بوده است.

سرو شیراز (*Cupressus sempervirens* L. var. *fastigiata* DC. 1815) درختی است با ساقه و

به تنش‌های محیطی (شوری، خشکی، آلاینده‌ها) شوند (Vessey *et al.*, 2003). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد دارای ACC دامیناز منجر به بزرگی طول ریشه می‌شود که ممکن است در جذب بیشتر آب در خاک‌های تحت تنش خشکی مفید باشد (Dodd *et al.*, 2004).

سودوموناس‌ها از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری و فیلوسفری هستند که به دلیل توانایی بالا در رقابت با سایر ریزجانداران در بیشتر محیط‌ها مشاهده می‌شوند (Vyas & Gulati, 2009). مؤثرترین آن‌ها، سودوموناس فلورسنس^۱ است که به دلیل خصوصیات متابولیکی و عملکردی متنوع، نقش بارزی در سلامت خاک ایفا می‌کنند (Saharan & Nehra, 2011). این باکتری‌ها به‌ویژه از طریق انحلال فسفات‌های نامحلول آلی و معدنی می‌توانند میزان فسفر محلول و قابل جذب را افزایش (Vassilev *et al.*, 2006) و با کاهش اثرات منفی پاتوژن‌ها و تنش‌ها در دوره رویش گیاه، افزایش عملکرد آن را سبب شوند (Lugtenberg & Kamilov, 2009).

از جمله تحقیقات انجام شده با باکتری *Pseudomonas fluorescens* روی گونه‌های جنگلی می‌توان به گزارش Garcia و همکاران (۲۰۰۴) در ارتباط با تأثیر چهار باکتری محرک رشد (*Pseudomonas*، *Enterobacter intermedium*، *Chryseobacterium balustinum fluorescens* و *Phosphorobacillus latus*) روی نهال *Pinus pinea* و *Quercus ilex* اشاره کرد که همه سویه‌ها به‌طور چشمگیری باعث افزایش طول نهال، قطر یقه و وزن خشک ساقه شدند. در تحقیق Jaleel و همکاران (۲۰۰۷) معلوم شد که در شرایط خشکی، باکتری سودوموناس فلورسنس می‌تواند به‌طور معنی‌داری صفات رشد نهال *Catharanthus roseus* را افزایش داده و تا حدی خشکی را مهار نماید. در تحقیقی، تلقیح میکروارگانسیم‌های بومی و سویه Aur6 از سودوموناس فلورسنس روی نهال‌های *Pinus halepensis* و *Quercus coccifera* سبب کاهش

² *Pistacia vera* cv. *Qazvini*

¹ *Pseudomonas fluorescens*

در این رابطه Ψ_m پتانسیل ماتریک خاک برحسب کیلو پاسکال، θ_v مقدار رطوبت حجمی خاک برحسب مترمکعب بر مترمکعب و A و B ضرایبی هستند که می‌توان آن‌ها را به ویژگی‌های خاک ارتباط داد. \exp عدد نپر (۲/۷۱۸)، C درصد رس و S درصد شن خاک می‌باشد.

ابتدا با تعیین نقاط پتانسیلی مهم خاک (نقطه پژمردگی و ظرفیت زراعی) و اندازه‌گیری رطوبت خاک، وزن خاک خشک به دست آمد که همراه با وزن نهال، وزن گلدان و رطوبت قابل دسترس گیاه (FC-PWP)، وزن مرجع در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی تعیین گردید. سپس طی دوره آزمایش، بسته به دور آبیاری (۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز) و پس از توزین گلدان‌ها، میزان کمبود رطوبتی آن‌ها تا حد ظرفیت زراعی خاک تعیین می‌گردید و به اندازه جبران کمبود رطوبت، به آن‌ها آب داده می‌شد. شایان ذکر است که، آب اضافه شده، فقط صرف تعرق گیاه در فرایند تبادلات گازی می‌شد، چون هم گلدان‌ها بدون منفذ بودند و هم با قرار دادن لایه (ورقه) آلومینیمی روی سطح خاک گلدان و نیز سطوح جانبی آن‌ها تبخیری صورت نمی‌گرفت.

اندازه‌گیری‌ها

در ابتدا و انتهای آزمایش، قطر و ارتفاع نهال‌ها به ترتیب به وسیله کولیس و خط‌کش اندازه‌گیری شد. در پایان دوره، زنده‌مانی نهال‌ها، از نسبت نهال‌های باقیمانده به تعداد اولیه ضربدر ۱۰۰ محاسبه شد. برای اندازه‌گیری زی‌توده اندام‌ها به‌طور تصادفی از هر تکرار یک نهال از خاک خارج کرده و پس از شستشوی خاک اطراف ریشه، طول و حجم ریشه‌ها اندازه‌گیری شد. طول ریشه با خط‌کش و حجم ریشه از اختلاف حجم ایجاد شده پس از قرار دادن ریشه‌ها در حجم مشخصی از آب به دست آمد.

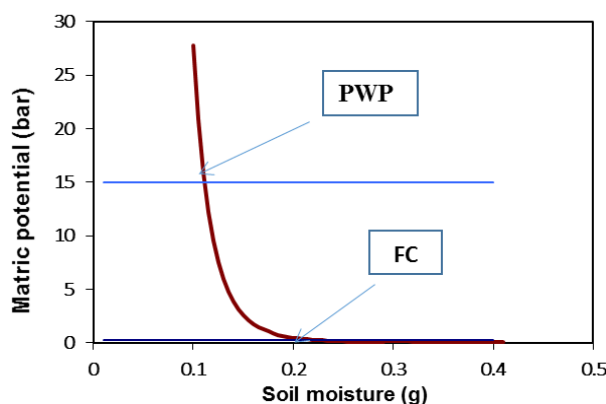
انشعابات قائم که به سرو کاشی نیز مشهور است (ثابتی، ۱۳۷۳). گونه‌ای همیشه سبز و بومی کشور است که به دلیل داشتن ارزش زینتی، در پارک‌ها و فضای سبز شهری، و به‌عنوان بادشکن در مزارع، و نیز از نظر تولید نهال به‌ویژه در مناطق خشک کشور مورد توجه فراوان می‌باشد. با توجه به محدودیت منابع آب و ضعیف بودن خاک، تولید آن در برخی از این مناطق با مشکل مواجه است. این تحقیق با به‌کارگیری تلقیح ریزوباکتر سودوموناس فلورسنس به بستر خاک، به دنبال بررسی عکس‌العمل مقاومت و تغییرات صفات رویشی نهال سرو شیراز به کم‌آبی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق پس از تهیه مقدار ۴ لیتر باکتری سودوموناس فلورسنس از بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات آب و خاک کرج، با توجه به تعداد اسپورهای باکتری (10^9 تا 10^{11} اسپور در هر میلی‌لیتر)، نیمی از نهال‌های گلدانی یک‌ساله سرو شیراز با باکتری تلقیح شد. برای این کار، خاک سطح گلدان کنار زده شد و باکتری (حجم ۲۵ cc) به وسیله سرنگ در اطراف ریشه تا عمق پنج سانتی تزریق شد (Dominguez et al., 2013) و به دنبال آن تنش کم‌آبی شامل آبیاری در سطوح ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روزه انجام شد. آزمایش، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

از اوایل تیر تا اوایل آذر (۵ ماه) نهال‌های بر اساس وزن مرجع در ۳ تکرار (هر تکرار ۴ نهال) آبیاری شدند. در حقیقت، برای تعیین میزان آب آبیاری به گلدان‌ها قبلاً و بر اساس وزن مخصوص ظاهری، رطوبت و درصد ذرات خاک، بافت خاک مشخص شد. آنگاه منحنی رطوبتی خاک (شکل ۱) که رابطه پتانسیل آب خاک و مقدار رطوبت حجمی خاک را مشخص می‌کند از طریق فرمول (Saxton et al., 1986) (رابطه ۱) ترسیم گردید (شکل ۱).

$$A = \exp[4.369 - \Psi_m = A\theta_v^B \quad (1) \\ 0.0715(c) - 4.88 \times 10^{-4}(s)2 - 4.285 \times 10^{-5}(s)2 \\ (c)]100 \\ B = -3.14 - 0/00222C^2 - 3.14 \times 10^{-5}S^2C$$



شکل ۱- منحنی مشخصه رطوبتی خاک

Figure 1. soil moisture curve

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

Table 1. Soil physical and chemical properties of pots

نیترژن N (ppm)	رس Sand (%)	شن Clay (%)	سیلت Silt (%)	وزن مخصوص ظاهری Apparent specific weight	pH (گل) (اشباع)	هدایت الکتریکی Electrical conductivity ($\mu\text{s}/\text{m}$)
0.87	25	40	35	130.66	8.42	0.252

آبیاری ۱۲ روزه، داده‌ای برای این سطح در آنالیز آماری وارد نشد.

نتایج

بر اساس نتایج آنالیز واریانس دوطرفه (جدول ۲)، کم‌آبی بر زنده‌مانی، رویش ارتفاعی، زی‌توده اندام هوایی و زی‌توده کل اثر معنی‌دار داشت؛ به‌طوری که باعث کاهش این صفات گردید. با شدت کم‌آبی، رویش ارتفاعی کاهش یافت بیشترین رویش ارتفاعی در دوره آبیاری ۳ روزه و کمترین آن در دوره ۹ روزه دیده شد (جدول ۳). کمترین اندازه وزن خشک اندام هوایی و زی‌توده کل در آبیاری ۹ روزه دیده شد (جدول ۳). قطر یقه، زی‌توده ریشه، طول ریشه، حجم ریشه، شاخص کیفیت نهال و نسبت زی‌توده ریشه به اندام هوایی تحت تأثیر خشکی قرار نگرفتند (جدول ۲). تلقیح ریزوباکتر نیز بر زنده‌مانی، رویش ارتفاعی، زی‌توده اندام هوایی، زی‌توده ریشه، زی‌توده کل و شاخص کیفیت نهال اثر معنی‌دار داشت (جدول ۲). اما تأثیر آن بر قطر یقه، طول ریشه، حجم ریشه، و

سپس هر یک از اندام‌های نهال (ریشه و اندام هوایی) در دمای 70°C به مدت حداقل ۴۸ ساعت خشک و زی‌توده‌های کل، ریشه، اندام هوایی و نسبت ریشه به ساقه (Root/Shoot) اندازه‌گیری شد (Bissonnette *et al.*, 2010). شاخص کیفیت نهال^۱ مطابق فرمول (Dickson *et al.*, 1960) (رابطه ۲) محاسبه شد. رابطه (۲)

$$\text{شاخص کیفیت نهال} = \frac{\text{وزن خشک کل نهال (گرم)}}{\left\{ \frac{\text{وزن خشک ساقه (گرم)}}{\text{طول ساقه (سانتی‌متر)}} + \frac{\text{وزن خشک ریشه (گرم)}}{\text{قطر یقه (میلیمتر)}} \right\}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق، آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی شد و آزمون معنی‌داری به‌صورت Two-way-Anova و مقایسات میانگین‌ها با استفاده از آزمون Tukey-HSD انجام شد. به دلیل خشک شدن کلیه نهال‌های تحت تنش

¹ Seedling quality index

شاخص کیفیت نهال را ۲۷/۷۷ درصد نسبت به عدم تلقیح افزایش داد (جدول ۴). اثرات متقابل خشکی و ریزوباکتر فقط بر زنده‌مانی نهال اثر معنی‌دار داشت (جدول ۲). بیشتری زنده‌مانی در دوره آبیاری ۳ و ۶ روزه هم در تلقیح ریزوباکتر و هم در عدم تلقیح ریزوباکتر با ۱۰۰ درصد زنده‌مانی دیده شد و کمترین آن در دوره آبیاری ۹ روزه بدون تلقیح ریزوباکتر با ۳۶ درصد مشاهده شد (شکل ۲).

نسبت زی‌توده ریشه به اندام هوایی نهال‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۲). تلقیح ریزوباکتر توانست زنده‌مانی نهال‌ها را ۹/۲۲ درصد نسبت به نهال‌های تلقیح نشده افزایش دهد (جدول ۴). شاخص کیفیت نهال تحت تأثیر ریزوباکتر و بدون ریزوباکتر به ترتیب ۲/۹۶ و ۲/۱۳ بود، که باعث افزایش ۲۷/۷۷ درصدی این شاخص نسبت به عدم تلقیح شد (جدول ۴). همچنین، تلقیح ریزوباکتر رویش ارتفاعی را ۲۰/۱ درصد، زی‌توده ریشه را ۳۱/۲۳ درصد، زی‌توده اندام هوایی را ۲۵/۳ درصد، زی‌توده کل را ۲۷/۵ درصد و

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات کم‌آبی و ریزوباکتر بر صفات مورفولوژی

Table 2. Analysis of variance effects of water deficit and Rhizobacteria on morphological traits

Parameters	water deficit		Rhizobacteria		Rhizobacteria × water deficit	
	f	p	f	p	f	p
Survival	93.403	0.000	7.102	0.021	7.102	0.009
Height growth	24.651	0.000	7.332	0.019	1.402	0.284
Diameter growth	1.051	0.380	0.275	0.609	0.340	0.719
Root dry weight	1.768	0.212	5.738	0.034	0.175	0.841
Shoot dry weight	6.548	0.012	8.180	0.014	0.943	0.416
Total biomass	4.755	0.030	8.428	0.013	0.168	0.848
Root volume	0.474	0.634	2.287	0.156	0.218	0.807
Root length	0.532	0.601	2.272	0.158	0.216	0.808
Root to shoot ratio	0.681	0.525	0.092	0.767	2.215	0.152
Seedling Quality Index	3.644	0.058	7.767	0.016	0.047	0.954

جدول ۳- مقایسه میانگین‌ها بین سه سطح کم‌آبی (صرف نظر از اثر باکتری)

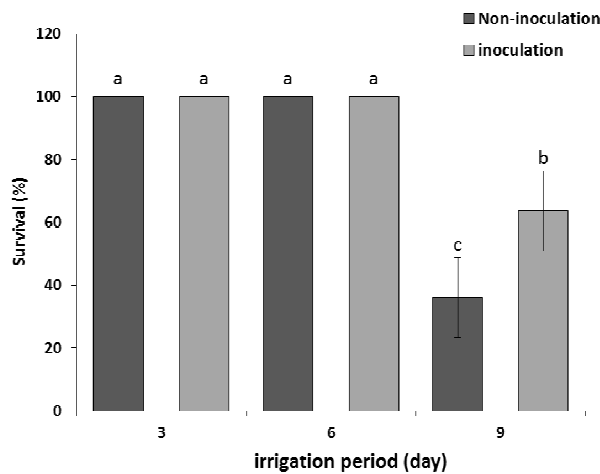
Table 3. Comparison of means as affected by water deficit (without considering the rhizobacteria effect)

Parameters	3-day irrigation	6-day irrigation	9-day irrigation
Survival	100±0a	100±0a	49.83±18.94b
Height growth	7.23±1.21a	5.47±1.19b	3.41±1c
Diameter growth	1.23±0.32a	1.28±0.27a	1.01±0.35a
Root dry weight	7.97±2.98a	7.69±2.75a	5.66±1.77a
Shoot dry weight	15.37±2.99a	13.54±2.74ab	9.70±4.18ab
Total biomass	23.34±5.46a	21.25±5.14a	15.36±5.79a
Root volume	1.17±0.10a	1.21±0.16a	1.14±0.08a
Root length	2.70±0.24a	2.78±0.37a	2.61±0.19a
Root to shoot ratio	0.52±0.15a	0.56±0.13a	0.61±0.13a
Seedling Quality Index	2.88±0.66a	2.78±0.85a	1.99±0.64a

جدول ۴- مقایسه میانگین‌ها تحت تأثیر ریزوباکتر (بدون در نظر گرفتن اثر کم‌آبی)

Table 4. Comparison of means as affected by rhizobacteria (without considering the water deficit effect)

Parameters	Non-inoculation	inoculation
Survival	78.67±19.23b	87.89±32.63a
Height growth	4.77±1.28b	5.97±2.38a
Diameter growth	1.21±0.38a	1.13±0.25a
Root dry weight	5.79±1.47b	8.42±2.92a
Shoot dry weight	11.01±3.74b	14.74±3.44a
Total biomass	16.80±4.89b	23.17±5.92a
Root volume	1.13±0.09a	1.21±0.13a
Root length	2.59±0.21a	2.79±0.29a
Root to shoot ratio	0.55±0.14a	0.57±0.13a
Seedling Quality Index	2.13±0.52b	2.96±0.82a



شکل ۲- میانگین زنده‌مانی تحت تأثیر متقابل کم‌آبی و ریزوباکتر

Figure 2. Mean of survival as affected by drought and rhizobacteria

بحث

کنترل پاتوژن در برخی گونه‌های جنگلی کارآمد بوده (Rekha *et al.*, 2007) و به دلیل توزیع گسترده در خاک، توانایی کلنیزاسیون در فراریشه بسیاری از گیاهان و در تولید دامنه متنوعی از متابولیت‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد (Rosas *et al.*, 2006). سودوموناس‌ها می‌توانند با کاهش پاتوژن‌ها و تنش‌های موجود در دوره رشد گیاه و یا با استفاده از تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول استیک اسید (IAA) (Glick, 2007) موجب افزایش عملکرد گیاهان و تحمل آن‌ها در مقابله با خشکی شوند (Marulanda *et al.*, 2009; Lugtenberg & Kamilov, 2009). به عبارت دیگر، در بین تنظیم‌کننده‌های رشد که توسط باکتری‌ها تولید و ترشح می‌شود اکسین‌ها (به‌ویژه

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ریزوباکتر سودوموناس فلورسنس تأثیر معنی‌دار بر برخی صفات مورفولوژیک نهال‌های سرو شیراز داشت. تا دور آبیاری ۶ روز کاهشی در زنده‌مانی دیده نشد اما در آبیاری ۹ روزه زنده‌مانی کاهش یافت. تلقیح ریزوباکتر در مقایسه با کنترل (عدم تلقیح) ۹/۲۲ درصد زنده‌مانی را افزایش داد. افزایش زنده‌مانی نهال‌های استبرق با تلقیح ریزوباکتر در تحقیق بهمنی و همکاران (۱۳۹۳) مشاهده شده بود.

در میان باکتری‌های محرک رشد، جنس سودوموناس بر تحریک جوانه‌زنی بذر، رشد سریع در مراحل اولیه، افزایش رشد، شکل‌گیری ریشه و ریشه‌های مویی و

را افزایش می‌دهند (Glick, 1995). البته، این فرض هم تأیید شده که اکسین تولید شده به‌وسیله باکتری در محیط ریشه قادر است از طریق سنتز آنزیم (ACC) باعث کاهش تولید اتیلن شده و رشد ریشه را تحریک کند (Xie *et al.*, 2002). این مصداق این مطلب است که سودوموناس‌ها، متابولیت‌های متعددی از قبیل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و ویتامین‌ها تولید می‌کنند که می‌توانند بر رشد گیاه و میکروارگانیسم‌های موجود خاک اثر بگذارند (Ahemad & Kibret, 2014).

به‌طور کلی، تولید نهال سالم و قوی در نهالستان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Oliet, 2009). برخی خصوصیات نهال در ارزیابی بنیه و شانس موفقیت در جنگل‌کاری و استقرار آن‌ها دارای جایگاه مهم می‌باشند (South *et al.*, 2005) که از میان آن‌ها، نسبت زی‌توده ریشه به ساقه، قطر یقه، سیستم ریشه‌ای و به‌ویژه شاخص کیفیت نهال را می‌توان نام برد (Ahmadloo *et al.*, 2012; Oliet, 2005). در تحقیق حاضر نیز شاخص کیفیت نهال تحت تأثیر ریزوباکتر افزایش یافت.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج این تحقیق آشکار کرد اگرچه در مدت آزمایش، ریزوباکتر سودوموناس نتوانست مانع مرگومیر نهال‌ها در آبیاری ۱۲ روزه شود، با این وجود قادر بود به‌طور معنی‌داری مانع کاهش اندازه‌های بیشتر صفات مرفولوژیک نهال در تنش‌های کم-آبی (آبیاری‌های ۶ و ۹ روزه) شود و حتی در آبیاری‌های با فواصل طولانی (به‌ویژه ۹ روز) سبب افزایش مقادیر برخی متغیرها نسبت به آن‌ها در شرایط کنترل شد. از این‌رو، اگر قرار است آبیاری ۹ روزه مدیریت شود تلقیح باکتری لازم است. در کل، می‌توان اظهار داشت که نهال‌های سرو شیراز تلقیح شده با ریزوباکتر سودوموناس قادر به تحمل تنش‌های کمبود آب و افزایش عملکرد ریشی در شرایط خشکی هستند، اما در شرایط بهینه، تلقیح باکتری تأثیر مثبتی بر زنده‌مانی نهال سرو شیرازی ندارد.

IAA نقش بسیار مؤثری در افزایش طول سلول‌های گیاهی، تحریک تقسیم سلولی و تمایز در گیاه را دارند (Stepanova *et al.*, 2008).

در تحقیق حاضر، همانند نتایج Susiluoto و Berninger (۲۰۰۴) و Nagakura و همکاران (۲۰۰۷)، اندازه رویش ارتفاعی، وزن خشک اندام هوایی و زی‌توده کل با افزایش خشکی کاسته شد اما تحت تأثیر ریزوباکتر افزایش یافت. در همین راستا، حسنی و همکاران (۱۳۹۱) و Rincon و همکاران (۲۰۰۸) و Garcia و همکاران (۲۰۰۴) و Liu و همکاران (۲۰۱۳) با به‌کارگیری باکتری‌های محرک رشد به نتایج مشابه دست یافتند. در تحقیق رستمی‌کیا و همکاران (۱۳۹۶) روی فندق آشکار شد که باکتری‌های محرک رشد از جمله DSM291 *Bacillus FzB24.Pseudomonas putida subtilis* و *Enterobacter cloacae* در جذب عناصر غذایی، افزایش رشد، برخی شاخص‌های مورفولوژی و شاخص کیفیت نهال اثر مفید داشته‌اند. کاهش رویش طولی نهال‌ها با افزایش تنش خشکی، نتیجه سازگاری گیاه در برابر خشکی است؛ زیرا گیاه در این شرایط انرژی خود را صرف افزایش ارتفاع نمی‌کند و برای افزایش حجم و طول ریشه از آن بهره می‌برد تا بتواند در مقابل خشکی مقاومت کند (احسانی طباطبائی، ۱۳۹۰). در شرایط طبیعی برای تحمل به خشکی در گیاهان، کاهش در رویش ارتفاع و قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، تعداد برگ، سطح برگ و زی‌توده اندام‌ها اتفاق می‌افتد (Akbari & Jalili Marandi, 2014; Dichio *et al.*, 2000). همانند یافته‌های بهمنی و همکاران، (۱۳۹۳)، Rincon و همکاران (۲۰۰۸) و Dominguez و همکاران (۲۰۱۲)، در تحقیق ما وزن خشک ریشه تحت تأثیر ریزوباکتر قرار گرفت و نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت. این ممکن است به این دلیل باشد که ریزوباکترهای تحریک‌کننده رشد گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلف به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از جمله تولید کربوهیدرات‌ها، رشد اندام و متعاقب آن سرعت رشد، تقسیم سلولی و اندازه سلول

منابع

- احسانی طباطبائی، ف. ۱۳۹۰. فیزیولوژی تنش‌های گیاهی. انتشارات دانشگاه پیام نور. ۲۶۸ ص.
- بهمنی، م.، جلالی، غ.، ع.، اصغرزاده، ا. و طبری کوچکسرای، م. ۱۳۹۳. کارایی تلقیح ریزوباکتری *Pseudomonas putida* 169 بر بهبود صفات رویشی و فیزیولوژی نهال‌های استبرق (*Calotropis procera* Ait.) تحت شرایط تنش خشکی. نشریه زیست‌شناسی خاک، ۲(۱): ۸۶-۸۰.
- ثابتی، ح. ۱۳۷۳. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران، انتشارات دانشگاه یزد. ۸۰۶ ص.
- حسینی، گ.، اخگر، ع. و تاج آبادی‌پور، ا. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر تلقیح سویه‌های سودوموناس فلورسنت دارای توان تولید IAA و ACC دامیناز بر رشد نهال‌های پسته. پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، ۲۶(۱): ۸۹-۹۷.
- رستمی کیا، ی.، طبری کوچکسرای، م.، اصغرزاده، ا. و رحمانی، ا. ۱۳۹۶. اثر باکتری‌های محرک رشد بر صفات رویشی و عناصر تغذیه‌ای نهال‌های *Corylus avellana* در نهالستان فندقلوی اردبیل. نشریه تحقیقات جنگل و صنوبر، ۲۵(۱): ۱۲۶-۱۱۶.
- شول، ا.، شمشیری، م.ح.، اخگر، ع. و اسماعیلی‌زاده، م. ۱۳۹۴. اثر قارچ میکوریز آریسکولار (*Glomus mosseae*) و باکتری سودوموناس فلورسنتس بر رشد رویشی دان‌های پسته رقم قزوینی در چهار رژیم مختلف آبیاری. علوم باغبانی ایران، ۴۵(۳): ۳۰۷-۲۹۷.
- Ahemad, M. & Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting Rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University-Science, 26(1): 1-20.
- Ahmadloo, F., Tabari, M., Yousefzadeh, H. & Kooch, Y. 2012. Effects of soil nutrient on seedling performance of Arizona cypress and Medite cypress. Annals of Biological Research, 3(3): 1369-1380.
- Akbari, V. & Jalili Marandi, R. 2014. Effect of cycocel on growth and photosynthetic pigments of tow olive cultivars under different irrigation intervals. Journal of Horticulture Science, 460-469.
- Bissonnette, L., St-Arnaud, M. & Labrecque, M. 2010. Phytoextraction of heavy metals by two Salicaceae clones in symbiosis with *Arbuscular mycorrhizal* fungi during the second year of a field trial. Plant and Soil, 332(1-2): 55-67.
- Dichio, B., Romano, M., Nuzzu, V. & Xiloyannis, C. 2000. Soil water availability and relationship between canopy and roots in young olive trees (cv., Coratana). In IV International Symposium on Olive Growing, Potenza, Italy. 2000 Sep 25, 586: 255-258.
- Dickson, A., Leaf, A.L. & Hosner, J.F. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. The Forestry Chronicle, 36(1): 10-13.
- Dodd, I.C., Belimov, A.A., Sobeih, W.Y., Safronova, V.I., Grierson, D. & 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.
- Dominguez, J.A., Martin, A., Anriquez, A. & Albanesi, A. 2012. The combined effects of *Pseudomonas fluorescens* and *Tuber melanosporum* on the quality of *Pinus halepensis* seedlings. Mycorrhiza, 22(6): 429-436
- Dominguez, N., Daniel, M., Ana, D.L.C., Jose, A. & Saiz D.O. 2013. Effects of *Pseudomonas fluorescens* on the water parameters of Mycorrhizal and Non-Mycorrhizal seedlings of *Pinus halepensis*. Agronomy Journal, 3(3): 571-582

- Elfeel, A.A. & Al-Namo, M.L. 2011. Effect of imposed drought on seedlings growth, water use efficiency and survival of three arid zone species (*Acacia tortilis* subsp. *spradliana*, *Salvadora persica* and *Leptadenia pyrotechnica*). Agriculture and Biology Journal of North America, 2(3): 493-498.
- Garau, A.M., Lemcoff, J.H., Ghersa, C.M. & Beadle, C.L. 2008. Water stress tolerance in *Eucalyptus globulus* Labill, Subsp. *Maidenii* (F. Muell.) saplings induced by water restrictions imposed by weeds. Forest Ecology and Management, 255(7): 2811-2819.
- Garcia, J.A.L., Domenech, J., Santamaria, C., Camacho, M., Daza, A. & Manero, F.J.G. 2004. Growth of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with rhizobacteria: relationship with microbial community structure and biological activity of its rhizosphere. Environmental and Experimental Botany, 52(3): 239-251.
- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41: 109-117.
- Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J. & Duan, J. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. European Journal of Plant Pathology, 119(3): 329-339.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. & 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.
- Liu, F., Xing, S., Ma, H., Du, Z. & Ma, B. 2013. Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. Applied Microbiology and Biotechnology, 97(20): 9155-9164.
- Lugtenberg, B. & Kamilova, F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annual review of microbiology, 63(1): 541-556.
- Marulanda, A., Barea, J.M. & Azcon, R. 2009. Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. Journal of Plant Growth Regulation, 28(2): 115-124.
- Nagakura, J., Shigenaa, H.A. & Takahashi, M. 2004. Effects of simulated drought stress on the fine roots of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) in a plantation forest on the Kanto Plain. Eastern Japan. Journal of Forest Research, 12(2): 143-151.
- Oliet, J., Planelles, R., Artero, F. & Jacobs, D. 2005. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl, planted in Mediterranean semiarid conditions. Forest Ecology and Management, 215: 339-351.
- Oliet, J.A., Planelles, R., Artero, F., Valverde, R., Jacobs, D.F. & Segura, M.L. 2009. Field performance of *Pinus halepensis* planted in Mediterranean arid conditions: relative influence of seedling morphology and mineral nutrition. New Forests, 37(3):313-331.
- Rekha, P.D., Lai, W.A., Arun, A.B. & Young, C.C. 2007. Effect of free and encapsulated *Pseudomonas putida* CC-FR2-4 and *Bacillus subtilis* CC-pg104 on plant growth under gnotobiotic condition. Bioresource Technology, 98: 447-451.
- Rincon, A., Valladares, F., Gimeno, T.E. & Pueyo, J.J. 2008. Water stress responses of two Mediterranean tree species influenced by native soil microorganisms and inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium. Tree physiology, 28 (11): 1693-1701.
- Rosas, S.B., Andrez, J.A., Rovera, M. & Correa, N.S. 2006. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia-legume symbiosis. Soil Biology and Biochemistry, 38: 3502-3505.

- Sanchez-Blanco, M.J., Alvarez, S., Navarro, A. & Banon, S. 2008. Changes in leaf water relations, gas exchange, growth and flowering quality in potted geranium plants irrigated with different water regimes. *Journal of Plant Physiology*, 166(5): 467-476.
- Saxton, K.E., Rawls, W.J., Romberger, J.S. & papendick, R.I. 1986. Estimating generalized soil-water characteristics from texture. *Soil Science Society of America Journal*, 50(4):1031-1036.
- South, D.B., Harrisa, S.W., Barnett, J.P., Hains. M.J. & Gjerstad, D.H. 2005. Effect of container type and seedling size on survival and early height growth of *Pinus palustris* seedlings in Alabama, USA. *Forest Ecology and Management*, 204(2-3): 385-398.
- Stepanova, A.N., Robertson-Hoyt, J., Yun, L.M., Benavente, D.Y., Xie, K., Dolezal, S., Jurgens, G. & Alonso, J.M. 2008. TAA1-mediated Auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell*, 133(1):177-191.
- Susiluoto, S. & Berninger, F. 2007. Interactions between morphological and physiological drought responses in *Eucalyptus microtheca*. *Silva Fennica*, 41 (2): 221.
- Vassilev, N., Vassileva, M. & Nikolaeva, I. 2006. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(2): 137-144.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2): 571-586.
- Vyas, P. & A. Gulati, 2009. Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing *fluorescent Pseudomonas*. *BMC Microbiology*, 9(1): 174.
- Xie, H., Pasternak, J.J. & Glick, B.R. 2002. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12- 2 that over produce indoleacetic acid. *Current Microbiology*, 32: 67-71.

Effect of Rhizobacteria Inoculation on Improvement of Growth Characteristics of Mediterranean Cypress Seedling under Water Deficit Stress

Morteza Rooki¹, Masoud Tabari Kouchaksaraei^{2,*}, Seyed Ehsan Sadati³

¹ M.Sc. Student, Department of Forestry Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

² Professor, Department of Forestry Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

³ Assistant Research Professor, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sari, Iran

*Corresponding author, E-mail address: mtabari@modares.ac.ir

Received: 31.08.2016

Accepted: 13.02.2017

Abstract

Background and objectives: Mediterranean Cypress (*Cupressus sempervirens* var. *fastigiata*) is a native, evergreen species. Due to its various merits, particularly its wide use in parks and urban green spaces, it is of interest in most climatic regions of Iran, including Zagros provinces. Due to the poverty of soil and limitation in water sources, the production of seedlings of this species has become particularly problematic in some of these regions. By using rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* inoculation in soil, for the first time, the present study aims to determine the resistance and variations of growth characteristics of seedlings under water deficit conditions.

Materials and methods: The experiment was conducted as a factorial, using a completely randomized design with two treatments (i.e., with rhizobacteria and without rhizobacteria), different watering levels (3, 6, 9 and 12 days) in three replicates. After 5 months, growth characteristics of seedlings were measured.

Results: Increasing the watering period (water deficit) caused to significantly decrease the survival, diameter, shoot biomass and total biomass, so that all seedlings were died under 12-day watering level. In watering period of 9 days, survival was reduced to 49.83 percent. There was no significant difference in collar diameter, root length, root volume and root/shoot biomass with water deficit intensity. However, the survival rate, height growth, shoot biomass, root biomass, total biomass and seedling quality index were greater in seedlings inoculated with rhizobacteria, compared with those of non-inoculated seedlings.

Conclusion: The seedlings of Mediterranean Cypress inoculated with *Pseudomonas fluorescens* rhizobacteria are able to tolerate the water deficit stress and increase their growth performance; however, under optimal conditions, the rhizobacteria inoculation has no positive effect on survival rate of the seedlings.

Keywords: Biomass, *Cupressus sempervirens* var. *fastigiata*, Drought stress, *Pseudomonas fluorescens*, Seedling quality index, Survival

Translated references

- Bahmani, M., Jalali, S. Gh. A., Asgharzadeh, A. & Tabari Kouchaksaraei, M. 2014. Efficiency of inoculation of rhizobacteria *pseudomonas putida* 169 on improvement of growth and physiological characteristics of *Calotropis procera* Ait. seedlings under drought stress. *Soil Biology*, 2(1): 80-86. (In Persian with English Abstract).
- Ehsani Tabatabai, F. 2006. *Plant stress physiology*. Payam-e Noor University Press. 268p (In Persian).
- Hasani, G., Akhgar, A. & Tajabadipour, A., 2012. Effect of inoculated strains have the ability to produce IAA and ACC deaminase on the growth of pistachio trees. *Research of soil (Soil Science and Water)*, 26(1): 89-97. (In Persian with English Abstract).
- Hojjat Noughi, F., Akhgar, A.R., Esfandiarpour, I. & Khavazi, K. 2013. Evaluation of Population and properties of PGPB of endorhizosphere, rhizosphere and nonrhizosphere in pistachio seedlings. *Iranian Journal of Soil and Water Sciences*, 23(4): 215-234. (In Persian with English Abstract).
- Rostamikia, A., Tabari Kouchaksaraei, M., Asgharzadeh, A. & Rahmani, A. 2017. Effect of PGPR on growth characteristics and nutritional elements seedlings of *Corylus avellana* in nursery of Fandoghlo, Ardabil. *Journal of Forest and Poplar Research*, 25 (1).Saharan, B.S., & Nehra, V. 2011. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review*. *Life Science and Medicine Research*, 21(1): 1-30. (In Persian with English Abstract).
- Sabeti, H. 1993. *Forests, trees, and shrubs of Iran*. Yazd university, Yazd. 806p. (In Persian)
- Shoval, A., Shamshiri, M. H., Akhgar, A. & Esmaeilzadeh, M. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and *Pseudomonas fluorescens* on vegetative growth of pistachio seedlings Qazvini varieties in four different irrigation regimes. *Iranian Horticultural Science*, 45(3): 297-307. (In Persian with English Abstract).