مجله تحقیقات آب و خاک ایران (41) 2، 1389 (228-221)

بررسی برهمکنش قارچ میکوریز و باکتری سودوموناس بر پتانسیل آب برگ و عملکرد دو رقم آفتابگردان (*Heliantus annuus* L.) در یک خاک شور

مصطفی شیرمردی[1]*، غلامرضا ثواقبی فیروزآبادی[2]، کاظم خاوازی[3]، محسن فرحبخش[4]، فرهاد رجالی[5]و عبدالوهاب سادات[6]

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد [2] دانشیار، [4] استادیار، [6] دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی آب و خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران؛ [3، 5] استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب

(تاریخ دریافت: 1387/12/23- تاریخ تصویب: 1389/1/24)

چکیده

در این تحقیق، تأثیر قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری دارای توانایی تولید آنزیم ACC دآمیناز بر روابط آبی و شاخص های زراعی دو رقم آفتابگردان در خاکی با EC = 7 - 8 dS/m بررسی شد. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت آزمایش فاکتوریل انجام شد. فاکتورها شامل چهار سطح باکتری (سطح بدون باکتری،تلقیح با باکتریهای *Pseudomonas fluorescens* سویه‌های4، 9 و 12)، سه سطح قارچ (سطح بدون قارچ ، تلقیح با قارچهای *Glomus etunicatum*و*Glomus intraadices*) و دو رقم آفتابگردان (مستر و یوروفلور) بودند. نتایج نشان داد، تمام تیمارها محتوای نسبی آب برگ را در هر دو رقم به طور معنیداری افزایش دادند. تلقیح مجزای سودوموناس فلورسنس سویه 12و گلوموس اتونیکاتوم و همچنین تلقیح مشترک قارچها با هر سه باکتری توانست وزن تر و خشک طبق را در رقم یوروفلور نسبت به شاهد افزایش دهند.

واژههای کلیدی: باکتریهای ریزوسفری محرک رشدگیاه، تنش شوری، سودوموناس فلورسنس، قارچهای میکوریز آربسکولار، محتوای نسبی آب برگ

مقدمه

شوری خاک و آب از مهمترین عوامل محیطی کاهش دهنده رشد و تولید محصول در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران می باشند. افزایش فشار اسمزی محلول خاک و ایجاد خشکی فیزیولوژیکی، سمیت یونهای ویژه مانند کلر، سدیم و بر و عدم تعادل تغذیه‌ای از مشکلات ناشی از املاح محلول زیاد در محیط رشد ریشه است. بیشتر مشکلات شوری ناشی از زیادی کلرید سدیم در خاک می‌باشد (Kafi and Giri et al. . Damghani; 1981) (2007) گزارش دادند که بیش از 1000 میلیون هکتار از خاکهای جهان تتحت تاثیر شوری هستند. در ایران نیز بر اساس اطلاعات استخراج شده از نقشه منابع و استعداد خاکهای ایران ، مناطق دارای خاکهای تحت تاثیر شوری 44.5 میلیون هکتار می باشد (Banaei, 2005). متاسفانه به دلیل مدیریت غلط آبیاری و بهره برداری خاک ، بالا آمدن سطح آبهای زیرزمینی، وسعت خاکهای شور و میزان شوری رو به افزایش است . به کارگیری روش‌های مناسب مدیریتی برای بهره برداری پایدار از خاکهای شور و تولید مناسب محصول ضرورتی انکار ناپذیر می باشد .

آفتابگردان (*Helianthus annuus L*) یکی از دانه های روغنی مهم می باشد که سطح زیر کشت و تولید آن در ایران در سالهای اخیر روند صعودی داشته است و اغلب به خاطر روغن خوراکی آن مورد کشت و زرع واقع می شود . متاسفانه کشور ما از نظر روغن گیاهی به شدت به خارج وابسته می باشد و واردات روغن و کنجاله گیاهان روغنی در دهه های اخیر به طور مداوم افزایش یافته و طبق گزارش (FAO, 2005) به رقم سرسام آور بودن 800 میلیون دلار در سال رسسیده اسست و تنها 9درصد میزان مصرف سالیانه (800 هزار تن) تولید داخلی می باشد. لذا افزایش تولید این محصول گامی در جهت قطع وابستگی به خارج می باشد (Francois, 1996). آستانه شوری در آفتابگردان را 8/4 dS m-1 و درصد کاهش عملکرد دانه برای هر واحد EC بیشتر از پنج گزارش نموده است. Mass and Hoffman (1997) آفتابگردان را به عنوان یک گیاه نیمه حساس به شوری معرفی کردهاند که در شوری های 7-8 dS m^{-1} حدود 30-20 درصد کاهش عملکرد دارد .برای کاهش اثرات سوء شوری بر رشد و تولید محصول روشهای متفاوتی وجود دارد که یکی از آنها استفاده از کودهای بیولوژیک می باشد که در پایداری تولیدات کشاورزی از راه بهبود وضعیت تغذیه ای و روابط آبی و افزایش رشد گیاه نقش مهمی دارند.

* پست الکترونیک مکاتبه کننده: mos-shirmardi@yahoo.com

از مهمترین کودهای بیولوژیک که تولید و مصرف آن مورد توجه قرار گرفته است انواع باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ های میکوریزی می‌باشند. باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) از راه ساز وکارهای گوناگون باعث تحریک وبهبود رشد و تغذیه گیاهان می‌شوند. این باکتری‌ها از راه ساخت و آزاد سازی متابولیت‌های ثانویه مانند تنظیم کننده‌های رشد گیاهی یا فیتوهورمون‌ها و ترکیبات فعال بیولوژیک باعث جلوگیری یا کاهش پیامد منفی پاتوژنها بر گیاه می‌گردند و همچنین با بهبود زیست فراهمی و افزایش جذب برخی عناصر می‌توانند بر رشد گیاه پیامد سودمند داشته باشند (Glick , 1997).

توانایی ساخت آنزیم 1- آمینو سیکلو پروپان 1- کربوکسیلاز (ACC دآمیناز) توسط این باکتری‌ها از ساز و کارهای افزایش رشد گیاه در شرایط تنش است که سبب کاهش سطح اتیلن ناشی از تنش‌هایی مانند شوری از راه کاهش میزان ACC (پیش زمینه تولید اتیلن در گیاه) می‌گردد . Saravanakumar et al, 2006; Burd et al.2000) Mayak و همکاران (2004) گزارش کردند که *Achromobacter piechaudii* ARV8 دارای فعالیت ACC دآمیناز ، به طور معنیداری وزن تر و خشک نهالهای گوجهفرنگی رشد کرده در شرایط شور (بیش از172mM NaCl) را افزایش داد ، از طرفی بازده مصرف آب (WUE) نیز افزایش یافت. Cheng و همکاران (2007) گزارش کردند که باکتریهای حاوی ACC دآمیناز باعث کاهش سنتز اتیلن ناشی از شوری میشود و درنتیجه رشد گیاه را در محیط‌های شور افزایش میدهند.

همچنین یکی از مهم‌ترین روابط همزیستی در عالم حیات که در طی دوره تکامل به وجود آمده است، همزیستی میکوریزی میباشد که در آن، ریشه گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده، فعالیت میکنند و از یکدیگر سود می‌برند. میکوریز آربسکولار یکی از رایج ترین انواع همزیستی ریشه گیاهان با قارچها می‌باشد که از نوع اندومیکوریز است. زیرا هیفهای قارچ قادر به عبور از دیواره سلول‌های پوست ریشه می‌باشند. در تحقیقات اولیه بر روی میکوریز، عمدتاً پیامدهای مثبت این همزیستی بر تغذیه معدنی گیاهان گزارش شده بود (Mikola, 1973)، ولی بعدها محققین به پیامدهای غیرتغذیهای میکوریز از جمله توانایی دفع یونهای سمی، کنترل گسترش پاتوژنها و تأثیر بر فتوسنتز و روابط آبی گیاه نیز پی بردند (Auge et al. 2001). Davies و همکاران (2001) اثر قارچ *Glomus fasciculatum* بر کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه فلفل را بررسی کردند. تنش خشکی باعث کاهش پتانسیل آب برگ ، محتوای نسبی آب بافت، سطح برگ و همچنین زیست توده گیاه گردید. آنها گزارش کردند که قارچ *Glomus fasciculatum* به عنوان یک میکوریز آربسکولار، مقاومت گیاه فلفل را به خشکی افزایش داد که با افزایش پتانسیل آب برگ و زیست توده گیاه مشخص شد. Feng و همکاران (2002) گزارش کردند که قارچ *Glomus mosseae* میتواند مقاومت گیاه ذرت را به تنش شوری بهبود بخشد. آنها مشاهده کردند که گیاهان میکوریزی در شوری 100 mM کلرید سدیم دارای وزن خشک ریشه و ساقه بالاتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بودند . آنها همچنین گزارش کردند که مقدار فسفر گیاه وغلظت قندهای محلول در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزی بود. Subramanian و همکاران (2005) اثر قارچ *Glomus intradices* را بر تولید میوه، گل و همچنین کیفیت میوه گیاه گوجهفرنگی در شرایط تنش خشکی بررسی کردند . بر اساس نتایج ، قارچ *Glomus intradices* باعث افزایش معنیداری در تعداد گل و میوه شده بود و میوهها از کیفیت بالاتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی برخوردار بودند. وزن خشک اندام هوایی، جذب فسفر و پتاسیم در ساقه و ریشه گیاهان میکوریزی به طور قابل توجهی افزایش یافته بود.

Sannazzaro و همکاران (2006) اثر *Glomus intradices* را در تنظیم رشد گیاه عدس تحت شرایط شور بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی دارای سطح بالاتری از پلیآمین بودند و AM با استفاده از پلیآمین باعث افزایش سازگاری گیاه با شرایط شور شد . Sannazzaro و همکاران (2006) اثر قارچ *Glomus intradices* را در شرایط شور بر نوعی عدس بررسی کردند . نتایج حاکی از آن بود که قارچ *Glomus intradices* رشد گیاه را در شرایط شور بهبود بخشیده بود . گیاهان میکوریزی دارای نسبت K/Na بیشتری نسبت به شاهد بودند . آنها اعتقاد داشتند که جلوگیری از تجمع سدیم در گیاه و افزایش غلظت پتاسیم در ریشهها به عنوان سازوکار اصلی برای کاهش اثرات شوری بوده است. گیاهان میکوریزی سطح کلروفیل بالاتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی داشتند. Al-karaki (2006) گزارش داد که تلقیح بذور گوجه با *Glomus mosseae* در شرایطی که آبیاری گیاهان با آب شور صورت میگرفت باعث افزایش ماده خشک ریشه و اندام هوایی و همچنین غلظت فسفر ، پتاسیم ، آهن ، روی و مس شد . غلظت سدیم در گیاهان میکوریزی کاهش یافت. Griri وهمکاران (2007) گیاه اقاقیا را با قارچ *Glomus fasciculatum* به عنوان یک AM تلقیح و مشاهده کردند که گیاهان مایه زنی شده دارای زیست توده اندام هوایی و ریشه و غلظت فسفر ، روی و مس بالاتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی بودند. قارچ به کار رفته با بهبود تغذیه فسفر باعث

بهبود رشد گیاه در شرایط شور شد. باتوجه به اهمیت موضوع و لزوم به کارگیری روشهای مناسب برای کاهش اثرات مضر شوری ، این پژوهش با هدف بررسی اثرات اصلی و برهمکنش چند سویه باکتری سودوموناس فلورسنس دارای خصوصیت محرک رشد گیاه و دو گونه قارچ *Glomus etunicatum* و *Glomus intradices* بر دو رقم آفتابگردان در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روشها

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار در یک خاک شور منطقه اشتهارد کرج با EC برابر 7/8 دسی زیمنس بر متر انجام شد در این سطح شوری گیاه آفتابگردان 30-20 درصد کاهش عملکرد دارد (Mass and Hoffman , 1997) . تیمارها شامل سه سطح قارچ مایکوریزا (بدون قارچ (F0)، قارچ (F1) *Glomus erunicatum*) و (*Glomus intradices* (F2))، 4 سطح باکتری (بدون باکتری (B0)، تلقیح با *Pseudomonas fluorescens* سویه 4 (B1)، تلقیح با *سودوموناس فلورسنس* سویه 9 (B2)، تلقیح با *سودوموناس فلورسنس* سویه 12 (B3)) و دو رقم آفتابگردان (یوروفلور و مستر) بودند. خاک‌ها هوا خشک و سپس از الک 4 میلی‌متری عبور داده شد و آماده انتقال به گلدانها شدند. در آزمایشگاه خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک نمونه‌برداری شده عبور داده شده ازالک دو میلیمتری تعیین شد. بافت به روش هیدرومتر بایکاس(Sheldrick و Wang، 1993)، کربن آلی به روش اصلاح شده والکلی و بلاک (Ehyaei, and Behbahanizadeh, 1991) . نیتروژن خاک به روش کجلدال (Ehyaei, and Behbahanizadeh, 1991) فسفر قابل جذب به روش اولسن (Black et al. 1989) ، پتاسیم قابل جذب با روش عصاره گیری با استات آمونیوم یک نرمال (Ehyaei, and Behbahanizadeh, 1991)، سدیم در عصاره اشباع (Ehyaei, and Behbahanizadeh, 1991)، کلر به روش تیتراسیون با نیترات نقره (Ehyaei, 1991) و برای اندازهگیری آهن، روی، منگنز و مس قابل جذب از DTPA به عنوان عصارهگیر استفاده شد (Ehyaei, and Behbahanizadeh, 1991).

کشت گلخانه‌ای آفتابگردان (آماده‌سازی گلدان‌ها): در این پژوهش از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع cm22 با قطر دهانه cm20 استفاده شد و در هر گلدان 4000 گرم خاک الک شده ریخته شد. .

آماده سازی بذور: پس از تهیه دو رقم بذر آفتابگردان از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و شرکت کشت توسعه دانه های روغنی، بذور هم شکل جدا و سپس به مدت 7 دقیقه در آب ژاول 2/5 درصد قرار گرفتند. سپس با آب مقطر استریل 6 تا 7 مرتبه شسته شدند و به منظور جوانه دار شدن بر روی کاغذ صافی تمیز با فاصله چیده شدند و در داخل انکوباتور (با دمای 20 درجه سلسیوس) قرار گرفتند.

آماده سازی مایه تلقیح قارچی و باکتریایی: مایه تلقیح قارچی و باکتریایی به صورت پودری و در بسته های جدا از موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شدند . مایه تلقیح قارچی حاوی قارچ *Glomus etunicatum* و *Glomus intradices* بود که از خاکهای شور دشت تبریز جداسازی شده بودند و جمعیت آنها در مایه تلقیح استفاده شده $1/6\times104$ بافت های قارچی در هر گرم بود. مایه تلقیح باکتریایی حاوی *Pseudomonas fluorescens* سویه‌های 4، 9 و 12 بودند. ویژگیهای باکتریها در جدول یک آورده شده است.

جدول1- خصوصیات باکتریهای مورد استفاده در این تحقیق(اخگر، 2008)

نام باکتری	فعالیت آنزیم ACCدآمیناز h^{-1}- µmoles ml^{-1}	اکسین µg ml^{-1}	فراوانی باکتری در مایه تلقیح CFU ml^{-1}
Psedomonas fluorescens strain4	8/17	2/38	$7/7\times10^9$
strain9 P. fluorescens	4/45	0/93	$1/2\times10^9$
P. fluorescens strain12	4/61	1/2	$2/5\times10^9$

کاشت بذور

قبل از کشت گیاه، گلدان‌ها درحد ظرفیت مزرعه آبیاری شده و وقتی رطوبت مناسب جهت کشت فراهم گردید. در هر گلدان 4 حفره کوچک ایجاد شد و در هر حفره دو گرم مایه تلقیح قارچی و یک گرم مایه تلقیح باکتری بر اساس تیمارهای مورد نظر اضافه گردید. سپس یک بذر جوانه‌دار در آن قرار داده شد و آبیاری گلدان‌ها پس از رسیدن رطوبت به 70 درصد FC و تقریبا یک روز در میان با توزین گلدان‌ها و در حد FC صورت می‌گرفت. بر اساس آزمون خاک کودهای مورد نیاز به خاک اضافه شدند.نیتروژن به مقدار 50 میلی گرم در کیلوگرم خاک قبل از کاشت و 80 میلی گرم در کیلوگرم در اواسط دوره رشد بصورت اوره و فسفر به مقدار 20 میلی گرم در کیلوگرم P_2O_5 به صورت سوپر فسفات تریپل (حدود نصف مقدار نیاز) و آهن به مقدار 5 میلی گرم در کیلو گرم بصورت سکوسترین

آهن 138 بصورت محلول به خاک اضافه شدند . بعد از استقرار گیاهان در مرحله چهار برگی تعداد بوته ها به 2 عدد در هر گلدان کاهش یافت. در طول دورهی رشد دمای روزانه گلخانه حدود 25 درجه سانتیگراد تنظیم و ساعات روشنایی 12 ساعت در روز بود.

اندازه گیری پتانسیل آب برگ و میزان کلروفیل :

پتانسیل آب برگ به وسیله دستگاه دیجیتال اندازه گیری پتانسیل مدل EL540-300 و کلروفیل گیاه به وسیله کلروفیل متر دستی مدل SPAD-502 اندازهگیری شد (Fox, 1994).

اندازهگیری محتوای نسبی آب گیاه (RWC)

برای اندازهگیری میزان رطوبت نسبی (RWC) از آخرین برگ توسعه یافته گیاه نمونهبرداری و وزن آن یادداشت شد. سپس برگها به مدت 24 ساعت در آب مقطر غوطهور شدند ، پس از آن برگها از آب خارج و با کاغذ خشک کن، آب سطح برگ ها خشک شد و سپس نمونهها توزین شد. در نهایت برگ ها را داخل آون در دمای 65 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت قرار داده تا خشک شوند و از رابطه زیر برای محاسبه RWC استفاده شد (Yano, 2003).

$$RWC= \frac{\text{وزن برگ خشک} - \text{وزن برگ تازه}}{\text{وزن برگ خشک} - \text{وزن برگ اشباع شده}} \times 100$$

بعد از گذشت 90 روز از زمان کشت گیاه، گیاهان برداشت شده و ریشهها از خاک جدا شدند. سپس شاخصهای رشد از قبیل وزن تر و خشک اندام هوایی ، وزن خشک و تر طبق ، وزن خشک ریشه، درصد کلونیزاسیون ریشه و قطر طبق اندازهگیری شد. درپایان دورهی رشد سطح برگ با دستگاه اندازه گیری سطح برگ مدل GATE HOUSE اندازهگیری شد.

اندازهگیری درصد کلونیزاسیون ریشه

برای جدا کردن ریشهها از خاک، پس از اشباع کردن گلدان ها، خاک گلدانها با آب به آرامی شسته شد. پس از تمیز کردن ریشهها از جاهای مختلف ریشه حدود یک گرم نمونه تهیه و در ظروف حاوی آب و الکل به نسبت تنش شوری شده باشد. باکتریهای مورد استفاده در این تحقیق دارای توانایی تولید آنزیم ACC دامیناز بودند (جدول 1).

جدول2- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

نیتروژن کل (٪)	فسفر قابل جذب ($mgkg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب ($mgkg^{-1}$)	سدیم ($meql^{-1}$)	کلر ($meql^{-1}$)	کلسیم ($meql^{-1}$)	منیزیم ($meql^{-1}$)	SAR	آهن عصاره گیری با DTPA ($mgkg^{-1}$)	منگنز عصاره گیری با DTPA ($mgkg^{-1}$)	مس عصاره گیری با DTPA ($mgkg^{-1}$)	روی عصاره گیری با DTPA ($mgkg^{-1}$)
0/04	5/2	306	45/56	46/53	39/67	10	9/24	2/8	10/05	1/32	1/65

شن (٪)	سیلت (٪)	رس (٪)	بافت خاک	SP (٪)	FC (٪)	pH	EC (dSm^{-1})	کربنات	بیکربنات ($meql^{-1}$)	کربنات کلسیم معادل (٪)	گچ (٪)	کربن آلی (٪)
38	36	26	لومی	37/33	23	7/86	7/8	-	5/27	13/65	3/1	0/54

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تیمارها بر شاخصهای اندازه گیری شده در آفتابگردان در جدول 4 آورده شده است. نتایج نشان میدهند که هر دو قارچ به طور معنیداری وزن خشک طبق، RWC و درصد کلونیزاسیون ریشه را افزایش دادند. از طرفی هر سه باکتری وزن تر وخشک طبق، قطر طبق و RWC را به طور معنیداری افزایش دادند. نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارها بر قطر طبق، سطح برگ و درصد کلونیزاسیون ریشه در جدول5 آورده شده است. همانطور که مشاهده میشود قطر طبق رقم یوروفلور در تمام تیمارها به جز تیمار تلقیح مجزای *Pseudomonas fluorescens* سویه 4 و12و *Glomus intradices* ، به طور معنیداری نسبت به شاهد افزایش داشته و در مورد رقم مستر، تنها تیمار قارچ *Glomus intradices* نتوانست قطر طبق را نسبت به شاهد افزایش دهد. با توجه به این که قطر طبق از پارامترهای مرتبط با عملکرد به شمار می آید ، انتظار بر این است که با افزایش این شاخص ، بتوان به افزایش عملکرد نیز دست یافت. نتیجه مشابهی توسط Al-karaki (2006) گزارش شده که با کاربرد قارچ میکوریز آربسکولار ، عملکرد گیاه گوجه فرنگی در شرایط آبیاری با آب شور افزایش یافته بود.نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تلقیح رقم یوروفلور با *Pseudomonas fluorescens* سویه 9 ، سطح برگ را به طور معنیداری افزایش داد اما در مورد رقم مستر افزایش معنیداری مشاهده نشد(جدول 5).

در رقم یوروفلور اضافه شدن هر دو قارچ و همچنین تلقیح مشترک آنها با سویههای 4 و 9 *Pseudomonas fluorescens* باعث افزایش معنیداری در درصد کلونیزاسیون ریشه با قارچ شد و در مورد رقم مستر تلقیح گیاهان با *Glomus etunicatum* و تلقیح مشترک *Glomus intradices* و *Pseudomonas*

fluorescens سویه 9 باعث افزایش معنیداری در درصد کلونیزاسیون ریشه با قارچ شد(جدول5).

تمام تیمارها ،وزن خشک ریشه را نسبت به شاهد افزایش دادند که این افزایش در مورد تلقیح مشترک قارچ *Glomus intradices* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* سویه 9 معنیدار بود(جدول 6). تلقیح آفتابگردان رقم مستر با قارچ *Glomus intradices* و تلقیح مشترک *Glomus intradices* و *Pseudomonas fluorescens* سویههای 4 و 12 وزن خشک ریشه را نسبت به شاهد افزایش داد ، هر چند این افزایش معنیدار نبود(جدول 6). نتایج مشابهی توسط محققین دیگر در مورد افزایش وزن خشک ریشه به کمک قارچ آربسکولار میکوریز در شرایط شور گزارش شده است (Feng و همکاران، 2002؛ Davies و همکاران، 2001؛ Al-karaki، 2006). تلقیح مجزای *Pseudomonas fluorescens* سویه 12و *Glomus etunicatum* و همچنین تلقیح مشترک دو قارچ با هر سه باکتری توانست وزن تر و خشک طبق را در رقم یوروفلور نسبت به شاهد افزایش دهند(جدول 6). در مورد رقم مستر نیز تلقیح هر سه باکتری و *Glomus etunicatum* ، وزن تر طبق را به طور معنیداری افزایش داد ، همچنین تلقیح مشترک *Glomus etunicatum* با *Pseudomonas fluorescens* سویه4 و *Glomus intradices* با سویههای4و9*Pseudomonas fluorescens* باعث افزایش معنیدار وزن تر طبق شدند این در حالی است که تیمارها تغییر معنیداری در وزن خشک طبق رقم مستر ایجاد نکردند که این موضوع میتواند به دلیل تفاوتهای فنوتیپی و ژنوتیپی موجود بین دو رقم باشد(جدول6).

در مورد رقم یوروفلور تمام تیمارها توانستند وزن تر گیاه را نسبت به شاهد افزایش دهند که این افزایش در مورد کاربرد باکتری *Pseudomonas fluorescens* سویه 9 و همچنین تلقیح مشترک قارچ *Glomus etunicatum* و *Pseudomonas fluorescens* سویه 4 معنیدار بود اما در مورد رقم مستر افزایش معنیداری در وزن تر گیاه مشاهده نشد(جدول 6). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تمام تیمارها به جز تلقیح گیاهان با باکتری *Pseudomonas fluorescens* سویه4 و همچنین قارچ *Glomus intradices* توانستند وزن خشک اندام هوایی را در رقم یوروفلور به طور معنیداری افزایش دهند با این وجود تیمارهای استفاده شده نتوانستند افزایش معنیداری در وزن خشک رقم مستر ایجاد کنند(جدول 6). Mayak و همکاران (2003) گزارش کردند که *Achromobacter piechauudii* VRV8 که توانایی تولید آنزیم ACC آمیناز داشته است، در شرایط شور وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه گوجه فرنگی را به طور معنی داری افزایش داد. در تحقیقی دیگر، Mayak و همکاران (2004) اثر باکتری *Achromobacter piechauudii* VRV8 را بر رشد گیاه گوجه فرنگی و فلفل در شرایط تنش آبی بررسی و گزارش کردند که وزن تر و خشک هر دو گیاه در شرایط تنش آبی افزایش و تولید اتیلن نیز کاهش یافت. نتیجه مشابهی توسط Kohler و همکاران (2006) گزارش شده که تلقیح مشترک قارچ های میکوریز آربسکولار و باکتری های محرک رشد گیاه باعث افزایش معنی داری در وزن خشک اندام هوایی گیاه *Lactuca sativa* شد. با توجه به نتایج این تحقیق ،به نظر میرسد که تلقیح گیاهان با قارچ و باکتری ، با تأثیر مثبتی که بر روابط آبی گیاه داشته توانستهاند باعث افزایش زیست توده گیاهی در شرایط شور شوند. به طور کلی نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد این کودهای بیولوژیکی قارچی و باکتریایی در شرایط شور میتوانند به رشد گیاه و تولید محصول کمک نمایند. بررسیهای بیشتر در شرایط مزرعه ضروری میباشد.

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارها بر شاخصهای اندازهگیری شده در آفتابگردان

		میانگین مربعات									
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن تر طبق	وزن خشک طبق	قطر طبق	سطح برگ	پتانسیل آب برگ	RWC	درصد کلونیزاسیون	شاخص کلروفیل
قارچ	2	227/188**	3/156^{ns}	2/259**	50/619*	4/179*	0/55**	61209/885^{ns}	0/236**	137/402**	1526/321**	10/345*
باکتری	3	217/818**	12/211**	0/182^{ns}	121/868**	3/094*	0/6**	22091/038^{ns}	0/076^{ns}	33/547**	205/930**	1/566^{ns}
رقم	1	936/68**	191/507**	12/177**	313/168**	13/635**	1/283**	129140/01*	0/586**	8/766^{ns}	298/144**	715/151**
قارچ در باکتری	6	56/20^{ns}	1/398^{ns}	0/132^{ns}	71/594**	3/166**	0/316**	84480/288**	0/135*	99/477**	145/700**	2/238^{ns}
قارچ در رقم	2	12/689^{ns}	3/708^{ns}	1/638*	28/314^{ns}	6/949**	0/192^{ns}	10330/385^{ns}	0/099^{ns}	0/137^{ns}	32/422^{ns}	1/599^{ns}
باکتری در رقم	3	153/957*	15/538**	0/847^{ns}	60/685**	5/618**	0/087^{ns}	84354/844*	0/206**	22/132**	5/488^{ns}	2/228^{ns}
قارچ در باکتری در رقم	6	117/581*	6/728**	0/695*	24/257^{ns}	0/803*	0/104^{ns}	69430/510**	0/218**	9/629**	138/756**	4/572^{ns}
خطا	72	42/633	1/997	0/406	14/875	0/899	0/081	21839/941	0/047	2/824	40/039	2/744

ضریب تغییرات	7/55	9/48	24/42	10/4	14/74	6/17	12/68	12/33	2/19	9/53	3/77

** ، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح 1 و 5 درصد و غیر معنیدار

جدول4- مقایسه میانگین اثر اصلی تیمارها بر شاخصهای اندازهگیری شده در آفتابگردان

تیمار		وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن تر طبق	وزن خشک طبق	قطر طبق (cm)	سطح برگ (cm^2)	پتانسیل آب برگ (-Bar)	RWC (٪)	درصد کلونیزاسیون	کلروفیل (Measured SPAD value)
		g										
بدون قارچ	F_0	84/948ab	14/58a	2/404b	35/689b	6/034b	4/503b	1175/22ab	1/841a	74/22b	58/426b	43/488b
گلوموس اتونیکاتوم	F_1	83/968b	14/93a	2/514b	38/134a	6/741a	4/762a	1117/88b	1/784a	77/502a	69/493a	43/747b
گلوموس اینترادیسز	F_2	89/243a	15/206a	2/909a	37/422ab	6/521a	4/6b	1203/75a	1/672b	78/053a	71/118a	44/576a
بدون باکتری	B_0	84/934b	14/503b	2/64a	33/915b	5/903b	4/388b	1206/13a	1/733a	74/885b	70/335a	43/869a
سودوموناس فلورسنس سویه4	B_1	90/573a	15/886a	2/634a	39/241a	6/681a	4/667a	1171/33a	1/742a	77/149a	66/753ab	44/313a
سودوموناس فلورسنس سویه9	B_2	86/408b	14/966ab	2/681a	37/724a	6/626a	4/717a	1145/58a	1/738a	77/560a	64/155b	43/754a
سودوموناس فلورسنس سویه12	B_3	83/631b	14/273b	2/482A	37/448a	6/518a	4/717A	1139/42a	1/850a	76/773a	64/140b	43/811a
رقم یوروفلور	C_1	83/218b	13/495b	2/253b	35/276b	6/055b	4/506b	1202/29a	1/688b	76/894a	64/583b	46/666a
رقم مستر	C_2	89/555a	16/319a	2/965a	38/888A	6/809a	4/738a	1128/94b	1/844a	76/290a	68/108a	41/207b

*- **میانگینهای دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنیدار در سطح پنج درصد به روش دانکن میباشند**

جدول5- مقایسه میانگین اثر تیمارها بر روابط آبی و بعضی شاخصهای زراعی

تیمارها		پتانسیل آب برگ (-Bar)	RWC (%)	قطر طبق (Cm)	سطح برگ (Cm^2)	درصد کلونیزاسیون
رقم یوروفلور	F_0B_0	1/475 e	69/69f	4/025f	1078cdef	53/4k
	F_0B_1	1/725 bcde	75/29e	4/2ef	1297abc	56/7ijk
	F_0B_2	1/825 bcde	77/44bcde	4/525cde	1335ab	55/11jk
	F_0B_3	1/775 bcde	75/89de	4/45cdef	1218abcd	57/62hijk
	F_1B_0	1/475 e	79/53bc	4/6bcde	1117bcde	70/11bcde
	F_1B_1	1/825 bcde	75/97de	4/625abcde	1059cdef	69/47bcdef
	F_1B_2	1/475 e	78/33abcd	4/8abcd	1209abcd	68/04cdefgh
	F_1B_3	1/775 bcde	76/28de	4/625abcde	1197abcd	58/76ghijk
	F_2B_0	1/625 cde	80/33a	4/8f	1298abc	82/1a
	F_2B_1	1/575 de	78/2abcd	4/625abcd	1236abcd	68/17cdefg
	F_2B_2	1/475 e	78/33abcd	4/050abcd	1209abcd	68/04cdefgh
	F_2B_3	1/775 bcde	76/28de	4/625abcde	1197abcd	58/76ghijk
رقم مستر	F_0B_0	2/450 a	63/56g	4/2ef	1332ab	56/21defghij
	F_0B_1	1/65 cde	76/83cde	4/875abc	1114bcde	64/68defghij
	F_0B_2	1//8 bcde	77/7abcde	4/7abcd	1088bcdef	55/81ijk
	F_0B_3	2/025 b	77/36bcde	5/050ab	940/8ef	58/89fghijk
	F_1B_0	1/8 bcde	78/08abcde	5/1a	998/3def	78/32abc
	F_1B_1	1/7 bcde	46/47de	4/85abc	1123bcde	68/63bcdefg
	F_1B_2	1/825 bcde	78/41abcd	4/725abcd	1203abcd	61/09efghijk
	F_1B_3	1/95 bc	75/78de	4/725abcd	1059cdef	72/79abcd
	F_2B_0	1/575 de	78/13abcde	4/35def	1414a	72/87abcd
	F_2B_1	1/975 bc	80/14ab	4/75abcd	1200abcd	72/88abcd
	F_2B_2	1/575 de	76/16de	4/825abcd	871/5f	78/82ab
	F_2B_3	1/8 bcde	76/86cde	4/7abcd	1205abcd	76/31defgh

*- **میانگینهای دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنیدار در سطح پنج درصد به روش دانکن میباشند**

F_0: بدون قارچ، F_1: تلقیح با قارچ گلوموس اتونیکاتوم، F_2: تلقیح با قارچ گلوموس اینترادیسز، B_0: بدون باکتری، B_1: تلقیح با سودوموناس فلورسنت سویه 4، B_2: تلقیح با سودوموناس فلورسنت سویه9 و B_3: تلقیح با سودوموناس فلورسنت سویه12

جدول6- مقایسه میانگین اثر تیمارها بر وزن تر وخشک اندام هوایی، ریشه و طبق آفتابگردان

تیمارها		وزن تراندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن تر طبق	وزن خشک طبق
		g				
رقم یوروفلور	F_0B_0	76/21e	11/21j	1/685f	29/39gh	4/375e
	F_0B_1	83/79bcde	12/77hij	1/592ef	30/05fgh	4/562de
	F_0B_2	88/83abcd	13/45ghi	2/055def	34/82defg	5/33cde
	F_0B_3	84/96bcde	13/71fghi	2/005ef	36/95abcde	6/280abc
	F_1B_0	77/81de	13/80efghi	2/58bcdef	36/04cdef	6/912abc
	F_1B_1	79/62cde	13/65fghi	2/225cdef	36/44bcde	6/508abc
	F_1B_2	81/39cde	14/29defgh	2/53bcdef	37/29abcde	7/042ab
	F_1B_3	82/07cde	13/4ghi	2/34cdef	37/32abcde	6/505abc
	F_2B_0	80/53cde	11/49ij	2/030def	27/98h	4/17e
	F_2B_1	98/81a	15/78bcdefg	2/435bcdef	40/64abcd	6/46abc
	F_2B_2	84/63bcde	14/61cdefgh	3/16abc	39/39abcd	7/518ab
	F_2B_3	79/97cde	13/79efghi	2/038def	37/01abcde	6/998ab
رقم مستر	F_0B_0	90/74abc	16/83abc	3/118abcd	32/30efgh	6/29abc
	F_0B_1	93/33ab	18/07ab	2/778bcde	43/04a	7/61a
	F_0B_2	88/36abcd	15/9abcdef	2/662bcdef	39/15abcd	6/678abc
	F_0B_3	81/36cde	14/72cdefgh	2/978abcde	39/81abcd	7/15ab
	F_1B_0	85/37bcde	15/91abcdef	2/488bcdef	42/92ab	7/22ab
	F_1B_1	93/93ab	18/2a	2/925abcde	43/02a	7/508ab
	F_1B_2	87/46bcd	16/33abcd	2/8bcde	35/68cdef	6/35abc
	F_1B_3	84/10bcde	13/91efgh	2/225cdef	36/37bcde	5/88bcd
	F_2B_0	98/94a	17/8ab	3/94a	34/86defg	6/45abc
	F_2B_1	93/96ab	16/86abc	3/488ab	42/26abc	7/438ab
	F_2B_2	87/78bcd	15/22cdefg	2/878bcde	40/02abcd	6/838abc
	F_2B_3	89/33abc	16/11abcde	3/308abc	37/23abcde	6/295abc

*- میانگینهای دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنیدار در سطح پنج درصد به روش دانکن میباشند

F_0: بدون قارچ، F_1: تلقیح با قارچ گلوموس اتونیکاتوم، F_2: تلقیح با قارچ گلوموس اینترادیسز، B_0: بدون باکتری، B_1: تلقیح با سودوموناس فلورسنت سویه 4، B_2: تلقیح با سودوموناس فلورسنت سویه9 و B_3 : تلقیح با سودوموناس فلورسنت سویه12

REFERENCES

Akhgar, A. R., 2008. Isolation, Identification and Effectiveness of ACC deaminase producing rhizobacteria on the growth of canola (*Brassica napus*) under salt stress. Ph.D. Thesis, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 163p.

Al-Karaki, G. N., 2006. Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. Scientia Hort.: 109:1-7.

Azcon, R., 1987. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae* in vitro: effects of rhizosphere bacteria and cell-free culture media. Soil Biol. Biochem. 19: 417–419.

Auge, R. M., X. Duan , R. C. Ebel and A. J. W., Stodola, 2001. Nonhydraulic signaling of soils drying in mycorrhizal maize .Planta:193:74–82.

Banaei, M. H., A. Moameni, M. Bybordi and M. J., Malakouti, 2005. The Soils of Iran. Soil and Water Research Institute. Tehran. Iran. 481p.

Black A. L., R. H. Miller and D. R., Keeney, 1989. Methods of Soil Analysis. Part II ASA, I. SSSA, No.9.

Burd, G.I., D.G. Dixon and BR., Glick, 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Can. J. Microbiol. 46:237–245.

Cheng, Z., E., Park and B.R., Glick, 2007. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. Can. J. Microbiol.

Davies, Jr. F. T. , V. Olalde-Portugal , L. Aguilera-Gomez, M. J. Alvarado , R.C. Ferrera-Cerrato and T.W., Boutton, 2001. Alleviation of drought stress of Chile ancho pepper (*Capsicum annuum*) with arbuscular mycorrhiza indigenous to Mexico Scientia Hort.92:347-359.

Ehyaei, M. and A. A., Behbahanizade 1991. Methods of Soil Chemical Analysis. Soil and Water Research Institute. Tehran. Iran. No.983.

FAO. 2000. Global Network on Integrated Soil Management for Sustainable Use of Salt-affected Soils. Country Specific Salinity Issues – Iran. Rome, Italy: FAO.

Feng, G., F. S. Zhang, X. L. Li, C. Y. Tian and C., Tang, 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by Arbuscular Mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza: 12: 185-190.

Fox, R.H., W.P., Piekielek and K.M., Macneal, 1994. Using a chlorophyll meter to predict nitrogen fertilizer needs of winter wheat. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 25, 171–181.

Francois, L.,1996 .Salinity effects of four sunflower hybrids. Agron. J. 88:215-219.

Giovannetti, M. and B., Moss, 1980. Estimating the percentage of root length colonized (Grindline-intersect method). New Phytol. 84: 489-500.

Giri, B., R. Kapoor and K.G., Mukerji, 2007.Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues.Microbial Ecology: 54:753-760.

Glick, B.R., C. Liu, S. Ghosh. and E. B., Dumbroff, 1997. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth- promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Soil Biol. Biochem. 29: 1233-1239.

Hardie, K. and L., Leyton, 1981.The influence of vesicular arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. I. In phosphate deficient soil. New Phytol. 89:599-608.

http:// www.fao.org/corp/statistics/en/

Kafi, M. and A.M., Damghani, 2001. Mechanisms of Enviromental Stress Tolerance in Plants. Ferdowsi University of Mashhad Publication. Mashhad. Iran. 467p.

Kohler, J. , F. Caravaca, L. Carrasco and A., Roldan, 2006 . Interaction between a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium, an AM fungus and a phosphate-solubilising fungus in the rhizosphere of *Lactuca sativa*. Soil Ecology: 35: 480-487.

Mass, E. V. and G. J., Hoffman, 1977. Crop tolerance – current assessment. J. Irrig. Drain Div. Am. Soc. Civil Eng. 103: 115-134.

Mayak, S., T. Tirosh and BR., Glick, 2004. Plant Growth-Promoting Bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiol. Biochem. 42:565–572.

Mayak, S., T. Tirosh and BR., Glick, 2003. Plant Growth-Promoting Bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science .166:525-530.

Mikola, P., 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. PP. 383-411, Academic Press, London.

Philips, J. M. and D. S. Hayman, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhiza fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society: 55:158-161.

Sannazzaro , A. I., O. A., Ruiz , E.O. Alberto and A. B., Menendez, 2006. Alleviation of salt stress in *lotus glaber* by *Glomus intradices*.Plant Soil.285:279-287.

Saravanakumar, D. and R., Samiyappan, 2007. ACC deaminase from *Pseudomonas xuorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. J. Appl. Microbiol. 102:1283–1292.

Sheldrick, B. H. and C., Wang, 1993. Particle size distribution. P.499-511. In:M.R. Carter. Soil Sampling and Methods of Analysis. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers.

Subramanian, K. S., P. Santhanakrishnan and P., Balasubramanian, 2005. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. Scientia Horticulturae: 107:254-253.

Yano-Melo A. M, Saggin O. J,, Maia L. C. 2003. Tolerance of mycorrhized banana (Musa sp. cv. Pacovan) plantlets to saline stress. Agric Ecosyst Environ 95:343–348.