

بررسی اثر قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus mosseae*) و باکتری سودوموناس فلورسنت بر جذب عناصر غذایی نهال‌های پسته رقم قزوینی در چهار رژیم آبیاری

افسانه شول^{۱*}، محمد حسین شمشیری^۱، عبدالرضا اخگر^۲ و مجید اسماعیلی‌زاده^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱/۲۴)

چکیده

پسته یکی از محصولات مهم صادراتی کشور است و با توجه به میزان کم بارندگی در ایران تولید آن با مشکل کمبود آب روبرو شده است. یکی از راه‌هایی که در سال‌های اخیر برای مقابله با کم آبی و تنش خشکی در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته، استفاده از قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های حل‌کننده فسفات است. بنابراین به منظور بررسی اثر همزیستی قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و باکتری سودوموناس فلورسنتس سویه P₅₂ بر جذب عناصر غذایی توسط نهال‌های پسته رقم قزوینی در شرایط تنش خشکی، یک آزمایش گلخانه‌ای با چهار سطح تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه (FC) به‌عنوان شاهد و سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد FC) و چهار سطح از کود زیستی (گیاهان بدون میکوریز و باکتری به‌عنوان گیاهان شاهد، میکوریز به‌تنهایی (۱۰۰ گرم مایه تلقیح میکوریز در هر گلدان)، باکتری به‌تنهایی (دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری در هر گلدان) و ترکیب میکوریز و باکتری (۱۰۰ گرم مایه تلقیح میکوریز و دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری در هر گلدان)) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. این آزمایش بین سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۰ روی نهال‌هایی با سن سه ماه انجام شد و تعداد نهال‌ها در هر گلدان سه عدد بود. در این آزمایش کاربرد باکتری در شرایط خشکی روی درصد آلودگی ریشه اثر معنی‌داری نداشت. صرفه‌نظر از اثر تیمار باکتری، افزایش خشکی سبب افزایش آلودگی ریشه شد. میزان فسفر با کاربرد کود زیستی افزایش یافت و در بیشتر موارد بیشترین میزان فسفر در تیمار میکوریز و تیمار ترکیبی باکتری و میکوریز در تنش خشکی ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه به‌دست آمد. بیشترین محتوای پتاسیم شاخساره در تیمار ترکیبی میکوریز و باکتری مشاهده شد. بیشترین میزان کلسیم ریشه در تنش خشکی ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه ثبت شد. تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار عناصر کم مصرف در سطح ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه نسبت به شاهد شد درحالی‌که در ریشه بی‌تأثیر بود. در نهایت، نتایج این مطالعه نشان داد که در بیشتر موارد تیمار ترکیبی میکوریز و باکتری با افزایش عناصر و به‌خصوص فسفر در تنش خشکی شدیدی، سبب افزایش مقاومت به خشکی در نهال‌ها شد.

واژه‌های کلیدی: باکتری سودوموناس فلورسنت، پسته، تنش خشکی، جذب عنصر، میکوریز، نهال

۱. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد و استادیاران علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان

۲. استادیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shool_136611@yahoo.com

مقدمه

پسته یکی از مهم‌ترین محصولات صادراتی کشور ایران به حساب می‌آید که به‌طور عمده در استان کرمان و به‌ویژه در شهرستان رفسنجان تولید می‌شود که بنا بر گزارش فائو در سال ۲۰۰۶، یکی از بزرگ‌ترین مراکز تولید پسته در جهان است و افزایش سطح زیر کشت باغ‌های آبی پسته در منطقه رفسنجان طی دو دهه گذشته به همراه خشک‌سالی‌های متوالی، منابع آبی را به‌شدت کاهش داده به‌طوری‌که در حال حاضر کمبود آب مهم‌ترین مشکل تولیدکنندگان پسته در این مناطق محسوب می‌شود. لازم به یادآوری است که اگرچه درخت پسته یک گیاه مقاوم به خشکی می‌باشد، این بدین معنا نیست که این درخت برای تولید محصول کافی به آب کم نیاز دارد (۷).

یکی از پیامدهای تنش خشکی، تأثیر بر جذب عناصر است که بنا بر پژوهش‌های انجام شده به دو صورت کاهش می‌یابد: الف) زمانی که گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، هدایت روزنه‌ای کاهش یافته و در نتیجه از میزان تعرق نیز کاسته می‌شود و از آنجا که تعرق یکی از مهم‌ترین سازوکارها در روند جذب غیرفعال عناصر می‌باشد، در نهایت جذب عناصر به‌وسیله ریشه و انتقال آنها از ریشه به شاخساره کاهش می‌یابد (۲ و ۴۰). ب) با افزایش تنش خشکی از میزان رطوبت خاک کاسته می‌شود و از آنجایی که عناصر محلول در آب پیرو فرایند انتشار برای جذب به سطح ریشه نزدیک می‌شوند، در تنش خشکی از میزان انتشار آنها کم شده و در نتیجه میزان جذب آنها توسط ریشه گیاهان کاهش می‌یابد (۲ و ۴۲).

همزیستی ریشه بسیاری از گیاهان با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به اثبات رسیده است (۱۲). پیامد این همزیستی، فایده‌هایی است که نصیب دو طرف می‌شود به‌طوری‌که گیاه ترکیبات آلی مورد نیاز برای رشد قارچ را فراهم می‌آورد و قارچ نیز بستر مناسبی را برای افزایش کارایی سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان در جذب آب و عناصر محلول ایجاد می‌نماید. مشخص شده است که آلودگی ریشه گیاهان با قارچ میکوریز باعث افزایش جذب عناصر کم‌مصرف مانند روی، مس (۲۰) و

عناصر پرمصرف مانند فسفر، پتاسیم، گوگرد، منیزیم، کلسیم (۱۹) می‌شود. افزایش سطح ریشه‌های میکوریزی، اولین عامل افزایش جذب عناصر غذایی محسوب می‌شود. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار قادرند که مواد را از فاصله حدود هشت سانتی‌متری ریشه‌ها، به ریشه انتقال دهند (۲۵). فسفر بعد از نیتروژن مهم‌ترین عنصر غذایی است که کمبود آن می‌تواند رشد گیاهان را محدود کند. فسفر جز اصلی اسید نوکلئوتید، فسفولیپیدها، فسفوپروتئین‌ها و دی نوکلئوتیدها می‌باشد. فسفر هم‌چنین در فرآیند ذخیره و انتقال انرژی، فتوسنتز، تنظیم بعضی از آنزیم‌ها و انتقال کربوهیدرات‌ها نقش ایفا می‌کند (۴۲). این افزایش در جذب فسفر در همزیستی میکوریزی را به عواملی همچون نفوذ میسلیم‌های قارچ به مناطقی از خاک ورای ناحیه تخلیه، حرکت سریع فسفر در میسلیم‌های قارچ و حلالیت فسفر در خاک نسبت می‌دهند (۱۰). نشان داده شده است که قارچ‌های میکوریز می‌توانند در خاک‌هایی که میزان فسفر کم یا متوسط باشد در جذب فسفر به گیاه کمک کنند (۳ و ۴۱).

پژوهش‌های اندکی در مورد همزیستی میکوریز با گیاه پسته انجام شده است. در یک مطالعه نشان داده شد که قارچ میکوریز با ریشه‌های پسته همزیستی ایجاد می‌کند و کاربرد زیاد فسفر باعث کاهش همزیستی درختان پسته با میکوریز می‌شود (۳۶). باکتری‌های آزادی مفید ریزوسفر را اغلب باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌نامند. باکتری‌های سودوموناس فلورسنت نیز جز این دسته از باکتری‌ها به حساب می‌آیند. باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند از دو راه مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و نمو گیاه اثر مفید داشته باشند. افزایش غیرمستقیم بر گیاه زمانی اتفاق می‌افتد که این باکتری‌ها برخی از اثرات مضر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (اغلب قارچ‌ها) را با استفاده از یک یا چندین سازوکار حذف و یا تعدیل نمایند (۱۴)، در صورتی‌که افزایش مستقیم رشد گیاه معمولاً مستلزم تولید یک ترکیب خاص و مؤثر بر رشد گیاه و یا تسهیل در جذب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه توسط این باکتری‌هاست (۱۴). اکثر این باکتری‌ها دارای توانایی تحریک رشد گیاه از طریق تولید اکسین

نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در محلول پراکسید هیدروژن قلیایی قرار گرفتند و سپس به مدت سه دقیقه در محلول یک درصد اسید کلریدریک نگهداری و سپس با معرف تریپان بلو رنگ آمیزی شدند (۳۸). میزان آلودگی آنها بر طبق فرمول زیر محاسبه شد (۳۰).

$100 \times$ تعداد ریشه مشاهده شده / تعداد ریشه آلوده شده = درصد آلودگی ریشه جهت تلقیح گیاهان پسته با باکتری از سوسپانسیون باکتری سودوموناس فلورسنس سویه P₅₂ که از ریزوسفر نهال‌های پسته جداسازی شده و یک باکتری محرک رشد است، استفاده شد. تیمار قارچ و باکتری در چهار سطح شامل: تیمار باکتری، تیمار میکوریز، تیمار ترکیبی میکوریز و باکتری و گیاهان شاهد (بدون قارچ و باکتری) در زمان کشت انجام شد.

آماده‌سازی خاک، کشت بذر و تیمار خشکی

در این آزمایش از بذره‌های پسته رقم قزوینی برای کاشت استفاده شد. ابتدا خاک مزرعه و ماسه به نسبت ۲:۱ مخلوط (برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مخلوط خاکی در جدول ۱ آورده شده است) و به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ اتمسفر اتوکلاو شد. برای هر گلدان به میزان ۲/۴ گرم سنگ فسفات پودر شده به‌عنوان منبع فسفر نامحلول با خاک به‌صورت یکنواخت مخلوط شد. در گلدان‌های شاهد، ابتدا ۳/۶ کیلوگرم خاک ریخته شد و بعد از آن شش بذر جوانه‌دار پسته رقم قزوینی روی سطح خاک قرار داده شد و با دو سانتی‌متر خاک اتوکلاو شده پوشانده شد. در تیمار میکوریز ابتدا سه کیلوگرم خاک در گلدان ریخته و سطح خاک با ۱۰۰ گرم از مایه قارچ پوشانده شد و پس از افزودن دو سانتی‌متر از مخلوط خاکی، شش بذر جوانه‌دار شده روی سطح خاک قرار داده و در نهایت سطح گلدان با دو سانتی‌متر دیگر از مخلوط خاکی اتوکلاو شده پوشانده شد. در گلدان‌هایی با تیمار باکتری ابتدا ۳/۶ کیلوگرم خاک در گلدان ریخته و شش بذر جوانه‌دار شده روی سطح خاک قرار داده شد و دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری را با سمپلر روی هر بذر ریخته و سپس

(۲۸)، آنزیم ای سی سی دامیناز (ACC deaminase) (۲۹)، تبدیل فسفر نامحلول به محلول (۱۱)، تولید سیدروفور (۲۴)، اسید سالیسیلیک (۲۳)، کیتیناز (۱) می‌باشند. افزایش قابلیت استفاده فسفر برای گیاه توسط باکتری‌های محرک رشد مهم‌ترین نقشی است که این باکتری‌ها در افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی برای گیاهان میزبان خود دارند (۳۳). حل کردن فسفات توسط این باکتری‌ها معمولاً از طریق ترشح اسیدهای آلی و فسفات‌ها صورت می‌گیرد که سبب تبدیل فرم‌های نامحلول معدنی و آلی فسفر به فرم‌های قابل جذب می‌شود (۱۷). نقش اسیدهای آلی در حلالیت فسفات‌های نامحلول، به کاهش pH، کلات نمودن کاتیون‌ها و رقابت با فسفر جهت اشغال مکان‌های جذب در خاک، نسبت داده می‌شود (۱۱).

با توجه به این‌که از کاربرد باکتری‌های محرک رشد روی پسته به تنهایی یا در تلفیق با میکوریز آربوسکولار گزارشی در دست نیست، به همین دلیل آزمایش حاضر به منظور ایجاد مقاومت به تنش خشکی در نهال‌های پسته رقم قزوینی از جنبه جذب عناصر به‌ویژه فسفر از طریق کاربرد تلفیقی میکوریز و باکتری حل‌کننده فسفات اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مکان آزمایش، مواد بیولوژیکی و تیمارها

این آزمایش به‌صورت گلخانه‌ای بین سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۰ در دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان انجام شد. مایه قارچ گلوبوموس موسه طی یک دوره سه ماهه روی ریشه گیاه سورگوم تکثیر شد و در پایان این دوره با قطع آبیاری و حذف اندام هوایی گیاه، ریشه‌ها قطعه‌قطعه شده و با مقداری از خاک گلدان مخلوط شدند. قبل از این مرحله، نمونه‌هایی از ریشه سورگوم تهیه و پس از رنگ‌آمیزی در آزمایشگاه، میزان آلودگی ۸۰ درصد تشخیص داده شد. برای رنگ‌آمیزی ریشه‌ها ابتدا آنها با آب مقطر کاملاً شسته شده و سپس به قطعات دو سانتی‌متری تقسیم و در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۵ درصد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. در مرحله بعد

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش حاضر

Mn (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Fe (ppm)	Mg (meq/l)	Ca (meq/l)	K (mg/kg)	P (mg/kg)	N (%)	EC	pH	بافت	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)
۲/۷۱	۰/۶۲	۱/۱۸	۲/۸۷	۶/۲	۶/۴	۱۳۹	۵	۰/۱۲	۱/۷	۷/۹	شنی لومی	۷۴	۱۰	۱۶

گرم از نمونه خشک و آسیاب شده را وزن کرده و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت قرار داده شد تا نمونه‌ها خاکستر شدند و سپس اسید کلریدریک دو نرمال به میزان پنج میلی‌لیتر به ازای هر نمونه اضافه شد و در نهایت توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. این عصاره به طور مستقیم جهت اندازه‌گیری عناصر پتاسیم، کلسیم، مس، منگنز و آهن به کار رفت. عناصر کلسیم، مس، منگنز و آهن بعد عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه جذب اتمیک مدل JBC ساخت شرکت Avanta و پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر مدل TST7 ساخت شرکت Jenway اندازه‌گیری شد (۲۷). جهت اندازه‌گیری فسفر که به روش آمونیوم مولیبدات و آمونیوم وانادات (زرد) انجام شد ابتدا پنج میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده در مرحله قبل را با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط کرده و در نهایت توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد (۲۷) و بعد از عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T80 UV/VIS در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور (خشکی و کود زیستی) در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار (هر تکرار شامل یک گلدان) انجام شد. تعداد نهال در هر گلدان سه عدد بود. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و MSTATC انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد صورت گرفت.

دو سانتی‌متر از خاک اتوکلاو شده روی سطح خاک ریخته شد. در تیمار تلفیقی مجموعه مراحل بالا برای هر گلدان انجام شد. پس از کشت به فاصله زمانی هر دو روز یکبار آبیاری صورت گرفت. در تمام طول دوره آزمایش جهت آبیاری از آب مقطر استفاده شد. پس از گذشت سه ماه و قبل از آغاز تیمارهای خشکی جهت اطمینان از آلوده شدن ریشه‌ها، نمونه‌گیری از ریشه گیاهان پسته به صورت تصادفی انجام و در آزمایشگاه میزان آلودگی ۸۰ درصد تشخیص داده شد.

برای ایجاد تنش خشکی از شاخص ظرفیت مزرعه استفاده و سطوح آن به صورت وزنی مشخص شد، بدین صورت که ابتدا سه گلدان حاوی چهار کیلوگرم خاک آزمایش آبیاری شده و روی آنها با نایلون پوشانده شد تا تبخیر صورت نگیرد و پس از خروج آب اضافی، گلدان‌ها مجدداً توزین شده و میانگین اعداد به دست آمده به عنوان وزن گلدان در حالت ظرفیت مزرعه در نظر گرفته شد و بقیه تیمارهای خشکی بر مبنای آن محاسبه شد. تیمارهای خشکی در چهار سطح شامل ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه به عنوان شاهد، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه در نظر گرفته شد و تا پایان آزمایش گلدان‌ها به صورت روزانه توزین و مقدار آب لازم به گلدان‌ها اضافه شد.

پس از گذشت ۸۰ روز از آغاز تنش خشکی، آزمایش با خارج نمودن گیاهان از خاک و تقسیم آنها به ریشه، ساقه و برگ پایان یافت و درصد آلودگی ریشه‌ها و میزان عناصر غذایی اندازه‌گیری شد. میزان آلودگی ریشه مطابق آنچه که قبلاً توضیح داده شد صورت گرفت. عناصر غذایی که در این آزمایش اندازه‌گیری شد شامل فسفر، پتاسیم، کلسیم، روی، مس، منگنز و آهن در برگ، ساقه و ریشه بود. برای تهیه عصاره ابتدا ۵/۵

جدول ۲. جدول تجزیه واریانس عناصر غذایی برگ، ساقه و ریشه در نهال‌های پسته رقم قزوینی

منگنز	میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
	آهن	مس	روی	کلسیم	پتاسیم	فسفر		
								برگ
۵۰۴/۵۴**	۲۵۱۳/۹۸**	۸/۰۴۹*	۱۰۳/۸۶**	۱/۳۹۸ ^{ns}	۶/۰۷۸**	۰/۰۰۰۶۸ ^{ns}	۳	خشکی
۵۲/۲۶ ^{ns}	۲۶۵/۱۵ ^{ns}	۱۶/۶۷**	۴۱/۳۷**	۱/۰۱۵ ^{ns}	۳/۱۳۸ ^{ns}	۰/۰۰۱۴۳*	۳	کود زیستی
۳۴/۱۲ ^{ns}	۱۹۱/۲۱ ^{ns}	۴/۸۳*	۲۲/۴**	۰/۶۲۷ ^{ns}	۱/۳۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۱۲۱*	۹	خشکی × کود زیستی
۲۵/۶۴	۲۵۷/۸	۲/۰۱۴	۶/۵۸	۱/۱۴۲	۱/۱۳۷	۰/۰۰۰۴۶	۴۸	خطا
۲۱/۴	۱۶/۱	۲۰/۸	۲۴/۸	۲۰/۸	۱۴/۷	۲۲/۴		CV
								ساقه
۵۶/۸ ^{ns}	۵۰۷/۹۳**	۴/۷۶**	۱۵۶/۸۴**	۰/۹۸۷ ^{ns}	۰/۰۰۹۴ ^{ns}	۰/۰۰۱۱*	۳	خشکی
۲۱/۶۵ ^{ns}	۶۰۵/۶۳**	۳/۶۹**	۲۱/۸۹ ^{ns}	۰/۵۴۱ ^{ns}	۰/۰۱۷۹*	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۳	کود زیستی
۱۷/۰۴ ^{ns}	۳۹۱/۱**	۲/۵۸**	۳۸/۹۷**	۰/۲۸۳ ^{ns}	۰/۰۰۶۳ ^{ns}	۰/۰۰۱۱**	۹	خشکی × کود زیستی
۲۶/۶۸	۱۰۴/۰۱	۰/۶۶۵	۱۳/۲	۰/۶۳۳	۰/۰۰۴۷	۰/۰۰۰۳۴	۴۸	خطا
۲۴/۹	۲۱/۸	۱۵/۱	۲۵/۷	۲۰/۴	۷/۹	۱۷/۱		CV
								ریشه
۵۸۷/۰۱**	۵۵۴۷/۰۹ ^{ns}	۲۹/۸۵**	۱۷/۱۴ ^{ns}	۶/۴۲۳**	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۶۴ ^{ns}	۳	خشکی
۲۹۴۶/۷**	۱۰۳۳۴۱/۰۷*	۱۳/۹*	۴۰/۰۴*	۱/۵۸۷ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۱۴۷*	۳	کود زیستی
۹۶۷/۶**	۷۸۸۸۲/۶۵**	۵/۸۲ ^{ns}	۱۶/۳۳ ^{ns}	۱/۲۹۳ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۶۷ ^{ns}	۹	خشکی × کود زیستی
۲۷۱/۸۴	۲۶۳۰۰/۸	۳/۵۵	۱۰/۳۴	۰/۷۸۰	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۴۹	۴۸	خطا
۱۴/۴	۱۹/۳	۱۵/۵	۲۳/۲	۲۰/۹	۹/۷۳	۱۷/۷		CV

*، ** و ^{ns}: به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪، ۵٪ و غیرمعنی دار

نتایج

عناصر غذایی

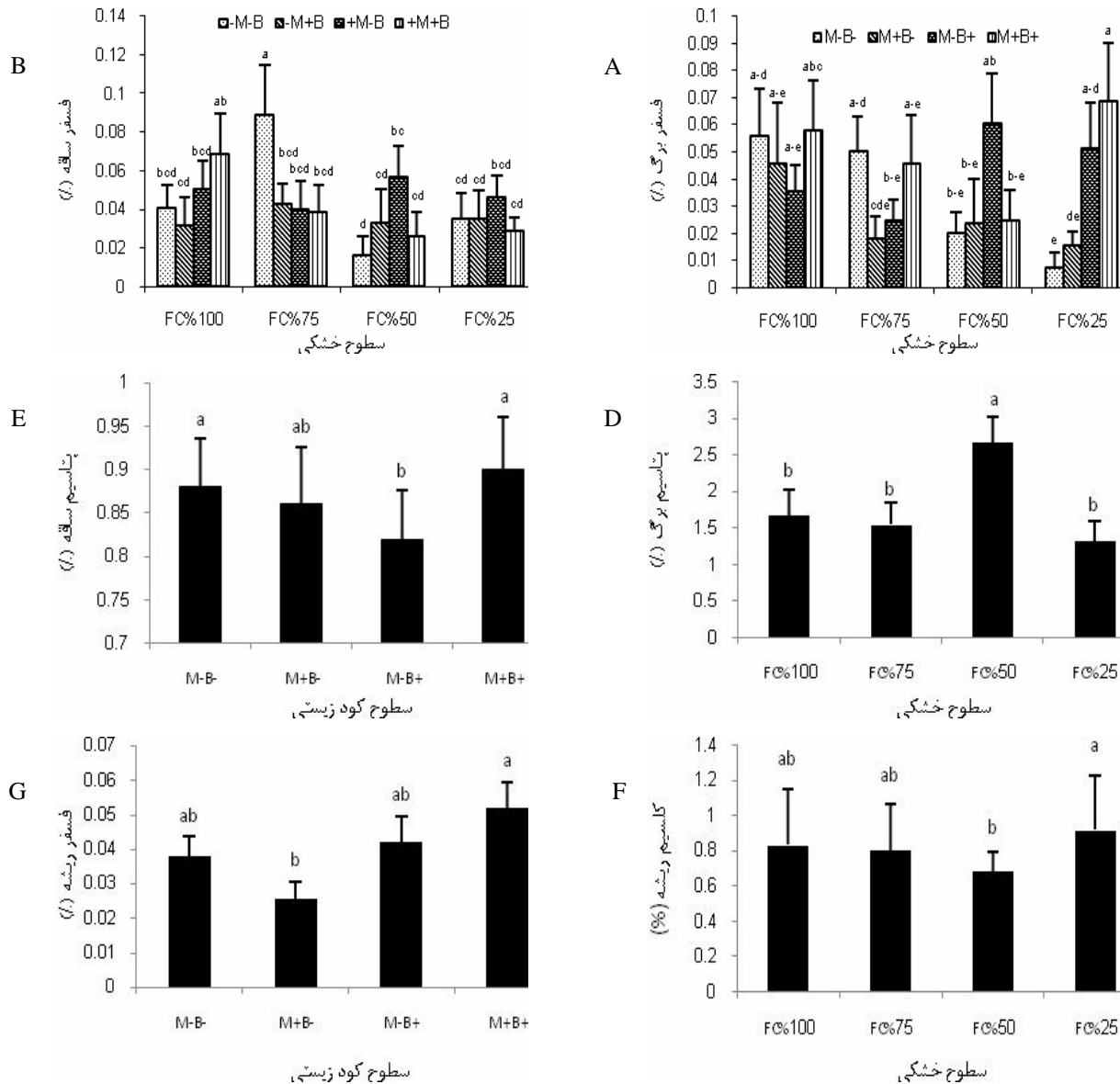
فسفر

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) برهمکنش کود زیستی و تنش خشکی غلظت فسفر ساقه و برگ را تحت تأثیر قرار داد، در حالی که میزان فسفر ریشه فقط تحت تأثیر سطوح کود زیستی قرار گرفت. نتایج مربوط به این اثرات در شکل ۱ گزارش شده است. غلظت فسفر ساقه و برگ در گیاهان شاهد به شدت تحت تأثیر سطوح بالای خشکی (۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه) کاهش

یافت. به کارگیری میکوریز و باکتری سودوموناس فلورسنت به ویژه در تیمار تلفیقی سبب افزایش غلظت فسفر برگ در بالاترین سطح از تنش خشکی شد. استفاده از کودهای زیستی به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر تأثیری بر غلظت فسفر ریشه در مقایسه با شاهد بر جای نگذاشت، اما تفاوت بین تیمار تلفیقی و تیمار باکتری به تنهایی از نظر آماری معنی دار بود.

پتاسیم

محتوای پتاسیم سلول‌های ریشه و غلظت پتاسیم در برگ تحت



شکل ۱. اثر برهمکنش تنش خشکی و کود زیستی بر فسفر برگ (A) و فسفر ساقه (B)، اثر کود زیستی بر فسفر ریشه (C)، اثر سطوح مختلف خشکی بر پتاسیم برگ (D)، اثر کود زیستی بر پتاسیم ساقه (E) و اثر تنش خشکی بر کلسیم ریشه (F) در نهال‌های پسته رقم قزوینی. M-B-: بدون باکتری و میکوریز، M+B+: باکتری *Pseudomonas fluorescens* P₅₂ + *Glomus mosseae*، M-B+: میکوریز *Pseudomonas fluorescens* P₅₂، M+B-: بدون باکتری و میکوریز، M+B+: باکتری *Pseudomonas fluorescens* P₅₂ + *Glomus mosseae*. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است. حروف مشابه نشانه عدم اختلاف معنی‌دار در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک یا پنج درصد است.

مقایسه با شاهد گردید (شکل ۱، D).

کلسیم

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) تنها اثر تیمار خشکی بر میزان کلسیم ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثر

تأثیر نوع کود زیستی قرار نگرفت (جدول ۲)، اما تجمع آن در ساقه تحت تأثیر میکوریز در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل ۱، E). قرار گرفتن نهال‌های پسته در معرض خشکی، بر غلظت پتاسیم ساقه بی‌تأثیر بود، اما تنش خشکی متوسط (۵۰٪ ظرفیت مزرعه) باعث افزایش قابل توجه پتاسیم برگ در

تفاوت معنی داری بین سطوح مختلف کود زیستی مشاهده نشد، متنها در سطوح متوسط خشکی (۷۵ و ۵۰ درصد) مقدار آهن در تیمار میکوریز کاهش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۳، B). میزان آهن ریشه در تنش خشکی ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در تیمار ترکیبی باکتری و میکوریز و در تنش خشکی ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه در تیمار باکتری نسبت به شاهد افزایش معنی دار داشت (شکل ۳، C). تنها اثر خشکی بر میزان منگنز برگ و برهمکنش کود زیستی و خشکی بر منگنز ریشه معنی دار شد (جدول ۲). تنش خشکی سبب افزایش منگنز برگ شد (شکل ۳، D). در تنش خشکی ۷۵٪ ظرفیت مزرعه در تیمار ترکیبی میکوریز و باکتری نسبت به شاهد افزایش معنی داری مشاهده شد (شکل ۳، E).

آلودگی ریشه

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) اثرات تیمارهای کود زیستی و تنش خشکی و هم‌چنین برهمکنش آنها بر میزان آلودگی ریشه در سطح یک درصد معنی دار بود. اثر برهمکنش تیمارهای کود زیستی و تنش خشکی بر آلودگی ریشه در شکل ۳ آورده شده است. در این آزمایش کاربرد باکتری به تنهایی و هم‌چنین در سطوح مختلف خشکی نتوانست بر آلودگی ریشه تأثیرگذار باشد، اما افزایش تنش خشکی به تنهایی سبب افزایش آلودگی ریشه شد.

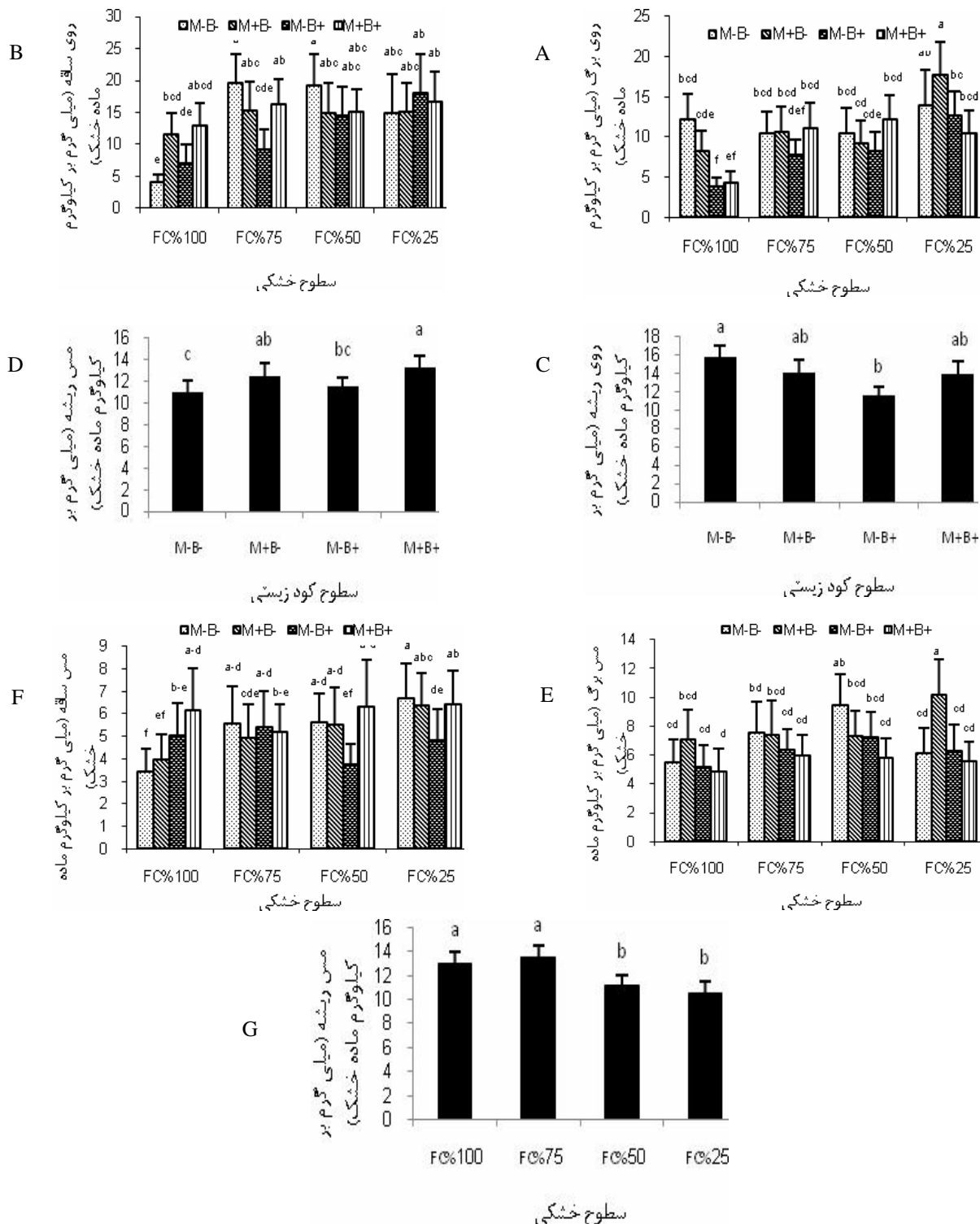
بحث

خشکی ممکن است که روی ارتباطات تغذیه‌ای گیاهان تأثیر داشته باشد و جذب عناصر را تحت تأثیر قرار دهد. به‌طور کلی محققین دو عامل کاهش هدایت روزنه‌ای و در نتیجه کاهش تعرق و هم‌چنین کاهش انتشار عناصر در خاک را دلیل کاهش جذب عناصر در شرایط خشکی می‌دانند (۲). در آزمایشی که انجام شد تنش خشکی بر جذب عناصر پر مصرف و کم مصرف تأثیرگذار بود به‌طوری‌که عنصر فسفر در برگ و ساقه

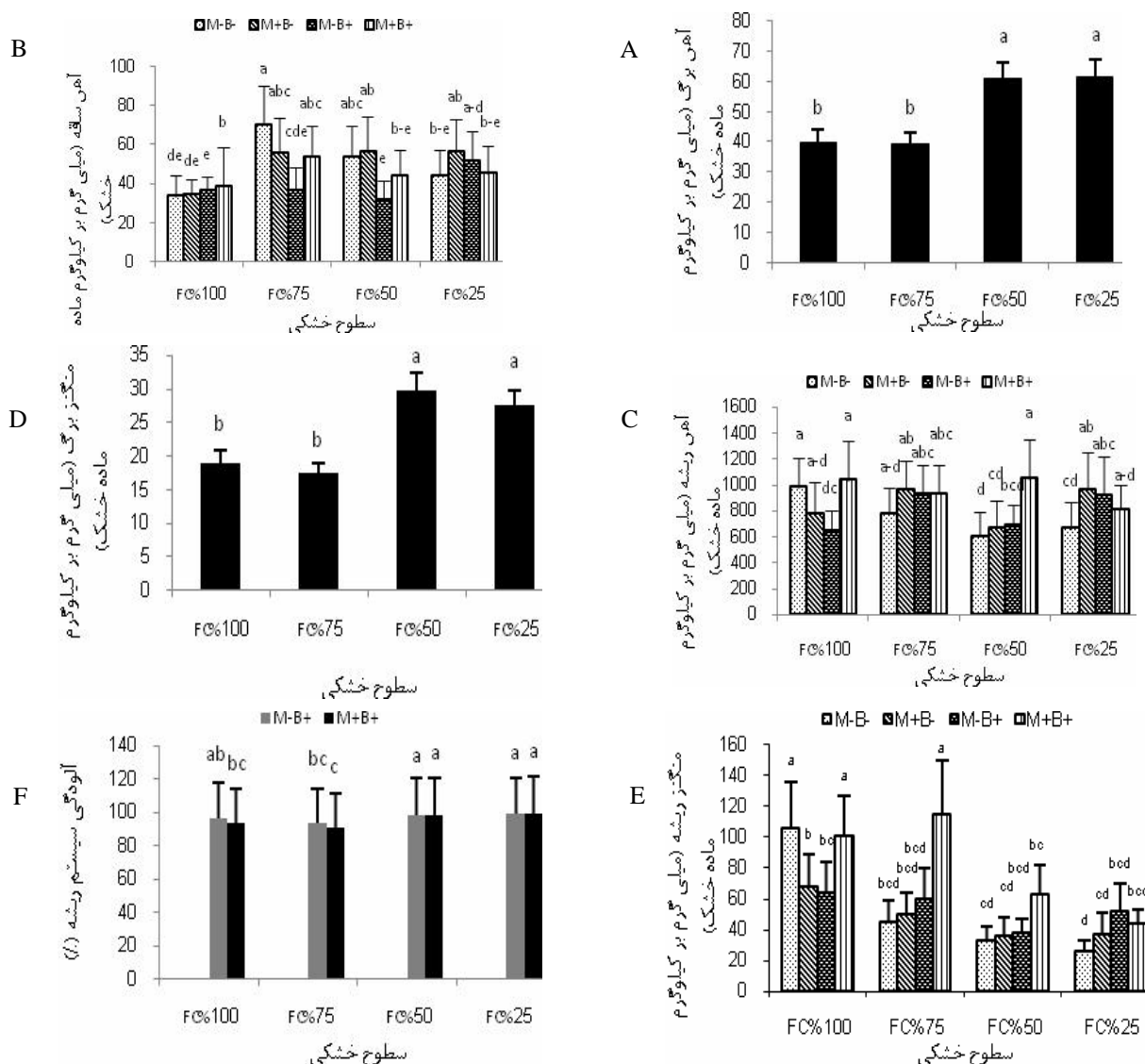
تیمار خشکی بر میزان کلسیم ریشه در شکل (F، ۱) نشان داده شده است. با افزایش تنش خشکی میزان کلسیم ریشه تا سطح تنش خشکی متوسط کاهش یافت که این کاهش نسبت به شاهد معنی دار نبود و سپس در تنش خشکی شدید میزان کلسیم ریشه افزایش یافت، به‌طوری‌که مجدداً به سطح شاهد رسید.

عناصر کم مصرف

غلظت عنصر روی در اندام هوایی نهال‌های پسته تحت تأثیر برهمکنش تیمارهای خشکی و کود زیستی قرار گرفت و در ریشه تنها با کاربرد کود زیستی تغییر یافت (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که تنش خشکی در گیاهان شاهد (M-B-) سبب افزایش غلظت عنصر روی در ساقه شد، در حالی‌که بر غلظت آن در برگ تأثیری نداشت. کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش در مقایسه با شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت مزرعه) دارای نتایج بهتری بود، اما در بیشتر سطوح خشکی تفاوت معنی داری بین شاهد و سطوح کود زیستی دیده نشد (شکل ۲، A، B). تیمار میکوریز محتوای عنصر روی ریشه را کاهش داد (شکل ۲، C). غلظت عنصر مس در اندام هوایی نهال‌های پسته تحت تأثیر برهمکنش تیمارهای خشکی و کود زیستی قرار گرفت و در ریشه تنها با کاربرد کود زیستی و تنش خشکی تغییر یافت (جدول ۲). در تنش خشکی ۲۵٪ ظرفیت مزرعه میزان مس برگ در تیمار باکتری نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان داد (شکل ۲، E). در سطوح ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه میزان مس ساقه در تیمار میکوریز نسبت به شاهد کاهش نشان داد (شکل ۲، F). تنش خشکی سبب کاهش در میزان مس ریشه و کود زیستی سبب افزایش آن در ریشه شد (شکل ۲، G، D). بر طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) تنها اثر تنش خشکی بر آهن برگ و اثر برهمکنش کود زیستی و خشکی بر آهن ساقه و ریشه معنی دار شد. با افزایش تنش خشکی میزان آهن برگ افزایش یافت (شکل ۳، A). به‌طور کلی محتوای عنصر آهن در ساقه نهال‌های پسته با افزایش شدت تنش خشکی تمایل به افزایش داشت اما در اکثر موارد، در هر سطح از تنش خشکی



شکل ۲. اثر برهمکنش تنش خشکی و کود زیستی روی برگ (A) و ساقه (B)، اثر کود زیستی روی ریشه (C)، اثر کود زیستی بر مس ریشه (D)، اثر برهمکنش تنش خشکی و کود زیستی بر مس برگ (E) و ساقه (F) و اثر تنش خشکی بر مس ریشه (G) در نهال‌های پسته رقم قزوینی. M-B: بدون باکتری و میکوریز، M+B: باکتری *Pseudomonas fluorescens* P₅₂؛ میکوریز *Glomus mosseae*؛ M-B+ *Pseudomonas fluorescens* P₅₂؛ میکوریز *Glomus mosseae*؛ M+B+ *Pseudomonas fluorescens* P₅₂؛ شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح یک یا پنج درصد است.



شکل ۳. اثر سطوح مختلف خشکی بر آهن برگ (A) و اثر برهمکنش تیمار خشکی و کود زیستی بر آهن ساقه (B) و ریشه (C)، اثر سطوح مختلف خشکی بر مگنیز برگ (D) و اثر برهمکنش تیمار تنش خشکی و کود زیستی بر مگنیز ریشه (E) و آلودگی ریشه (F) در نهال‌های پسته رقم قزوینی. -M-B: بدون باکتری و میکوریز، -M+B: باکتری *Pseudomonas fluorescens* P₅₂، +M-B: میکوریز *Glomus mosseae*، +M+B: *Glomus mosseae*+*Pseudomonas fluorescens* P₅₂. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است. حروف مشابه نشانه عدم اختلاف معنی‌دار در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح یک یا پنج درصد است.

می‌دهد و در نتیجه سبب جریان آب از خاک به داخل ریشه‌ها می‌شود (۳۱). پتاسیم در برگ بیشترین میزان را در تنش خشکی متوسط نشان داد. پتاسیم در گیاه به دو صورت فعال و غیرفعال جذب می‌شود و جذب پتاسیم به صورت غیرفعال تحت تنش خشکی کم می‌شود. گیاهانی که مقاومت‌تر هستند نسبت به

گیاهان پسته کاهش یافت که با نتایج باقری و همکاران (۷) روی گیاه پسته مطابقت دارد. بیشترین میزان کلسیم ریشه در این آزمایش در تنش خشکی شدید دیده شد. کلسیم به‌عنوان یک یون غیرآلی در تنظیم اسمزی در گیاه نقش دارد و تحت تنش خشکی میزان آن زیاد شده و پتانسیل اسمزی را کاهش

تنش خشکی پتاسیم را برای حفظ هدایت روزنه‌ای و در ریشه به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی جذب می‌کنند (۳۱). پتاسیم یک فاکتور ضروری در سنتز پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و فتوسنتز است. پتاسیم مقاومت به خشکی را در گیاهان از طریق روزنه‌ها، تنظیم اسمزی و سنتز پروتئین افزایش می‌دهد (۲۲). این نتیجه با نتیجه‌ای که یانگ شنک و همکاران (۳۱) روی نهال‌های نارنج سه برگ گرفتند، مطابقت دارد.

در ارتباط با نقش تنش خشکی بر عناصر کم مصرف نتایج متفاوتی گزارش شده است. رطوبت پایین خاک می‌تواند باعث کمبود در عناصر منگنز، آهن و روی در گیاه شود (۱۵). نتایجی که در این پژوهش به‌دست آمد نشان داد که غلظت عناصر کم‌مصرف مانند روی، مس، آهن و منگنز در تنش خشکی در برگ و ساقه نسبت به شاهد افزایش یافت و میزان این عناصر در ریشه تحت تنش خشکی کاهش نشان داد. ریشه نسبت به شاخساره گیاه کمتر تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد و رشد بهتری دارد در نتیجه با توجه به اثر رقت غلظت عناصر کمتری را تحت تنش نشان داده است. افزایش غلظت عناصر کم مصرف در شاخساره تحت تنش خشکی مسلماً بدلیل کاهش آهنگ رشد اندام هوایی و اثر غلظت عنصر بوده است. این نتیجه با نتیجه‌ای که باقری و همکاران (۷) روی گیاه پسته گرفتند و تنش خشکی سبب افزایش عناصر کم‌مصرف شد، مطابقت دارد.

در این آزمایش فسفر برگ، ساقه و ریشه با کاربرد کود زیستی نسبت به شاهد افزایش نشان داد. به‌طورکلی ارتباط زیادی بین وضعیت تغذیه‌ای گیاهان و مقاومت به خشکی وجود دارد که میکوریز این وضعیت را تغییر می‌دهد (۵). یکی از مهم‌ترین نقش‌های میکوریز در ارتباط با همزیستی، جذب فسفر در تنش خشکی می‌باشد که مقاومت گیاهان را در برابر خشکی افزایش می‌دهند (۲۱). نقش فسفر بر رشد گیاه تحت تنش خشکی به افزایش کارایی استفاده از آب، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز و اثر روی روابط آبی نسبت داده می‌شود (۳۷). مقدار قابل جذب فسفر در خاک اندک و به‌صورت فسفات غیرآلی

به‌طور طبیعی نامحلول می‌باشد (۱۱). باکتری‌های حل‌کننده فسفات عمدتاً در ریزوسفر گیاهان یافت می‌شوند و از طریق ترشح اسیدهای آلی مانند سیترات، مالات، آزاد کردن یون‌های هیدروژن در محلول خاک و تولید فسفات‌ها باعث تبدیل شکل‌های نامحلول معدنی و آلی فسفر به شکل‌های قابل جذب می‌شوند (۱۱). در نتیجه این باکتری‌ها سبب افزایش فسفر بیشتر از طریق سیستم ریشه‌ای گیاه میکوریز می‌شوند و سبب مقاومت گیاه به خشکی می‌شوند. دو سازوکار عمده مؤثر برای جذب فسفر توسط میکوریز از طریق افزایش حجم خاک قابل دسترس توسط ریشه‌های قارچ (۲۵) و تولید و ترشح آنزیم فسفاتاز توسط ریشه‌های میکوریز که فسفات غیر محلول و تثبیت شده در خاک را به شکل محلول و قابل جذب برای ریشه در می‌آورد (۱۶).

نتایج به‌دست آمده در رابطه با فسفر در این آزمایش با نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های پیشین در همین زمینه همخوانی دارد (۹، ۳۲، ۳۵ و ۳۹).

پتاسیم ساقه کمترین میزان خود را در تیمار میکوریز نشان داد که با شاهد تفاوت معنی‌داری داشت. با توجه به این‌که میزان پتاسیم در خاک مورد آزمایش ۱۳۹ پی‌پی‌ام می‌باشد و حد بحرانی این عنصر در خاک برای پسته ۲۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد، این عنصر با وجود کمبود آن در خاک نتوانسته با تیمار میکوریز در گیاه افزایش پیدا کند. نتایج این آزمایش با نتایج پژوهشی که اوتوی و همکاران (۶) روی گیاه آکاسیا انجام دادند و تلقیح میکوریز سبب کاهش پتاسیم ساقه شد مطابقت دارد.

تیمار میکوریز سبب کاهش عنصر روی در برگ، مس و آهن در ساقه و روی در ریشه شد. با توجه به این‌که میزان این عناصر در خاک مورد آزمایش برای روی، مس و آهن به‌ترتیب ۱/۱۸، ۰/۶ و ۲/۸۷ پی‌پی‌ام می‌باشد و حد بحرانی این عناصر در خاک برای پسته به‌ترتیب ۲، ۱-۵/۰ و ۱۰-۷ است، بنابراین این عناصر در خاک کمبود داشته و میکوریز جذب عناصر را زیاد نکرده است. این نتایج با نتیجه کارهای انجام شده دیویس (۱۳) روی گیاه فلفل (*Capsicum annuum*) و آیوج (۴) روی

جدول ۳. جدول تجزیه واریانس مربوط به آلودگی ریشه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
آلودگی ریشه		
خشکی	۳	۴۱/۳۹۶**
کود زیستی	۳	۴۹۳۷۴/۷۷۶**
خشکی × کود زیستی	۹	۱۵/۸۲۳**
خطا	۴۸	۳/۹۸۹
CV		۴/۱

ns: غیرمعنی دار * و **: به ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی دار است.

همزیستی میکوریزی سطح مؤثر برای جذب یون چندین برابر افزایش می‌یابد. توسعه هیف‌های قارچ از ریشه‌های میکوریزی به خارج از منطقه تخلیه شده اطراف ریشه‌ها، به سیستم جذب‌کننده گیاه این امکان را می‌دهد که به محلول غلیظ‌تر خاک غیر ریزوسفری دسترسی داشته باشد (۲۵). در آزمایشی که بیشتر و همکاران (۹) روی گیاه *Dalbergia sissoo* انجام دادند نیز تیمار ترکیبی باکتری و میکوریز سبب افزایش مس، آهن و منگنز ریشه شد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، میزان عناصر پرمصرف مانند کلسیم و پتاسیم تحت تنش خشکی افزایش پیدا کرد. در گیاهان مقاوم به خشکی مانند پسته این عناصر به عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی و هم‌چنین پتاسیم برای حفظ هدایت روزنه‌ای در شرایط تنش خشکی عمل می‌کنند. ریشه نسبت به شاخساره گیاه کمتر تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد و رشد بهتری داشت در نتیجه با توجه به اثر رقت غلظت عناصر کمتری را تحت تنش نشان داده است. به دلیل کاهش آهنگ رشد اندام هوایی و اثر غلظت عنصر، افزایش غلظت عناصر کم مصرف در شاخساره تحت تنش خشکی قرار گرفت. در بیشتر موارد تیمار ترکیبی میکوریز و باکتری با افزایش جذب عناصر و به خصوص فسفر در شرایط تنش خشکی

گیاه رز (*Rosa hybrida*) مطابقت دارد و در این آزمایشات تیمار میکوریز سبب کاهش روی در ریشه شد و هم‌چنین در آزمایشی که بیلدیوساس (۸) روی گیاه *Bromus inermis* انجام داد، تیمار میکوریز سبب کاهش در روی برگ شد. در آزمایشی که رانجین (۳۴) روی گیاه آلبالو و سابرامانیا و چارست (۳۶) روی گیاه ذرت انجام دادند نیز این نتیجه گرفته شد و تیمار میکوریز سبب کاهش مس ساقه شد. آزمایشاتی که دیویس (۱۳) روی گیاه فلفل، آیوج (۴) روی گیاه رز و رانجین (۳۴) روی گیاه آلبالو انجام دادند نیز نشان داد که تیمار میکوریز سبب کاهش آهن ساقه شد.

در آزمایش حاضر تیمار باکتری سبب افزایش مس ریشه شد. این نتیجه را بیشتر و همکاران (۹) نیز روی گیاه *Dalbergia sissoo* گرفتند و تیمار باکتری سبب افزایش مس ریشه شد.

در این آزمایش تیمار ترکیبی باکتری و میکوریز سبب افزایش مس، آهن و منگنز ریشه شد. با توجه به این که باکتری‌های محرک رشد گیاه سبب رشد بهتر گیاه می‌شوند و یکی از نقش‌های مهم باکتری‌های محرک رشد در گیاه تولید ترکیبات کلات‌کننده آهن یا سیدروفورها می‌باشد (۱۸). سیدروفورها مولکول‌هایی با وزن مولکولی کم هستند که در شرایط کمبود آهن توسط تعدادی از میکروارگانیسم‌ها تولید و ترشح شده و با آهن موجود در خاک تولید کمپلکس آهن - سیدروفور می‌نمایند (۲۶). در

شدید، توانست سبب افزایش مقاومت نهال‌های پسته به خشکی شود. حمایت مالی انجام این پروژه، مؤسسه تحقیقات پسته برای تهیه بذر و هم‌چنین از مهندس باقری مسئول آزمایشگاه باغبانی دانشگاه ولی عصر رفسنجان نهایت تشکر را دارند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه ولی عصر رفسنجان جهت

منابع مورد استفاده

1. Ajit, N. S., R. Verma and V. Shanmugan. 2006. Extracellular chitinase of *Pseudomonas fluorescent* antifungal to *Fusarium oxysporum* f.sp.*dianti* causing carnation wilt. *Microbiology* 52: 310-316.
2. Alam, S. M. 1999. Nutrient uptake by plants under stress conditions. PP. 285-314, In: M. Pessaraki (Ed.), Handbook of Plant and Crop Stress, Marcel Dekker, Pakistan.
3. AL-Karaki, G. N. and A. AL-Rudded. 1997. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on grow and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Mycorrhiza* 7: 83-88.
4. Augé, R. M., J. G. Foster, W. H. Loescher and A. J. Stodola. 1992. Symplastic molality of free amino acids and sugars in *Rosa* roots with regard to VA mycorrhizae and drought symbiosis. *Symbiosis* 12: 1-17.
5. Auge, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
6. Awotoye, O. O., M. O. Atayese, O. Osonubi, K. Mulongoy and D. U. U. Okali. 1992. Response of some tropical nitrogen-fixing woody legumes to drought and inoculation with mycorrhiza. PP. 67-77, In: K. Mulongoy, M. Gueye, D. S. C. Spencer (Eds.), Biological Nitrogen Fixation and Sustainability of Tropical Agriculture. Wiley-Sayce, African.
7. Bagheri, V., M. H. Shamshiri, H. Shirani and H. R. Roosta. 2012. Nutrients uptake and distribution in mycorrhizal pistachio seedlings under drought stress. *Agricultural Science and Technology* 14: 1591-1604.
8. Bildusas, I.J., R. K. Dixon, F. L. Pflieger and E. L. Stewart. 1986. Growth, nutrition and gas exchange of *Bromus inermis* inoculated with *Glomus fasciculatum*. *New Phytology* 102: 303-31.
9. Bisht, R., S. Chaturvedi, R. Srivastava, A. K. Sharma and B. N. Johri. 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium leguminosarum* on the growth and nutrient status of *Dalbergia sissoo* Rox. *Tropical Ecology* 50: 231-242.
10. Bolan, N. S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134: 189-207.
11. Chen, Y. P., P. D. Rekha, A. B. Arun, F. T. Shen, W. A. La and C. C. Young. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology* 34: 33-41.
12. Clark, R. B. and S. K. Zeto. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Plant Nutrition* 23: 867-902.
13. Davies, F. T., J. R. Potter and R. G. Linderman. 1992. Mycorrhizal and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plant independent of plant size and nutrient content. *Plant Physiology* 139: 289-294.
14. Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Microbiology* 41: 109-117.
15. Havlin, J. L., J. D. Beaton, S. L. Tisdale and W. L. Nelson. 1999. Soil Fertility and Fertilizers. PP. 406-425, In: M. Pessaraki (Ed.), An Introduction to Nutrient Management. Prentice-Hall Pub., London.
16. Huixing, S. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its mechanisms. *Biology* 1: 44-48.
17. Kim, K. Y., D. Jordan and G. A. McDonald. 1998. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils* 26: 79-87.
18. Kleopfer, J. W., J. Leong, M. Teinze and M. N. Schroth. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
19. Kothamasi, D., R. Chander kuhad and C. R. Babu. 2001. Arbuscular mycorrhizae in plant survival strategies. *Tropical Ecology* 42: 1-13.
20. Lambert, D. H., D. E. Baker and H. Cole. 1979. The role of mycorrhiza in the interaction of phosphorus with zinc, copper and other element. *Soil Science Society* 43: 976-980.
21. Li, X. L., E. George and H. Marschner. 1991. Extension of phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant and Soil* 135: 41-48.

22. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London.
23. Maurhofer, M., C. Reimmann, P. Schmidli-Sacherer, S. Heeb, D. Haas and G. Defago. 1998. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of system resistance in tobacco against tobacco necrosis virus. *Phytopathology* 88: 678-684.
24. Meyer, J. M., F. Halle, D. Hohnadel, P. Lemanceau and H. Rateflarvelo. 1987. Siderophores of pseudomonas biological properties in iron transport in microbes. *Plant and Animals* 174: 180-205.
25. Mishra, R. R. 2004. Soil Microbiology. CBS Pub., USA.
26. Neilands, J. B. 1981. Iron absorption and transport in microorganism. *Annual Review of Nutrition* 1: 27-46.
27. Olsen, S. R., C.V. Cole, F. S. Watanable and L. A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate. *WCC-103 Publication* 125: 67-96.
28. Patten, C. L. and B. R. Glick. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Microbiology* 42: 207-220.
29. Penrose, D. M. and B. R. Glick. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Physiology* 118: 10-15.
30. Phillips, J. and D. Hyman. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhiza fungi for rapid assessment of infection. *Mycology Socology* 55: 158-161.
31. Qiangsheng, W., X. Renxue and H. Zhengjia. 2006. Effect of arbuscular mycorrhizal on the drought tolerance of *Poncirus Trifoliata* seedling. *Frontiers of Forestry* 1: 100-104.
32. Ravnskov, S. and I. Jakobsen. 1999. Effects of *Pseudomonas fluorescens* DF57 on growth and p uptake of two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with cucumber. *Mycorrhiza* 8: 329-334.
33. Richardson, A. E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Plant Physiology* 28: 897-906.
34. Runjin, L. 1989. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas and phosphorus on water status and growth of apple. *Plant Nutrition* 12: 997-1017.
35. Sabannavar, S. J. and H. C. Lakshman. 2008. Interactions between azotobacter, pseudomonas and arbuscular mycorrhizal fungi on two varieties of *Sesamum indicum* L. *Agronomy and Crop Science* 197: 1931-2250.
36. Subramanian, K. S. and C. Charest. 1999. Acquisition of N by external hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus and its impact on physiological responses in maize under drought-stressed and well-watered conditions. *Mycorrhiza* 9:69-75.
37. Sawwan, J., R. A. Shibli, I. Swaidat and M. Tahat. 2000. Phosphorus regulates osmotic potential and growth of African violet under in vitro-induced water deficit. *Plant Nutrition* 23: 759-771.
38. Schenck, N. C. and K. Perez. 1990. Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. Synergistic Pub., Gainesville, Florida.
39. Souchie, E. L., R. Azcón, J. Miguel Barea, O. J. Saggin-Júnior and Ribeiro and E. M. Silva. 2006. Phosphate solubilization and synergism between P-solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. *Embrapa Agrobiologia* 41: 1405-1411.
40. Viets, F. G. 1972. Water deficits and nutrient availability. PP. 217-239, In: T. T. Kozlowski (Ed.), Water Deficits and Plant Growth. Academic Press, New York.
41. Walker, C. D. and J. Webb. 1981. Copper in plant, forms and behavior. PP. 155-163, In: J. F. Loneragan, A. D. Robson and R. D. Graham (Eds.), Copper in Soil and Plant. Academic Press, Australia.
42. Yuncai, H. and U. Schmidhalter. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Plant Nutrition* 168: 541-549.