Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
Islamic Azad University Gorgan Branch
PSI انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran

The Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under drought stress

Olia Eshaghi Gorji[1], Hormoz Fallah[2*], Yosoof Niknejad[3], Davood Berari Tari[4]

[1] Department of Agriculture, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. Email: eshaghi-g33@gmail.com
[2] Department of Agriculture, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. Email: hormozfalah@gmail.com
[3] Department of Agriculture, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran - Medicinal Plant Research Center, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. Email: yousofniknejad@gmail.com
[4] Department of Agriculture, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. Email: david_brr@gmail.com

Article type:
Research article

Article history
Received: 01.02.2022
Revised: 09.04.2022
Accepted: 15.04.2022
Published:21.06.2024

Keywords
Relative water content
Chlorophyll
Transpiration rate
Antioxidant enzymes
Glomus mosseae
Azospirillum brasilense

Abstract

The use of plant symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and Plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) is one of the ways to reduce drought stress that has recently been used in agriculture. For this purpose, the present study was conducted was conducted to evaluate the effects of the application of PGPR and AMF on the quantitative and qualitative characteristics of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under drought stress. The experiment was carried out as a factorial in a completely randomized design with five replications in the greenhouse of Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran, in 2020. Drought stress at two levels (control or 100% field capacity and 50% field capacity) as the first factor and seed inoculation with symbiosis microorganisms at four levels (no inoculation, inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Sp245 (108 CFU/mL), inoculation with *Glomus mosseae* (100 g per pot) and inoculation with *A. brasilense* + *G. mosseae*) were considered as the second factor. The results of the present study showed that drought stress by reducing the relative water content (RWC, 17.8%), declined transpiration rate (E, 62.2%), stomatal conductance (gs, 36.8%), intercellular CO2 concentration (Ci, 22.5%), and net photosynthesis (Pn, 48.5%) of the plant compared to control plants. Drought stress also induced oxidative stress by increasing the accumulation of hydrogen peroxide (2.1-fold) and methylglyoxal (2-fold), resulting in damage to bio-membranes and photosynthetic apparatus and reduced growth of lemon balm. However, microbial inoculation, especially co-inoculation of PGPR and AMF, by improving the proline content and RWC, restored Ci, E, gs and Pn under drought stress. Microbial treatments by increasing the activity of antioxidant enzymes and the glyoxalase system reduced the level of hydrogen peroxide and methylglyoxal and alleviated drought stress-induced oxidative stress, which increased the growth of lemon balm under drought stress by protecting bio-membranes and photosynthetic pigments. The results showed that the application of *G. mosseae* and *A. brasilense* alleviated the negative effects of drought stress on lemon balm.

Cite this article as: Eshaghi Gorji, O., Fallah, H., Niknejad, Y., Berari Tari, D. (2023). The Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under drought stress. *Journal of Plant Environmental Physiology,* 19(2): 45-64.

©The author(s)

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
DOI: 10.30495/iper.2022.1950524.1768

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

تأثیر باکتری محرک رشد و قارچ میکوریزا بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) تحت شرایط تنش خشکی

اولیا اسحاقی گرجی[۱]، هرمز فلاح[۲*]، یوسف نیک‌نژاد[۳]، داوود براری تاری[٤]

[۱] گروه زراعت، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. رایانامه: eshaghi-g33@gmail.com

[۲] گروه زراعت، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. رایانامه: hormozfalah@gmail.com

[۳] گروه زراعت، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. رایانامه: yousofniknejad@gmail.com

[٤] گروه زراعت، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. رایانامه: david_brr@gmail.com

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۱۱/۱۲
تاریخ بازنگری: ۱٤۰۱/۰۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰۱/۲٦
تاریخ چاپ: ۱٤۰۳/۰٤/۰۱

واژه‌های کلیدی:
محتوای نسبی آب برگ
کلروفیل
سرعت فتوسنتز
آنزیم‌های آنتی اکسیدانی
Glomus mosseae
Azospirillum brasilense

چکیده

بهره‌گیری از رابطه همزیستی گیاهان با قارچ‌های آربوسکولار میکوریز و باکتری‌های محرک رشد، یکی از راهکارهای کاهش تنش خشکی در گیاهان است. به همین منظور، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات کاربرد باکتری محرک رشد و قارچ میکوریزا بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه بادرنجبویه (*Mellisa officinalis*) تحت تنش خشکی اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با پنج تکرار در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی در سال ۱۳۹۹ اجرا شد. تنش خشکی در دو سطح (شاهد یا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) به عنوان فاکتور اول و تلقیح بذر با میکروارگانیسم‌های همزیست در چهار سطح (بدون تلقیح، تلقیح با باکتری *Azospirillum brasilense* سویه Sp245 (۱۰^۸ CFU/mL)، تلقیح با قارچ *Glomus mosseae* (۱۰۰ گرم در هر گلدان) و تلقیح با *A. brasilense+ G. mosseae*) به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند. نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که تنش خشکی با کاهش محتوای آب نسبی باعث کاهش نسبت تعرق ، هدایت روزنه‌ای ،غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای و میزان فتوسنتز گیاه نسبت به شاهد شد. تنش خشکی همچنین با افزایش تجمع پراکسید هیدروژن و متیل گلی اکسال باعث القای تنش اکسیداتیو و در نتیجه، آسیب به غشاءهای زیستی و دستگاه فتوسنتزی گیاه بادرنجبویه نسبت به شاهد شد. با این حال، تلقیح با قارچ و باکتری، به ویژه تلقیح توأم قارچ و باکتری، با افزایش محتوای پرولین و محتوای آب نسبی برگ، باعث بهبود نسبت تعرق، هدایت روزنه‌ای، غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای و فتوسنتز تحت تنش خشکی شدند. تلقیح گیاه با قارچ و باکتری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و سیستم گلی اکسالاز، و درنتیجه، تقلیل تنش اکسیداتیو در شرایط تنش خشکی شدند که با محافظت از غشاهای زیستی و رنگیزه های فتوسنتزی، باعث بهبود رشد گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی شدند. بنابراینبا توجه به نتایج تحقیق حاضر ثابت شد که کاربرد قارچ *G. mosseae* و باکتری محرک رشد *A. brasilense* سبب تعدیل اثرات منفی تنش خشکی بر گیاه بادرنجبویه گردید.

استناد: اسحاقی گرجی، اولیا؛ فلاح، هرمز؛ نیک‌نژاد، یوسف؛ براری تاری، داوود. (۱٤۰۳). تأثیر باکتری محرک رشد و قارچ میکوریزا بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) تحت شرایط تنش خشکی. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۱۹(۲)، ٦٤-٤٥.

DOI: 10.30495/iper.2022.1950524.1768

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان در سراسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی است که تقریباً تولید ۲۵ درصد از اراضی جهان را محدود ساخته است (Abedi and Pakniyat, 2010). گاهی یک تنش ملایم خشکی یا کم‌آبی با تأثیر بر فرآیندهای حساس گیاه، رشد و عملکرد برخی گیاهان را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهد. تأمین آب کافی برای رشد گیاه قبل از حادث شدن تنش آبی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه بسیار مهم است (Begum et al., 2019). تنظیم اسمزی به‌عنوان جزئی مهم از مکانیسم تحمل به تنش خشکی گیاهان در نظر گرفته می‌شود (Pirzad et al., 2011).

جهت کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی در گیاهان، راهکارهای گوناگونی پیشنهاد شده است که استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاک‌زی یکی از مهمترین آن‌ها می‌باشد. قارچ‌های میکوریزا از مهمترین میکروارگانیسم‌های موجود در خاک‌های زراعی بوده ، به‌طوری که طبق آمار حدود ۷۰ درصد از توده زنده جامعه میکروبی خاک‌ها را میسلیوم این قارچ‌ها تشکیل می‌دهند (Mukerji and Chamola, 2003). عقیده بر این است که همزیستی با قارچ‌های آربوسکولار میکوریز گیاهان را در برابر خسارت ناشی از تنش خشکی محافظت می‌کند (Auge et al., 2015). یکی دیگر از میکروارگانیسم، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه نیز از دیگر میکروارگانیسم‌های مفید خاک بوده که به‌طور مستقیم (تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه، تثبیت نیتروژن، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف توسط گیاه، تولید ویتامین‌ها و دیگر مواد محرک رشد گیاه) و غیرمستقیم (افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیر زنده از طریق تولید آنزیم‌های هضم کننده دیواره سلولی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی و ایجاد مقاوت سیستمیک در گیاه و) موجب بهبود رشد گیاهان می‌شوند (Vessey, 2003). ممکن است بین قارچ‌های و باکتری‌های محرک رشد اثر متقابل نیز مشاهده شود. این اثر متقابل می‌تواند به‌طور غیر مستقیم با تأثیر بر جذب عناصر غذایی، مهار قارچ‌های بیماری‌زا گیاهی و افزایش انشعاب ریشه‌های گیاهان، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Marulanda et al., 2009). علاوه بر این، گزارش‌هایی نیز در رابطه با کلون‌سازی ریشه‌های آربوسکولار میکوریز با باکتری‌های محرک رشد گیاه وجود دارد. گزارش شده است که گونه‌هایی از ریزوبیوم و سودوموناس در شرایط سترون به اسپورهای جوانه‌زده و ریسه‌های قارچ آربوسکولار متصل می‌شوند و درصد اتصال آنها بسته به نوع سویه باکتری متفاوت است. باکتری‌های محرک رشد گیاه مختلف، توانایی اتصال به نواحی فیزیولوژیک متفاوت ریشه را دارند (Artursson and Jansson, 2003). تیمارهایی که با هر دو قارچ میکوریزا و باکتری تلقیح شدند، زیست توده گیاه و تجمع نیتروژن و فسفر در بافت‌های گیاهی را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش دادند (Khandan-Mirkohi et al., 2016). در گزارش دیگری، Begum و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که همزیستی همزمان قارچ میکوریز و باکتری محرک رشد باعث بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش سطح پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در گیاه تنباکو تحت تنش خشکی شدند. Kader و همکاران (۲۰۰۲) اثر تلقیح ازتوباکتر بر وزن خشک و بیومس ریشه گیاهان گندم را در یک اثر مثبت و معنی‌دار گزارش کردند و آن را به تولید هورمون‌های محرک رشد توسط ازتوباکتر نسبت دادند. در آزمایش انجام شده توسط Liao و همکاران (۲۰۲۱) نشان داده شد که همزیستی قارچ‌های مایکوریز با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز،

باعث کاهش سطح مالون دی‌آلدئید و بهبود عملکرد گیاه تحت تنش خشکی شدند. Khandan-Mirkohi و همکاران (۲۰۱۶) نیز تاثیر تلقیح مشترک باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae*) بر شاخص‌های رشدی گیاه استئوسپرموم را معنی‌دار گزارش کرده و اعلام داشتند که همه شاخص‌های رشد مورد ارزیابی در تیمارهای همزیست مخلوط باکتری‌های محرک رشد و میکوریزا، در سطوح آبیاری ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از گیاهان شاهد بود. Li و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که تلقیح قارچ مایکوریز از طریق بهبود پارامترهای تبادلات گازی و کارایی مصرف آب و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، باعث بهبود تحمل گیاه به تنش خشکی شد. همچنین Ratti و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که ترکیب قارچ میکوریزا با باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش بیومس و میزان فسفر در گیاه دارویی علف لیمو شد.در تحقیق Zhang و همکاران (۲۰۲۰) نیز ثابت شد تلقیح گیاه عناب با باکتری محرک رشد باعث تعدیل هورمون‌های گیاهی و افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش خشکی شد که با افزایش رشد و زیست توده گیاه همراه بود.

گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) یکی از گیاهان دارویی با ارزش خانواده نعناعیان است که در بسیاری از کشورها از جمله ایران کشت می‌شود (Younesi and Moradi, 2015). اسانس بادرنجبویه به‌طور گسترده‌ای در تولید محصولاتی مانند حشره‌کش‌های طبیعی، مواد طعم‌دهنده و چاشنی‌ها استفاده می‌شود (Verma et al., 2015). هسپریدین، فلاونوئیدها، تانن‌ها، سیترونلال، بتا-کاروفیلن، آپیژنین، لینالول، ایزوکوئرستین، کافئیک اسید، نرال، ژرانیول و رزمارینیک اسید مهمترین متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در برگ‌های گیاه بادرنجبویه شناسایی شده است (Argyropoulos and Müller, 2014).

افزایش جمعیت و نیاز صنایع داروسازی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولید دارو و اهمیت مواد مؤثره آن‌ها در صنایع مختلف، سبب کشت و تولید گیاهان دارویی شده است (Abdullaev and Espinosa, 2004). با توجه به نیاز صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولیدات صنایع مذکور، کشت گیاهان دارویی در کشور ایران نیز در حال گسترش است.

اگرچه مطالعات زیادی برای ارزیابی تحمل به تنش خشکی در گونه‌های دارویی مختلف انجام شده است، تاکنون برای ارزیابی اثر برهم‌کنش خشکی و تأثیر میکروارگانیسم‌های مفید و نحوه اعمال آن بر گیاه دارویی بادرنجبویه مطالعات اندکی صورت گرفته است. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر همزیستی میکروارگانیسم‌های مفید (باکتری محرک رشد و قارچ مایکوریز به صورت مجزا و ترکیبی) بر برخی صفت‌های رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سطح پرولین و سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی و سیستم گلی اکسالاز در گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی در شرایط گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

کشت و تیمار گیاه: این پژوهش در سال ۱۳۹۹ در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی-واحد آیت اله آملی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل تنش خشکی در دو سطح (۱۰۰ (شاهد) و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و فاکتور دوم تلقیح بذر با میکروارگانیسم‌های همزیست در چهار سطح (بدون تلقیح، تلقیح با باکتری *Azospirillum brasilense*، تلقیح با قارچ *Glomus mosseae* و تلقیح با باکتری + قارچ ذکر شده)) بود.

باکتری محرک رشد استفاده شده در این تحقیق، *Azospirillum brasilense* سویه Sp245 به صورت خالص و جمعیت 10^8 CFU/mL بود. مایه تلقیح قارچ آربوسکولار میکوریز مورد استفاده (*G. mosseae*) از مؤسسه تحقیقات خاک و آب، بخش تحقیقات بیولوژی خاک تهران تهیه و برای هر گلدان ۱۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت.

گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر تهیه گردید. سپس مقدار مساوی از ترکیب خاک رس، ماسه و هوموس به نسب (۲:۳:۱) اتوکلاو شده تهیه شد. بذرهای گیاه بادرنجبویه بعد از ضدعفونی و شست و شو با آب مقطر تحت تیمارهای مختلف تلقیح میکروبی قرار گرفتند که این تیمارها شامل: ۱) تیمار شاهد، بذرها به مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر قرار گرفتند و مایع تلقیح قارچ میکوریز اتوکلاو شده به خاک آنها اضافه شد، ۲) تیمار باکتری محرک رشد، بذرها ۳۰ دقیقه در مایه تلقیح باکتری محرک رشد قرار گرفتند و مایع تلقیح قارچ مایکوریز اتوکلاو شده به خاک آنها اضافه شد، ۳) تیمار قارچ میکوریز، بذرها به مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر قرار گرفتند و مایع تلقیح قارچ میکوریز به خاک آنها اضافه شد، ٤) تیمار ترکیبی باکتری محرک رشد و قارچ میکوریز، بذرها به‌مدت ۳۰ دقیقه در مایه تلقیح باکتری محرک رشد قرار گرفتند و مایع تلقیح قارچ میکوریز به خاک آنها اضافه شد. پس از کاشت بذر، گلدان‌ها به مدت ۳۰ روز در شرایط کنترل شده با دمای روز ۲۵ و شب ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ٦٥ درصد نگهداری شدند. در این مدت، آبیاری بر حسب معمول و نیاز گلدان‌ها و هفته‌ای یک بار با محلول هوگلند و غلظت ۱/۲ عناصر تغذیه شدند. بعد از ۳۰ روز، نصف گلدان‌های هر تیمار (تیمارهای حاصل از تلقیح میکروبی) تحت تیمار خشکی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی با روش وزنی قرار گرفتند (Allen et al., 2000). در طول اعمال تنش وزن گلدان‌ها با توزین روزانه و بسته به تیمار ظرفیت زراعی ثابت نگه‌داشته شد. ۳۰ روز بعد از اعمال تنش خشکی، نمونه برداری انجام شدند. بعد از شمارش تعداد برگ‌ها و اندازه‌گیری ارتفاع گیاه (تعداد برگ و ارتفاع گیاه شامل پنج تکرار (بوته) که هر تکرار میانگین سه بوته بودند)، نمونه‌ها در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی نگهداری شدند (Ghorbani et al., 2011). وزن خشک نمونه‌ها (وزن خشک گیاه شامل پنج تکرار (بوته) بودند) بعد از خشک کردن در آون اندازه‌گیری شد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلورسانس کلروفیل و تبادلات گازی: مقدار ۰/۵ گرم برگ تازه وزن و در هاون با پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به خوبی ساییده و سپس در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب محلول رویی در طول موج‌های ٤٧٠، ٦٤٥ و ٦٦٣ نانومتر اندازه‌گیری شد و محتوای رنگیزه‌های کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها مطابق روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) محاسبه گردید. ۳۰ روز بعد از اعمال تیمارها و قبل از نمونه‌برداری، عملکرد فلورسانس کلروفیل (Fv/Fm) با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM 2500, Walz, Germany) و بعد از ۲۰ دقیقه قرار گرفتن برگ در تاریکی با استفاده از گیره‌های مخصوص برگ (B, Walz-۲۰۳۰) اندازه‌گیری شدند. صفت‌های نسبت فتوسنتز خالص (Pn)، هدایت روزنه‌ای (gs)، غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه (Ci) و نسبت تعرق (E) با دستگاه قابل حمل سنجش فلورسانس و تبادل گازی GFS-3000-FL (WALZ, Germany) اندازه‌گیری شد.

پرولین: جهت اندازه‌گیری پرولین آزاد از عصاره الکلی برگ استفاده شد. پرولین با قرائت جذب واکنش نین‌هیدرین در طول موج ۵۱۵ نانومتر محاسبه شد (Bates et al., 1973).

محتوای نسبی آب برگ: برای تعیین محتوای نسبی آب برگ (۳۰ روز بعد از اعمال تیمارها) از جوان‌ترین برگ بالغ در هر گیاه تعداد پنج دیسک برگی تهیه و برای تعیین وزن تر نمونه‌ها، بلافاصله وزن شدند (FW)، سپس تمامی نمونه‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی در آب مقطر غوطه‌ور گردیده و وزن اشباع آنها اندازه‌گیری شد (TM). بعد از آن نمونه‌ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و وزن خشک آنها تعیین گردید (DW). با استفاده از رابطه زیر، میزان RWC محاسبه شد (Schonfeld et al., 1988).

$$RWC\ (\%) = \left[\frac{(FW-DW)}{(TM-DW)}\right] \times 100$$

محتوای پراکسید هیدروژن و متیل گلی اکسال: پراکسید هیدروژن با هموژنیزه شدن ۰/۵ گرم برگ تازه گیاه با ۳ میلی‌لیتر بافر پتاسیم-فسفات ۵۰ میلی‌مولار در دمای ٤ درجه و سانتریفیوژ شدن در ۱۱۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه عصاره‌گیری شد. سپس ۳ میلی‌لیتر از محلول رویی با یک میلی‌لیتر از محلول $TiCl_4$ یک درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. بعد از سانتریفیوژ در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه، میزان جذب محلول رویی در طول موج ٤۱۰ نانومتر خوانده شد (Yu et al., 2003).

برای سنجش متیل گلی اگسال، برگ‌های تازه گیاه با اسید پرکلریک (۵ درصد) هموژن شد و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از خنثی‌سازی با کربنات سدیم اشباع شده، محلول رویی با N-استیل سیستئین و فسفات دی هیدروژن سدیم مخلوط شد و در طول موج ۲۸۸ نانومتر قرائت شد. محتوای متیل گلی اکسال مطابق روش Wild و همکاران (۲۰۱۲) تعیین گردید.

محتوای مالون دی‌آلدئید و درصد نشت یونی: با تعیین محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از روش اسید تیوباربیتوریک و ضریب خاموشی ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$، میزان پراکسیداسیون لیپید غشا اندازه‌گیری شد (Heath and Packer, 1968). برای اندازه‌گیری نشت یونی، ۰/۵ گرم برگ از هر تیمار جداگانه وزن و در داخل ویال‌های شیشه‌ای قرار داده شدند و ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آنها اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۲٤ ساعت بر روی شیکر با دمای ۲٤ درجه سانتیگراد و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از ۲٤ ساعت، میزان هدایت الکتریکی اولیه (EC1) به وسیله دستگاه EC متر دیجیتالی اندازه‌گیری شدند. سپس، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند میزان هدایت الکتریکی نهایی (EC2) اندازه‌گیری شدند. درصد نشت یونی مطابق فرمول زیر محاسبه شدند:

نشت یونی: $(EC1/EC2) \times 100$

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌ها: بافت تازه برگ (۰/۵ گرم) در یک میلی‌لیتر از بافر پتاسیم-فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH 7) شامل KCl ۱۰۰ میلی‌مولار، آسکوربات ۱ میلی‌مولار، بتا-مرکاپتواتانول ۵ میلی‌مولار و گلیسرول ۱۰ درصد هموژن شد. از محلول رویی بعد از سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه برای تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و چرخه گلی اکسالاز استفاده شد.

محلول واکنش شامل بافر پتاسیم-فسفات ۵۰ میلی‌مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۷۰۰ میکرولیتر می‌باشد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز براساس میزان کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

با استفاده از محلول واکنش شامل بافر پتاسیم-فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH 7)، EDTA 1 میلی‌مولار، گلوتاتیون اکسید شده ۱ میلی‌مولار، NADPH ۰/۲ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۱ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز

اندازه‌گیری شد. با خواندن میزان کاهش در جذب طول موج ۳٤۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه، فعالیت آنزیم محاسبه شد (Hasanuzzaman et al., 2011).

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با قرائت جذب محلول واکنش شامل عصاره آنزیمی، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۱۳ میکرومولار و نیتروبلو تترازولیوم ٦۳ میکرومولار در طول موج ٥٦۰ نانومتر محاسبه گردید (Hasanuzzaman et al., 2011).

فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میزان کاهش در جذب ۲٤۰ نانومتر در یک دقیقه از تجزیه پراکسید هیدروژن محاسبه شد. محلول واکنش شامل بافر پتاسیم-فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH 7)، پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۷۰۰ میکرولیتر می‌باشد (Hasanuzzaman et al., 2011).

فعالیت آنزیم گلی اکسالاز I با قرائت میزان افزایش در جذب طول موج ۲٤۰ نانومتر و محلول واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH 7)، سولفات منیزیم ۱۵ میلی‌مولار، گلوتاتیون ۱/۷ میلی‌مولار، متیل گلی‌اکسال ۳/۵ میلی‌مولار در حجم نهایی ۷۰۰ میکرولیتر محاسبه گردید (Hasanuzzaman et al., 2011).

فعالیت گلی اکسالاز II با استفاده از محلول واکنش شامل بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار (pH 7.2)، ۵،۵´-دی‌تیو بیس (۲-نیتروبنزوئیک اسید) ۰/۲ میلی‌مولار و S-D-لاکتوگلوتاتیون اندازه‌گیری شد (Principato et al., 1987).

آنالیز داده‌ها

تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) در سطح پنج درصد انجام شد و رسم نمودار با برنامه Excel انجام شد (Ghorbani et al., 2009).

نتایج

صفات مورفولوژی و رنگیزه‌های فتوسنتزی: با توجه به نتایج جدول ۱، اثر ساده تیمار خشکی و تیمار تلقیح میکروبی بر ارتفاع، وزن خشک کل و تعداد برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که هر سه تیمارهای تلقیح (باکتری محرک رشد، قارچ میکوریز و تلقیح همزمان) باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه نسبت به تیمار شاهد شدند اما تفاوت معنی‌داری بین این تیمارها مشاهده نشد. تنش خشکی باعث کاهش ارتفاع گیاه به میزان ۲۰/۹ درصد نسبت به تیمار شاهد شد. با این حال، تحت تنش خشکی، تلقیح باکتری محرک رشد و قارچ میکوریز به تنهایی و توام باعث بهبود ارتفاع گیاه شدند، هرچند تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای میکروبی مشاهده نشد (جدول ۲). تیمارهای تلقیحی همچنین باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک کل و تعداد برگ‌ها در بوته گیاه نسبت به گیاهان شاهد شدند که بیشترین افزایش تحت تیمار هم زمان ثبت گردید. تیمار خشکی باعث کاهش در وزن خشک کل و تعداد برگ به‌ترتیب به میزان ۲۵/۱ و ۲٤/۱ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. با این حال، تیمارهای میکروبی باعث افزایش معنی‌دار هر دو صفت در گیاهان تیمار شده با تنش خشکی نسبت به تیمار خشکی به تنهایی شدند و بیشترین افزایش تحت تیمار همزمان میکروبی مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج آنالیز واریانس نشان دادند که اثر ساده تیمار تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در سطح یک درصد، اثر ساده تلقیح میکروبی بر این صفات در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین بیان داشتند که کاربرد تلقیح میکروبی تفاوت معنی‌داری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان شاهد ایجاد نکرد. تیمار خشکی باعث کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به گیاهان

شاهد شد. با اینحال، تحت تنش خشکی، تلقیح باکتری محرک رشد، قارچ میکوریز و تلقیح همزمان باعث افزایش کلرفیل a به ترتیب به میزان ۲۶/۸، ۲۲/۸ و ۴۲/۳ درصد، کلروفیل b به میزان ۳۱/۹، ۳۶/۳ و ۴۵/۳ درصد و کاروتنوئیدها به میزان ۳۵/۱، ۳۱/۲ و ۵۰/۱ درصد نسبت به تیمار خشکی به تنهایی شدند (جدول ۲). اثر ساده تیمارهای خشکی و تلقیح و اثر متقابل آنها بر فلورسانس کلروفیل در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). فلورسانس کلروفیل برگ‌ها کاهش معنی‌داری تحت خشکی در مقایسه با گیاهان شاهد نشان دادند. با این حال، کاربرد تیمارهای باکتری محرک رشد، قارچ میکوریز و تلقیح همزمان به‌طور معنی‌دار باعث بهبود فلورسانس کلروفیل برگ تحت خشکی نسبت به گیاهان تیمار شده با تنش خشکی به تنهایی شدند که بیشترین افزایش در گیاهان تیمار شده با تلقیح توام مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورفولوژی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه بادرنجبویه تحت تیمارهای خشکی و تلقیح میکروبی

	df	ارتفاع	وزن خشک کل	تعداد برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	Fv/Fm
تنش	۱	۲۳۱**	۹**	۲۲۰۴**	۱/۶**	۰/۲۸**	۰/۲**	۰/۰۵**
تلقیح	۳	۳۰**	۱**	۵۲۸**	۰/۰۶*	۰/۰۲*	۰/۰۱*	۰/۰۰۳**
تنش × تلقیح	۳	۰/۴^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۱۱^{ns}	۰/۰۸**	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۳**
خطا	۱۶	۱/۰۴	۰/۰۱۹	۴۹	۰/۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۲
ضریب تغییرات		۳/۷	۳/۹	۷/۷	۶/۷	۸/۹	۹/۵	۲/۲

* و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد، ns عدم اختلاف معنی‌دار

جدول ۲: مقایسه میانگین صفات مورفولوژی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه بادرنجبویه تحت تیمارهای خشکی و تلقیح میکروبی

تیمارهای آبیاری	تیمارهای تلقیح	ارتفاع (سانتی‌متر)	وزن خشک کل (گرم بر بوته)	تعداد برگ	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	Fv/Fm
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی	شاهد	۲۸/۴۰±۱/۱۵b	۴/۷۱±۰/۰۴c	۸۸/۳±۷/۸cd	۲/۰۵±۰/۱۴a	۰/۸۷۳±۰/۰۶۵ab	۰/۶۳۷±۰/۰۵۵a	۰/۶۷۴±۰/۰۱۲a
	باکتری محرک‌رشد	۳۲/۳۳±۱/۱۵a	۵/۲۹±۰/۱۵b	۱۰۲/۷±۸/۰ab	۲/۰۳±۰/۱۲a	۰/۸۶۷±۰/۰۹۰ab	۰/۶۱۳±۰/۰۶۱ab	۰/۶۷۱± ۰/۰۱۲a
	قارچ مایکوریز	۳۳/۳۰± ۰/۹۹a	۵/۴۸±۰/۱۶ab	۱۰۰/۰±۸/۵abc	۲/۰۵± ۰/۱۶a	۰/۸۸۳ ± ۰/۰۸۳a	۰/۶۲۰ ± ۰/۰۵۶a	۰/۶۷۷ ± ۰/۰۱۳a
	تلقیح همزمان	۳۳/۴۰±۰/۹۲a	۵/۷۰± ۰/۰۴a	۱۰۸/۷± ۷/۵a	۲/۰۰±۰/۱۴a	۰/۹۲۷± ۰/۰۷۶a	۰/۶۵۰±۰/۰۶۰a	۰/۶۷۴±۰/۰۱۲a
۵۰ درصد ظرفیت زراعی	شاهد	۲۲/۴۷±۱/۲۵d	۳/۵۳±۰/۰۸e	۶۷/۰ ± ۵/۶e	۱/۲۳±۰/۱۱d	۰/۵۲۳± ۰/۰۴۱d	۰/۳۵۳± ۰/۰۳۸d	۰/۵۱۸±۰/۰۱۴d
	باکتری محرک‌رشد	۲۶/۶۳±۰/۸۰c	۴/۱۹±۰/۱۶d	۸۱/۰ ± ۵/۶d	۱/۵۶±۰/۰۷bc	۰/۶۹۰± ۰/۰۵۰c	۰/۴۷۷±۰/۰۳۵c	۰/۶۰۸±۰/۰۱۵bc
	قارچ مایکوریز	۲۶/۴۴± ۱/۱۰c	۴/۱۱± ۰/۲۰d	۸۳/۰ ± ۶/۰d	۱/۵۱ ± ۰/۰۹c	۰/۷۱۳ ± ۰/۰۴۱c	۰/۴۶۳ ± ۰/۰۵۵c	۰/۵۹۳ ± ۰/۰۱۴c
	تلقیح همزمان	۲۷/۰۷±۰/۶۷bc	۴/۶۱ ± ۰/۱۷c	۹۲/۰± ۶/۳bcd	۱/۷۵± ۰/۰۹b	۰/۷۶۰±۰/۰۸۵bc	۰/۵۳۰±۰/۰۴۶bc	۰/۶۲۴± ۰/۰۱۴b

– * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد، ns عدم اختلاف معنی‌دار

– مقادیر با حروف کوچک یکسان در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD هستند.

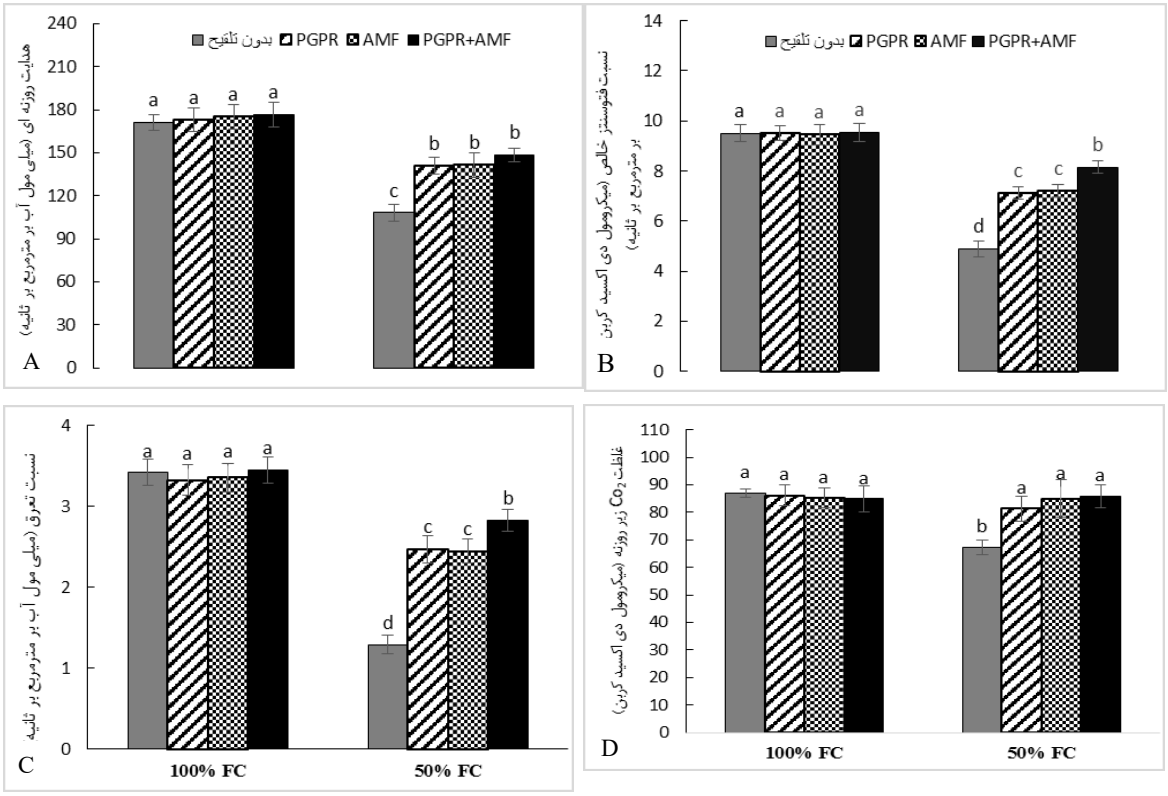
پارامترهای تبادلات گازی، محتوای نسبی آب برگ و پرولین: نتایج آنالیز واریانس نشان دادند که اثر ساده تیمارهای خشکی و تلقیح و اثر متقابل آنها بر هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز خالص و نسبت تعرق در سطح یک

درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۳). در گیاهان شاهد، تیمارهای تلقیح میکروبی تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز خالص و نسبت تعرق ایجاد نکرد. اعمال تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار پارامترهای هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز خالص و نسبت تعرق به‌ترتیب به میزان ۳۶/۸، ۴۸/۵ و ۶۲/۲ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. با این حال، افزایش معنی‌داری تحت تیمارهای باکتری محرک رشد، قارچ میکوریز و تلقیح همزمان در پارامترهای هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز خالص و نسبت تعرق تحت تنش خشکی نسبت به تنش خشکی به تنهایی مشاهده شد (شکل A۱، B و C). تجزیه واریانس همچنین نشان داد که اثر تیمار خشکی در سطح یک درصد و اثر متقابل تیمارها در سطح پنج درصد بر میزان غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش در غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه نسبت به گیاهان شاهد شد. با اینحال، تیمارهای تلقیح میکروبی باعث افزایش بیشتر در غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه در گیاهان بادرنجبویه تحت تنش خشکی شد و بیشترین غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه در گیاهان با تلقیح همزمان تحت تنش خشکی مشاهده شد (شکل D۱). مطابق جدول ۳، اثر ساده تنش خشکی و تلقیح میکروبی و اثر متقابل آنها بر رطوبت آب نسبی و محتوای پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). کاهش ۱۷/۸ درصد در محتوای آب نسبی برگ گیاهان بادرنجبویه تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان شاهد ثبت شد. با اینحال، تلقیح گیاه بادرنجبویه با باکتری محرک رشد، قارچ مایکوریز و تلقیح همزمان باعث افزایش رطوبت آب نسبی برگ گیاهان تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان تیمار شده با خشکی به تنهایی شد و بیشترین افزایش تحت تلقیح همزمان میکروبی ثبت گردید (شکل A۲). در گیاهان شاهد، تلقیح میکروبی باعث افزایش محتوای پرولین برگ شدند که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تلقیح مشاهده نشد. تنش خشکی نیز به طور معنی‌داری باعث افزایش تجمع پرولین در برگ گیاه نسبت به گیاهان شاهد شد. تیمارهای میکروبی باعث افزایش بیشتر در تجمع پرولین برگ گیاه بادرنجبویه در گیاهان تحت تنش خشکی شدند (شکل B۲).

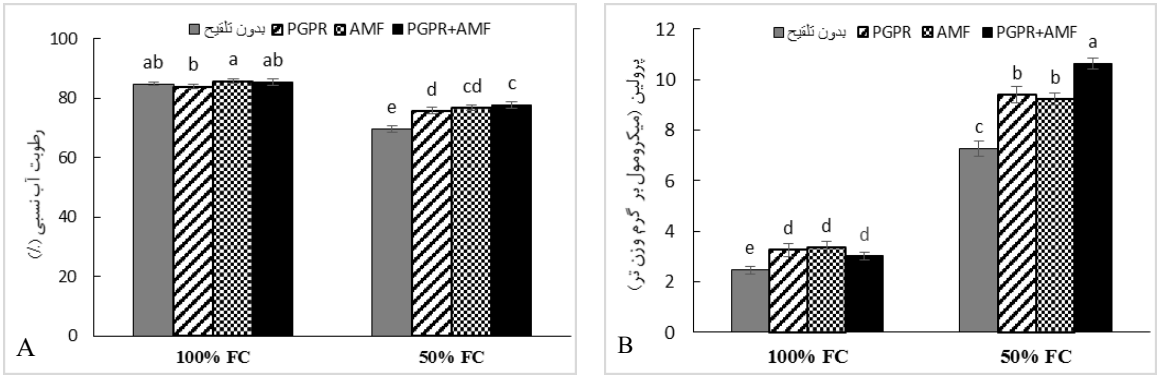
جدول ۳: تجزیه واریانس تبادلات گازی، رطوبت آب نسبی و پرولین گیاه بادرنجبویه تحت تیمارهای خشکی و تلقیح میکروبی

	df	هدایت روزنه‌ای	فتوسنتز خالص	نسبت تعرق	غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه	رطوبت آب نسبی	پرولین
تنش خشکی	۱	۹۲۵۳**	۴۲**	۸**	۱۹۶۴**	۵۹۶**	۲۲۴**
تلقیح	۳	۶۰۸**	۳**	۰/۷**	۳۰*	۲۵**	۴**
اثر متقابل تیمارها	۳	۳۸۵**	۳**	۰/۷**	۵۹**	۱۸**	۲**
خطا	۱۶	۵۲	۰/۱	۰/۰۳	۱۷/۵۹	۱/۱	۰/۰۶
ضریب تغییرات		۴/۷	۳/۸	۵/۷	۵/۱	۲/۳	۴

- * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد.



شکل ۱: تاثیر تلقیح میکروبی باکتری محرک رشد (PGPR)، میکوریز (AMF) و تلقیح توام (PGPR+AMF) بـر پارامترهـای تبادلات گازی گیاه بادرنجبویه تحت شرایط بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



شکل ۲: تاثیر تلقیح میکروبی باکتری محرک رشد (PGPR)، میکوریز (AMF) و تلقیح توام (PGPR+AMF) بر رطوبت آب نسبی (A) و پرولین (B) گیاه بادرنجبویه تحت شرایط بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و چرخه گلی اکسالاز: نتـایج تجزیـه واریـانس نشـان دادنـد کـه اثـر سـاده تیمارهای خشکی و تلقیح میکروبی و اثر متقابل آنهـا بر محتویات پراکسید هیـدروژن، متیـل گلـی اکسـال،

مالون دی‌آلدئید و نشت یونی برگ گیاه بادرنجبویه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ٤). نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار سطح پراکسید هیدروژن و متیل گلی اکسال برگ نسبت به گیاهان شاهد شد. با اینحال، تیمارهای باکتری محرک رشد، قارچ میکوریز و تلقیح همزمان باعث کاهش تجمع پراکسید هیدروژن به ترتیب به میزان ۳۱/۷، ۳۲/۱ و ٤۲/۹ درصد و متیل گلی اکسال به ترتیب به میزان ۲۸/۹، ۳۱/۸ و ۳۸/۷ درصد تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان تیمار شده با خشکی به تنهایی شدند (شکل A۳ و B). افزایش ۳ و ۲/٤ برابری به ترتیب در محتوای مالون دی آلدئید و نشت یونی در برگ گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. با اینحال، تیمارهای تلقیح میکروبی به‌طور معنی‌داری باعث سطح مالون دی‌آلدئید و نشت یونی تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان تیمار شده با تنش خشکی به تنهایی شدند و بیشترین میزان کاهش در گیاهان تیمار شده با تلقیح همزمان ثبت گردید (شکل C۳ و D).

نتایج تجزیه واریانس نشان دادند که اثر ساده تیمار خشکی و تلقیح میکروبی و اثر متقابل تیمارها بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ٥). نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که تیمارهای تلقیح میکروبی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ایجاد نکردند. تیمار خشکی باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز به ترتیب به میزان ۷٤/۸، ۵۹/۲، ۳۵/٦ و ٤۲/۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. با اینحال، تیمارهای تلقیح میکروبی باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در برگ گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان تحت تنش خشکی به تنهایی شدند و بیشترین افزایش تحت تلقیح همزمان بدست آمد (بجز فعالیت کاتالاز که بین تیمارهای تلقیح میکروبی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد) (شکل A٤، B، C و D). نتایج آنالیز واریانس نشان دادند که اثر ساده تیمار خشکی و تیمار تلقیح میکروبی و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم‌های گلی اکسالاز I و II در سطح یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ٥). افزایش ۵۳/۸ درصدی در فعالیت گلی اکسالاز I تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان شاهد ثبت گردید. تحت تنش خشکی، تلقیح میکروبی باعث افزایش بیشتر فعالیت گلی اکسالاز I شد (شکل A۵). تنش خشکی باعث کاهش فعالیت گلی اکسالاز II در برگ گیاه بادرنجبویه نسبت به گیاهان شاهد شد. با اینحال، تیمارهای باکتری محرک رشد، قارچ مایکوریز و تلقیح همزمان باعث افزایش فعالیت آنزیم گلی اکسالاز II تحت تنش خشکی شدند و بیشترین افزایش تحت تیمار تلقیح همزمان مشاهده شد (شکل B۵).

جدول ٤: تجزیه واریانس محتوای پراکسید هیدروژن، متیل گلی اکسال، مالون‌دی آلدئید و نشت یونی گیاه بادرنجبویه تحت تیمارهای خشکی و تلقیح میکروبی

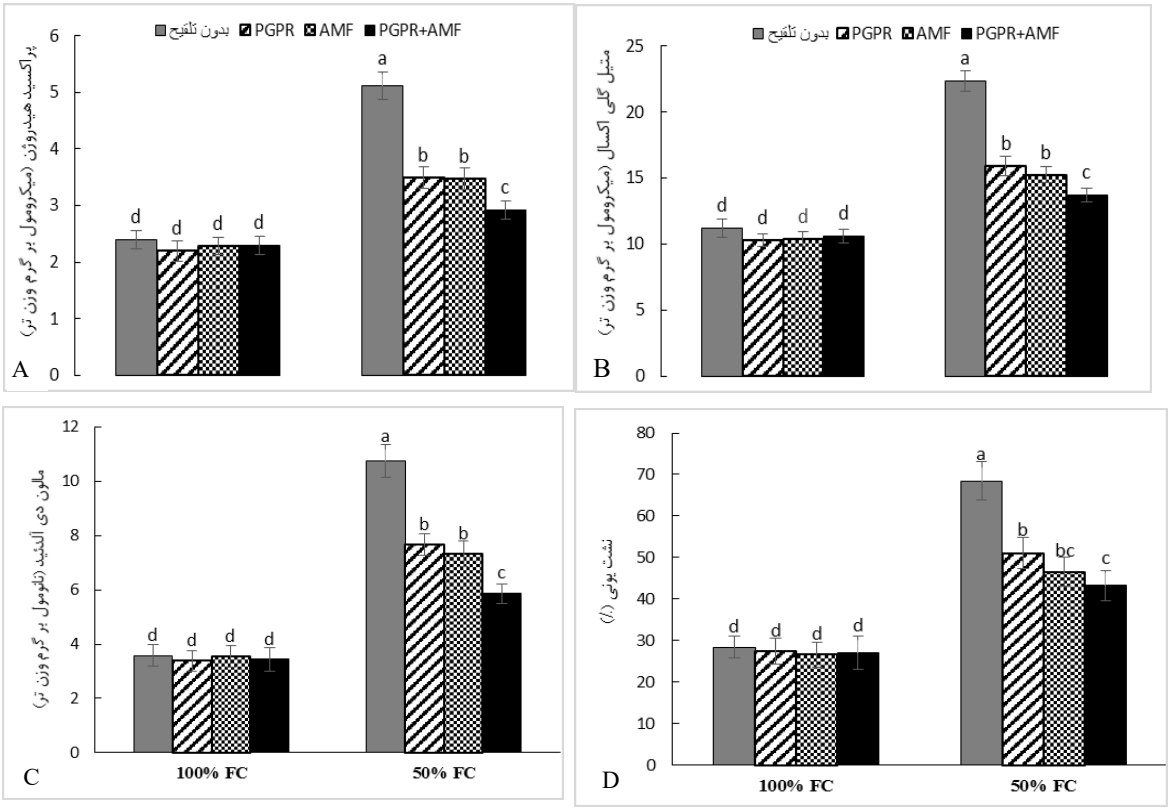
	df	پراکسید هیدروژن	متیل گلی اکسال	مالون دی آلدئید	نشت یونی
تنش خشکی	۱	۱۳**	۲۳۰**	۱۱۷**	۳۷٤۱**
تلقیح	۳	۱/۵**	۲٦**	۷**	۲۱۵**
اثر متقابل تیمارها	۳	۱/۲**	۱۸**	٦**	۱٦٦**
خطا	۱٦	۰/۰۳	۰/٤	۰/۲	۱۲/٦
ضریب تغییرات		٦	٤/۵	۷/۷	۳/٦

- ** معنی‌داری در سطح یک درصد.

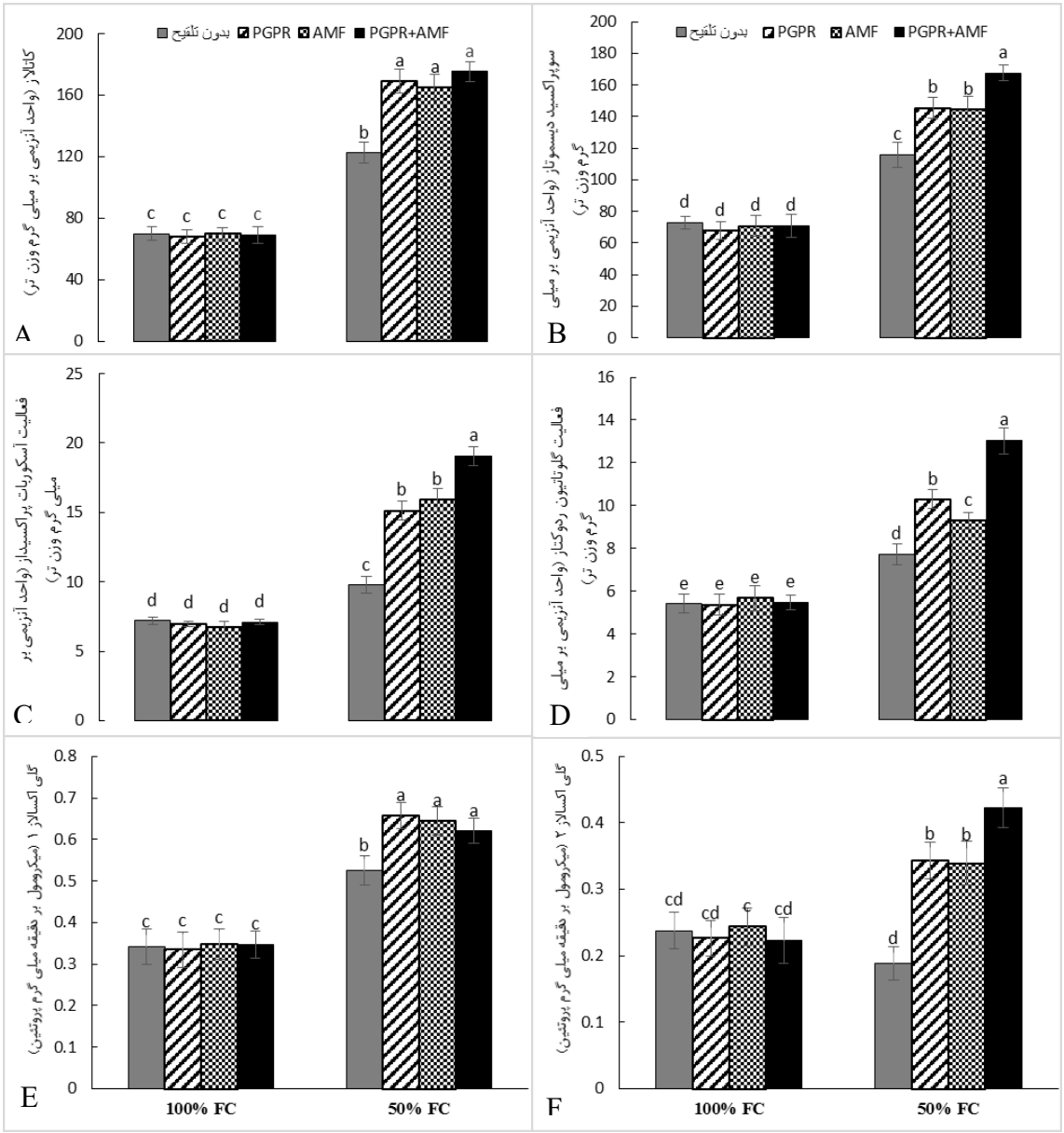
جدول ۵: تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و سیستم گلی اکسالاز گیاه بادرنجبویه تحت تیمارهای خشکی و تلقیح میکروبی

	df	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	گلوتاتیون ردوکتاز	گلی اکسالاز I	گلی اکسالاز II
تنش خشکی	۱	٤٧٠٦٠**	٣١٨٠٨**	٣٨٠**	١٢٧**	٠/٤٣**	٠٥٠**
تلقیح	٣	٨٣٤**	٦٢١**	٢١**	٧/٥**	٠/٠٠٥*	٠/٠١**
اثر متقابل تیمارها	٣	٩٠٢**	٧٣٤**	٢٣**	٧/٥**	٠/٠٠٦*	٠/٠٢**
خطا	١٦	٣٨	٤٢	٠/٣	٠/٢٣	٠/٠٠١٣	٠/٠٠٠٩
ضریب تغییرات		٥/٤	٦	٥	٦/١	٧/٥	١٠

* و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد.



شکل ۳: تاثیر تلقیح میکروبی باکتری محرک رشد (PGPR)، میکوریز (AMF) و تلقیح توام (PGPR+AMF) بر پراکسید هیدروژن (A)، متیل گلی اکسال (B)، مالون دی آلدئید (C) و نشت یونی (D) در گیاه بادرنجبویه تحت شرایط بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



شکل ٤: تاثیر تلقیح میکروبی باکتری محرک رشد (PGPR)، میکوریز (AMF) و تلقیح توام (PGPR+AMF) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و سیستم گلی اکسالاز گیاه بادرنجبویه تحت شرایط بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی-داری با یکدیگر ندارند.

بحث

ریشه گیاه به‌عنوان اندام جذب‌کننده آب و عناصر غذایی از خاک و اندام تولیدکننده ترکیبات مختلف از جمله هورمون‌های رشد، برای رشد و نمو گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد. بررسی‌های مختلف تأثیر مثبت همزیستی باکتری و قارچ‌های مفید بر شاخص‌های رشد ریشه از جمله افزایش سطح کل ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، طول ریشه و اندام هوایی و همچنین افزایش تقسیم یاخته‌های مریستم ریشه و تحریک تراوش‌ها از ریشه گیاهان مختلف را در شرایط طبیعی و یا تنش‌های مختلف نشان دادند (Ghorbani et al., 2020). نتایج نشان داد که تنش

خشکی باعث کاهش رشد، بیومس و تعداد برگ گیاه بادرنجبویه شد که مطابق نتایج گزارش شده توسط Idrees و همکاران (۲۰۱۰) و Saheri و همکاران (۲۰۲۰) می‌باشد. بیان شده است که تنش خشکی باعث کاهش جذب آب، پتانسیل آب و فشار تورگر سلول‌های گیاهی می شود که منجر به بسته شدن روزنه، پژمردگی گیاه و کاهش توسعه سلول و در نتیجه، کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Idrees et al., 2010). نتایج مشابهی از اثرات منفی تنش خشکی بر رشد و بیومس گیاه دارویی رزماری توسط Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شده است. با این حال، تلقیح باکتری محرک رشد و قارچ میکوریز و تلقیح همزمان آنها باعث بهبود رشد و تعداد برگ گیاه تحت تنش خشکی شد که نشان دهنده اثرات مثبت تلقیح میکروبی بر تحمل گیاه تحت تنش خشکی می‌باشد. نتایج مشابهی از اثرات مثبت کاربرد باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های مایکوریزا بر رشد و تحمل گیاهان مختلف قبلا گزارش شده است (Tiwari et al., 2016; Auge et al., 2015; Ruíz-Sánchez et al., 2011). قارچ میکوریز از طریق گسترش هیف و توسعه سیستم ریشه، سطح جذب آب بیشتری برای گیاه فراهم کرده و به دنبال جذب آب بیشتر، جذب عناصر افزایش و در نتیجه تولید و تجمع ماده خشک گیاه نیز بیشتر می‌شود (Auge, 2001). در رابطه با تأثیر باکتری‌های محرک رشد نیز می‌توان بیان داشت که این باکتری‌ها از طریق سازوکارهای مختلف، مانند تولید هورمون-های گیاهی، تولید سیدروفورها، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (Stajkovic et al., 2011). در گزارشی، Shaalan (۲۰۱۵) نشان داد که افزایش حاصلخیزی خاک با کودهای زیستی نظیر ازتوباکتر و سودوموناس، باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه دارویی سیاه دانه شده است.

میزان کلروفیل یک ویژگی مهم برای فهم چگونگی پاسخ گیاه است به محیطی که در آن به سر می‌برد (Ghorbani et al., 2021). در واقع دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است. کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و Fv/Fm گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی نشان دهنده اثرات منفی تنش خشکی بر دستگاه فتوسنتزی می‌باشد و می‌تواند نقش مهمی در کاهش رشد و بیومس گیاه داشته باشد. Saheri و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تنش خشکی از طریق القای تنش اکسیداتیو، باعث آسیب به دستگاه فتوسنتزی و کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. تلقیح میکروبی به ویژه تلقیح همزمان باکتری محرک رشد و قارچ مایکوریز باعث بهبود کلروفیل a، b، کاروتنوئیدها و Fv/Fm شد که نشان-دهنده نقش محافظتی این میکروارگانیسم‌ها از دستگاه فتوسنتزی تحت تنش خشکی است که با نتایج بدست آمده توسط Batool و همکاران (۲۰۲۰) و Begum و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد. قارچ میکوریزا از طریق ایجاد روابط همزیستی با گیاه، در جذب کارآمد برخی عناصر مانند فسفر که به‌عنوان عنصر کلیدی در انتقال انرژی طی فرآیند فتوسنتز مطرح است، افزایش محتوای کلروفیل و به دنبال آن فتوسنتز را به دنبال دارد. همچنین، گزارش شده است که مایکوریز با تسهیل روند جذب عناصری مانند نیتروژن و منیزیم (جزء اصلی ساختار مولکول کلروفیل) به افزایش محتوای کلروفیل کمک می‌کند (Munoz et al., 2011). در گزارشی Batool و همکاران (۲۰۲۰) بیان داشتند که همزیستی باکتری محرک رشد از طریق بهبود سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو، از رنگیزه‌های فتوسنتزی و دستگاه

فتوسنتزی محافظت کردند. در کاهو گزارش شده است که مصرف میکوریزا و باکتری، هدایت روزنه‌ای و میزان کل کلروفیل را افزایش داد (Vivas et al., 2003). بیان شده است که باکتری‌های ریزوسفری می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن درگیاهان در هنگام بروز تنش جلوگیری نموده و سبب کاهش اثرات منفی این هورمون در رشد و توسعه اندام‌های گیاه از طریق تولید آنزیم ACC–آمیناز شوند. این آنزیم به صورت غیر مستقیم و از طریق کاهش سطح اتیلن تنشی، در گیاه باعث تداوم رشد گیاه می گردد (Grichko and Glick, 2001). بنابراین، همزیستی میکوریز و باکتری محرک رشد باعث حفظ رنگیزه-های فتوسنتزی و محافظت از دستگاه فتوسنتزی تحت تنش خشکی شدند که می‌تواند نقش مهمی در بهبود تحمل گیاه به تنش کم آبی داشته باشد.

کاهش جذب آب و بسته شدن سریع روزنه‌ها، پاسخ‌های اولیه گیاهان به تنش خشکی هستند که باعث کاهش تعرق و جذب دی اکسید کربن و در نتیجه، کاهش فتوسنتز می‌شود (Ghasemi-Omran et al., 2021). گیاهان برای مقابله کاهش پتانسیل آب و بسته شدن روزنه‌ها هوایی، با افزایش تجمع ترکیبات اسمولیت مانند پرولین، باعث بهبود محتوای آب نسبی و تنظیم روزنه‌های هوایی تحت تنش خشکی می‌شوند که می‌تواند باعث بهبود تحمل و رشد گیاه شود (Bacelar et al., 2007). نتایج نشان دادند که تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ‌ها و کاهش پارامترهای تبادلات گازی شد که با افزایش تجمع پرولین همراه بود که با نتایج Saheri و همکاران (۲۰۲۰) و Begum و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد. بنابراین، کاهش هدایت روزنه‌ای و غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه باعث کاهش میزان فتوسنتز می‌شود که یکی از دلایل اصلی کاهش رشد و نمو گیاه تحت تنش خشکی می‌باشد. با اینحال، تلقیح میکروبی به ویژه تلقیح مشترک باعث افزایش بیشتر پرولین و بهبود رطوبت آب نسبی و پارامترهای تبادلات گازی شد که نشان می‌دهد تلقیح باکتری محرک رشد و میکوریز از طریق تجمع ترکیبات اسمولیت و تنظیم اسمزی سلول‌های گیاهی، باعث بهبود رطوبت آب نسبی و عملکرد فتوسنتز می‌شوند. اثرات مثبت همزیستی میکوریز و باکتری محرک رشد بر رطوبت آب نسبی، پرولین و تبادلات گازی توسط Ruíz-Sánchez و همکاران (۲۰۱۱) و Begum و همکاران (۲۰۱۹) نیز گزارش شده است. گزارش شده است که احتمالاً باکتری‌های محرک رشد از طریق توسعه سیستم ریشه‌ای (به‌واسطه تولید هورمون اکسین و ACC–دآمیناز) با تشکیل ریشه‌های طویل‌تر، سبب بهبود جذب آب از اعماق خاک شده و کارایی استفاده از آب را تحت تنش افزایش می‌دهند (Arshad et al., 2008). Smaiel Pour و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تلقیح با قارچ میکوریز شاخص‌های رشد رویشی، محتوای نسبی آب گیاه و محتوای فسفر و پتاسیم برگ گیاه مرزه را در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به‌طور معنی‌داری افزایش داد که با بهبود تبادلات گازی گیاه همراه بود. با توجه به کاهش مقدار نشت یونی با کاربرد میکوریز توأم با باکتری‌های محرک رشد، Moghadasan و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند در سطوح مختلف تنش خشکی، استفاده از کودهای زیستی سبب افزایش میزان نسبی آب برگ و بهبود فتوسنتز شدند. به نظر می‌رسد که میکوریز احتمالاً از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ، میزان آب بیشتری جذب کرده و باعث بهبود روابط آبی و هدایت روزنه‌ای گیاه می-گردد (Auge et al., 2015). همچنین تجمع یون‌ها یا مواد آلی در واکوئل سلول‌های برگ تحت تنش

خشکی، در گیاهان تلقیح شده با میکوریز و باکتری محرک رشد بیشتر انجام می‌شود و باعث تعدیل پتانسیل اسمزی سلول‌ها و بهبود هدایت روزنه‌ای برگ می‌شود (Wu et al., 2007).

تنش خشکی باعث افزایش تجمع پراکسید هیدروژن و متیل گلی اکسال شد که نشان دهنده القای تنش اکسیداتیو در گیاه بادرنجبویه می‌باشد. تنش اکسیداتیو القا شده توسط تنش خشکی با آسیب به لیپیدهای غشایی (افزایش سطح مالون دی آلدئید)، باعث افزایش نشت یونی شد که نقش مهمی در کاهش رشد گیاه بادرنجبویه دارد. نتایج مشابهی از القای تنش اکسیداتیو و آسیب به غشاهای زیستی تحت تنش خشکی توسط Pourghasemian و همکاران (۲۰۲۰) و La و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش شده است. افزایش تولید انواع اکسیژن فعال و القای تنش اکسیداتیو یکی از عوامل اصلی کاهش رشد گیاه تحت تنش خشکی می‌باشد. بنابراین، پایین نگهداشتن سطح انواع اکسیژن فعال و حفظ حالت ردوکس سلول تحت تنش خشکی می‌تواند نقش مهمی در بهبود تحمل گیاه داشته باشد. نتایج نشان دادند که تلقیح میکروبی باکتری محرک رشد و قارچ مایکوریز و تلقیح توام آنها باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و آنزیم‌های سیستم گلی اکسالاز در گیاه تحت تنش خشکی شدند که نشان دهنده نقش مثبت همزیستی این میکروارگانیسم‌ها بر سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی گیاه تحت تنش خشکی می‌باشد. نتایج مشابهی از بهبود سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در گیاهان تلقیح شده توسط قارچ میکوریز و باکتری محرک رشد تحت تنش خشکی و دیگر تنش‌ها گزارش شده است (Kohler et al., 2008; Begum et al., 2019). در گزارشی، Tiwari و همکاران (۲۰۱۶) بیان داشتند که باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق افزایش بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدان (کاتالاز و سوپراکسیداز)، باعث تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدان و در نتیجه، بهبود تحمل گیاه تحت تنش خشکی شدند. همچنین، Mona و همکاران (۲۰۱۷) اثبات کردند که همزیستی قارچ مایکوریز باعث تقویت فعالیت آنزیم‌های اکسیدان شدند که با کاهش تنش اکسیداتیو، از رنگیزه‌های فتوسنتزی و دستگاه فتوسنتزی تحت تنش خشکی محافظت کردند. Batool و همکاران (۲۰۲۰) ثابت کردند که تلقیح باکتری محرک رشد با بهبود فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز، باعث افزایش تحمل گیاه تحت تنش خشکی شد. تلقیح همزمان PGPR و قارچ میکوریز باعث تقویت بیشتر سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و سیستم گلی اکسالاز در مقایسه با تلقیح جداگانه هر میکروارگانیسم تحت تنش خشکی شد که نشان دهنده اثرات هم-افزایی قارچ میکوریز و باکتری محرک رشد می‌باشد که با نتایج Kohler و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. بنابراین، این نتایج تایید می‌کند که گیاه بادرنجبویه تا اندازه‌ای به تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) حساس می‌باشد و تلقیح میکروبی قارچ مایکوریز و باکتری محرک رشد به خصوص تلقیح همزمان، به طور موثری باعث تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و گلی اکسالاز، و در نتیجه، کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود رشد گیاه تحت تنش خشکی می-شود.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج کلی نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی، هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز گیاه شد. همچنین تنش خشکی باعث افزایش تجمع ترکیبات سمی پراکسید هیدروژن و متیل گلی اکسال و در نتیجه، القای تنش اکسیداتیو در گیاه بادرنجبویه شد. تنش خشکی همچنین باعث افزایش نشت یونی،

کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و آسیب به دستگاه فتوسنتزی شد که با کاهش رشد و بیومس گیاه همراه شد. با اینحال، تلقیح میکروبی قارچ میکوریز و باکتری محرک رشد به صورت جدا و توام با افزایش تجمع اسمولیت، باعث بهبود محتوای آب نسبی و افزایش هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی شدند. تیمارهای تلقیح میکروبی همچنین از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و سیستم گلی اگسالاز، باعث کاهش سطح پراکسید هیدروژن و متیل گلی اکسالاز و در نتیجه، کاهش تنش اکسیداتیو القا شده توسط تنش خشکی شدند که باعث بهبود رشد و بیومس گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی شدند. بنابراین، نتایج ما بیان می‌کند کاربرد باکتری *A. brasilense* و قارچ میکوریز *G. mosseae* در خاک به تنهایی یا همزمان باهم می‌توانند به طور موثری باعث بهبود تحمل و رشد گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی شوند.

References

Abbaszadeh, B., Layeghhaghighi, M., Azimi, R. and Hadi, N. (2020). Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. Industrial Crops and Products, 144: 111893.

Abdullaev, F.I. and Espinosa-Aguirre, J.J. (2004). Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. Cancer Detection and Prevention, 28(6): 426-432.

Abedi, T. and Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46: 27-34.

Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. and Smith, M. (2000). Crop evapotranspiration. FAO irrigation and drainage paper, no. 56. FAO, Roma, 1–300

Argyropoulos, D. and Müller, J. (2014). Changes of essential oil content and composition during convective drying of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Industrial Crops and Products, 52: 118-124.

Arshad, M., Shaharoona, B. and Mahmood, T. (2008). Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-Deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). Pedosphere, 18: 611-620.

Artursson, V. and Jansson, J.K. (2003). Use of bromodeoxyuridine immunocapture to identify active bacteria associated with arbuscular mycorrhizal hyphae. Applied and Environmental Microbiology, 69(10): 6028-6215.

Auge, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhizae, 11: 3-42.

Auge, R.M., Toler, H.D. and Saxton, A.M. (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. Mycorrhiza, 25(1): 13-24.

Bacelar, E.A., Moutinho-Pereira, J.M., Goncalves, B.C., Ferreira, H.F. and Correia, C.M. (2007). Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany, 60(2): 183–192.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205–207.

Batool, T., Ali, S., Seleiman, M.F. Naveed, N.H., Ali, A., Ahmed, K., Abid, M., Rizwan, M., Shahid, M.R., Alotaibi, M., Al-Ashkar, I. and Mubushar, M. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. Scientific Reports, 10: 16975

Begum, N., Ahanger, M.A., Su, Y., Lei, Y., Mustafa, N.S.A., Ahmad, P. and Zhang, L. (2019). Improved drought tolerance by AMF inoculation in maize (*Zea mays*) involves physiological and biochemical implications. Plants (Basel), 8(12): 579.

Begum, N., Wang, L., Ahmad, H., Akhtar, K., Roy, R., Khan, M.I. and Zhao, T. (2021). Co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and the plant growth-promoting rhizobacteria improve growth and photosynthesis in tobacco under drought stress by up-regulating antioxidant and mineral nutrition metabolism. Microbial Ecology. doi: 10.1007/s00248-021-01815-7.

Grichko, V.P. and Glick, B.R. (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth promoting bacteria. Plant Physiology and Biochemistry, 39: 11-17.

Ghasemi-Omran, V.O., Ghorbani, A. and Sajjadi-Otaghsara, S.A. (2021). Melatonin alleviates NaCl-induced damage by regulating ionic homeostasis, antioxidant system, redox homeostasis, and expression of steviol glycosides-related biosynthetic genes in in vitro cultured *Stevia rebaudiana* Bertoni. In Vitro Cellular and Developmental Biology. 57: 319–331.

Ghorbani, A., Pishkar, L., Roodbari, N., Pehlivan, N. and Wu, C. (2021). Nitric oxide could allay arsenic phytotoxicity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by modulating photosynthetic pigments, phytochelatin metabolism, molecular redox status and arsenic sequestration. Plant Physiology and Biochemistry. 167: 337–348.

Ghorbani, A., Tafteh, M., Roudbari, N., Pishkar, L., Zhang, W. and Wu, C. (2020). *Piriformospora indica* augments arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa*) by immobilizing arsenic in roots and improving iron translocation to shoots. Ecotoxicology and Environmental Safety. 209: 111793.

Ghorbani, A., Zarinkamar, F. and Fallah, A. (2009). The effect of cold stress on the morphologic and physiologic characters of tow rice varieties in seedling stage. Journal of Crop Breeding. 1: 50–66.

Ghorbani, A., Zarinkamar, F. and Fallah, A. (2011). Effect of cold stress on the anatomy and morphology of the tolerant and sensitive cultivars of rice during germination. Journal of Cell and Tissue. 2(3): 235–244.

Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A. and Fujita, M. (2011). Nitric oxide modulates antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and reduces salinity induced damage in wheat seedling. Plant Biotechnology Reports, 5: 353–365.

Heath, R.L. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189–198.

Idrees, M., Khan, M.M.A., Aftab, T., Naeem, M. and Hashmi, N. (2010). Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. Journal of Plant Interactions, 5(4): 293–303.

Kader, M.A., Main, M.H. and Hogue, M.S. (2002). Effects of Azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Sciences, 2: 259-261.

Khandan-Mirkohi, A., Taheri, M.R., Zafar-Farrokhi, F. and Rejali, F. (2016). Effects of arbuscular mycorrhizal fungus and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under drought stress on growth of ornamental osteospermum (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix'). Iranian Journal of Horticultural Science, 47(2): 177-192.

Kohler, J., Herna´ndez, J.A., Caravaca, F. and Rolda´n, A. (2008). Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. Functional Plant Biology, 35: 141–151

La, V.H., Lee, B.R., Zhang, Q., Park, S.H., Islam, M.T., and Kim, T.H. (2018). Salicylic acid improves drought-stress tolerance by regulating the redox status and proline metabolism in *Brassica rapa*. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 60: 31–40.

Li, J., Meng, B., Chai, H., Yang, X., Song, W., Li, S. and Lu, A., Zhang, T. and Sun, W. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in C3 (*Leymus chinensis*) and C4 (*Hemarthria altissima*) grasses via altering antioxidant enzyme activities and photosynthesis. Frontiers in Plant Science. 10:499.

Liao, X., Chen, J., Guan, R., Liu, J. and Sun, Q. (2021). Two arbuscular mycorrhizal fungi alleviates drought stress and improves plant growth in cinnamomum migao seedlings. Mycobiology, 49(4): 396–405

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. Methods in Enzymology, 148: 350-381.

Marulanda, A., Barea, J.M. and 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.

Moghadasan, S., Safipour Afshar, A. and Saeid Nematpour, F. (2016). The role of mycorrhiza in drought tolerance of marigold (*Calendula officinalis* L.). Journal of Crop Ecophysiology, 9(4): 521-532.

Mona, S.A., Hashem, A., Abd Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Soliman, D.W.K., Wirth, S. and Egamberdieva, D. (2017). Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. Journal of Integrative Agriculture, 16: 1751–1757.

Mukerji, K.G. and Chamola, B.P. (2003). Compendium of mycorrhizal research. A. P. H. Poblisher, New Delhi. 310 pp.

Munoz, I.E., Garcia de Salamone, R., Aroca, J.M., Ruiz Lozano, R. and Azcón, R. (2011). *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. Journal of Plant Physiology, 168: 1031-1037.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22: 867–880.

Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S.A., Darvishzadeh, R. and Samadi, A. (2011). Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. Journal of Medicinal Plants Research, 5(12): 2483-2488.

Pourghasemian, N., Moradi, R., Naghizadeh, M. and Landberg, T. (2020). Mitigating drought stress in sesame by foliar application of salicylic acid, beeswax waste and licorice extract. Agricultural Water Management, 231: 105997.

Principato, G.B., Rosi, G., Talesa, V., Govannini, E. and Uolila, L. (1987). Purification and characterization of two forms of glyoxalase II from rat liver and brain of Wistar rats. Biochimica et Biophysica Acta, 911: 349–355

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N. and Gautams, S.P. (2001). Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martini* var. Motia by Rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation. Microbiology Research, 156: 145-149.

Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., García de Salamone, I.E., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J.M. and Azcón R. (2011). *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. Journal of Plant Physiology, 168(10): 1031-7.

Saheri, F., Barzin, G., Pishkar, L. Mashhadi Akbar Boojar, M. and Babaeekhou, L. (2020). Foliar spray of salicylic acid induces physiological and biochemical changes in purslane (*Portulaca oleracea* L.) under drought stress. Biologia, 75: 2189–2200.

Schonfeld, M.A., Johnson, R.C., Carwer, B.F. and Mornhinweg, D.W. (1988). Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science, 28: 526–531.

Shaalan, M.N. (2005). Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality (*Nigella sativa* L.) plants. Egyptian Journal Agriculture Research, 83: 18–28.

Smaiel Pour, B., Jalilvand, P. and Hadian, J. (2013). The effect of drought stress and mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of *Satureja hortensis* L. Journal of Agroecology, 5(2): 169-177.

Stajkovic, O., Delic, D., Josic, D., Kuzmanovic, D., Rasulic, N. and Knezevic Vukcevic, J. (2011). Improvement of common bean growth-promoting bacteria. Romanian Biotechnological Letters, 16: 5919-5926.

Tiwari, S., Lata, C., Chauhan, P.S. and Nautiyal, C.S. (2016). *Pseudomonas putida* attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum* L. during drought stress and recovery. Plant Physiology and Biochemistry, 99: 108-17.

Verma, R.S., Rajendra, C.P. and Chauhan, A. (2015). Evaluation of essential oil quality of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) grown in two locations of northern India. Journal of Essential Oil Research, 27(5): 412-416.

Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil, 255: 571-586.

Vivas, A., Marulanda, A., Ruiz-Lozano, J.M., Barea, J.M. and Azcon, R. (2003). Influence of a *Bacillus* sp. On physiological activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and plant responses two PEG induced drought stress. Mycorrhizae, 13: 249-256.

Wild, R., Ooi, L., Srikanth, V. and Mu¨nch, G. (2012). A quick, convenient and economical method for the reliable determination of methylglyoxal in millimolar concentrations: the N-acetyl-L-cysteine assay. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 403(9): 2577–2581.

Younesi, O. and Moradi, A. (2015). Effect on different priming methods on germination and seedling establishment of two medicinal plants under salt stress conditions. Cercetari Agronomice in Moldova, 48(3): 43-51.

Yu, C.W., Murphy, T.M. and Lin, C.H. (2003). Hydrogen peroxide-induces chilling tolerance in mung beans mediated through ABA-independent glutathione accumulation. Functional Plant Biology, 30: 955–963.

Zhang, M., Yang, L., Hao, R., Wang Y. and Yu X. (2020). Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria isolated from jujube (*Ziziphus jujuba*) and their potential to enhance drought tolerance. Plant and Soil, 452: 423–440.