

بررسی کود زیستی مایکوگرن بر روابط آبی و راندمان تولید ریز غده سیب زمینی در شرایط تنش خشکی

خسرو پرویزی^{1*} - مارگارت چان²

تاریخ دریافت: 1393/09/24

تاریخ پذیرش: 1394/04/03

چکیده

به منظور بررسی کود زیستی مایکوگرن بر رشد، عملکرد و کیفیت ریزغده سیب زمینی در شرایط تنش خشکی پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در چهار تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. بدین منظور بستر کشت به نسبت 2:3 (پیت: پرلیت) تهیه و با نسبت وزنی 1 درصد با کود زیستی مایکوگرن مخلوط شد. تیمارهای آزمایشی شامل ریزغده‌های دو رقم سیب زمینی (آگریا و مارفونا) و سطوح آبیاری با سه دور 5، 8 و 11 روزه بودند. پس از برداشت، ریزغده‌ها به اندازه‌های مختلف تفکیک شده و درصد ماده خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در تیمار شاهد (دور آبیاری 5 روزه) گیاهان حاصل از ریزغده به طور معنی‌دار از مقدار نسبی آب برگ بیشتری نسبت به گیاهان در دو تیمار دیگر برخوردار بودند. اما گیاهان در دو دور آبیاری 8 و 11 روزه در مقایسه با شاهد پتانسیل اسمزی پایین‌تر و پرولین بیشتری داشتند و توانایی تنظیم اسمزی گیاهان با افزایش دور آبیاری با مصرف کود زیستی افزایش پیدا کرد. تفاوت معنی‌داری در میزان تولید ریزغده با اندازه متوسط و ریز در سه دور آبیاری مشاهده نشد. با این حال در تولید ریز غده درشت تفاوت تیمارهای آبیاری معنی‌دار بود. در دو دور آبیاری 5 و 8 روزه در مقایسه با تیمار 11 روزه به طور متوسط 62 درصد غده درشت‌تری تولید شد. در درصد ماده خشک ریز غده تولیدی سه سطح آبیاری وضعیتی مشابه داشتند. دو رقم سیب زمینی در مجموع واکنشی متفاوت در تولید ماده خشک ریزغده داشتند. در مجموع با نتایج این پژوهش مشخص شد که استفاده از کود زیستی مایکوگرن در کشت ریزغده سیب زمینی در شرایط معمول آبیاری و حتی با اعمال تنش ملایم (افزایش طول دوره آبیاری به 3 روز)، سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی تولید ریزغده در گیاهچه‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تنظیم اسمزی، عملکرد ریزغده، کم آبی، کود آلی

مقدمه

حاصلخیزی خاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح شده‌اند. کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های محرک رشد³ از جنس‌های *Pseudomonas* و هم‌چنین *Bacillus* از طریق ساز و کارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها، سنتز آنتی بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد و افزایش قدرت گیاه می‌شوند (34).

قارچ‌های مایکوریز یکی از انواع کودهای زیستی بوده که از طریق رابطه همزیستی با ریشه گیاهان موجب افزایش کارایی جذب عناصر غذایی پرمصرف و حتی کم مصرف توسط گیاهان می‌شوند. همچنین از طریق افزایش جذب آب، افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زنده (عوامل بیماریزا) و غیر زنده (خشکی، شوری و...) سبب بهبود رشد، نمو و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم‌های

کیفیت خاک نه تنها به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن وابسته است بلکه ارتباط بسیار نزدیکی با خصوصیات بیولوژیکی آن نیز دارد (14). یک سیستم ریشه ای فعال، ترکیبات آلی را بطور منظم به محیط ریشه گیاه آزاد می‌کند. این ترکیبات سبب رشد و افزایش جامعه میکروبی خاک شده که بدنال آن تنوع کارکردی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (21). در حال حاضر کودهای بیولوژیک به عنوان گزینه‌ای جایگزین برای کودهای شیمیایی، به منظور افزایش

1- استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

(* - نویسنده مسئول: Email: kparvizi@yahoo.com)

2- دانشیار مرکز تحقیقات و توسعه منابع طبیعی، بخش بیوتکنولوژی، دانشگاه ایالتی ساراواک، مالزی.

های تلقیح شده با مخلوط دو ایزوله تجاری عملکرد غده بیشتری نسبت به بکارگیری *G. intraradices* به صورت خالص داشتند (13). همچنین در آزمایشی دیگر نتیجه گرفتند که ایزوله تجاری از قارچ مایکوریز گونه *G. intraradices* به صورتی معنی دار تولید ریزغده را در گیاهچه های حاصل از کشت بافت در رقم آتلانتیک سیب زمینی را افزایش می دهد (23).

تکثیر ریزغدهها معمولاً از نظر رشد و استقرار اولیه بطئی و کند است. کاهش قدرت رشد اولیه به ویژه اگر با تنش همراه باشد علاوه بر ایجاد حساسیت به آلودگی های قارچی و باکتریایی، منجر به کاهش چشمگیری در عملکرد نهایی در گیاهچه های حاصله می گردد. به منظور مطالعه تأثیر کود بیولوژیکی (زادامیه میکوریز و باکتری های محرک رشد) بر میزان قدرت رشد گیاهان حاصل از ریزغده، روابط آبی سیب زمینی و نیز عملکرد نهایی تولید ریزغده در شرایط تنش در سه دور آبیاری این آزمایش به اجرا درآمد.

مواد و روش ها

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر کاربرد کود زیستی مایکروگرین² (جدول 1) بر مقدار آب نسبی، پتانسل اسمزی، میزان پرولین برگ و همچنین عملکرد کمی و کیفی گیاهچه های حاصل از کشت ریزغده سیب زمینی در شرایط تنش خشکی انجام شد. کود زیستی مایکروگرین توسط شرکت پیت گرو در مالزی تولید شده و به عنوان کود بیولوژیک استفاده گسترده ای در گلکاری ها، نهالستان های تولید نخل روغنی، گیاهان خزانه ای و نشایی دارد. تولید این کود دارای مجوز رسمی از وزارت کشاورزی مالزی می باشد و به عنوان یک کود بیولوژیک که با قارچ میکوریز و باکتری های محرک رشد همراه می باشد، در مالزی مورد توجه فراوان می باشد. محل اجرای پژوهش گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ایالتی ساراواک³ در کشور مالزی بود. ابتدا بستر کشت از پیت و پرلیت با نسبت 1:3 (پیت: پرلیت) تهیه و با کود زیستی مایکروگرین به نسبت 1 درصد وزنی کاملاً مخلوط گردید. مخلوط خاکی و کود به جعبه های کشت (با ابعاد 60×40 سانتی متر) منتقل گردیده و به مقدار 10 کیلوگرم در هر جعبه کشت توزیع گردید. کاشت ریزغدهها از دو رقم آگریا و مارفونا با فاصله 6×8 سانتی متر در هر جعبه کشت انجام شد. تعداد 16 عدد ریزغده جوانه دار در هر جعبه کاشت 80 گیاهچه در متر مربع و در عمق 7 سانتی متری صورت گرفت. طرح آزمایشی مورد استفاده آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح پایه کاملاً تصادفی بود. فاکتورهای آزمایش سه دور آبیاری 5 روزه (دور معمول در گلخانه)، 9 و 11 روزه (به عنوان تنش) و دو نوع رقم (سانته و آگریا)

کشاورزی پایدار می شوند (15، 29 و 32). گزارش های مختلف حکایت از این می نماید، که چنانچه باکتری های حل کننده فسفر در کودهای بیولوژیک و در تلقیح با قارچ میکوریز مورد استفاده قرار گیرند، به دلیل حلالیت فسفر از منابع آلی و معدنی غیر قابل دسترس و انتقال آن به ریزوسفر ریشه سبب تحریک رشد و نمو گیاهی می شوند. این امر به نوبه خود سبب استقرار بهتر میکوریز در محیط ریشه می شود (36). از گروه دیگر باکتری ها در محیط ریشه می توان به باکتری های تحریک کننده رشد که به نام باکتری های کمک کننده به استقرار میکوریز¹ نیز نامیده می شوند و نژادهای مختلف پنی باسیلوس را شامل می شود، اشاره کرد. این باکتری ها با سنتز آنزیم های فسفاتاز، استراز، تری هالاز و نیز تولید هورمون های محرک رشد با مکانسیم های مختلف اثر تحریکی بر توسعه و استقرار میکوریز دارند (25، 31، 37 و 39). به موازات نقش میکوریز در جذب عناصر غذایی، ریشه های میکوریز امکان دسترسی بهتر گیاه به آب را با واکنش هایی از قبیل تنظیم حرکت روزنه ای، افزایش هدایت هیدرولیکی آب، تنظیم اسمزی و کمک به پایداری پتانسیل آب سلولی میسر می سازند (5 و 12). در مطالعات دیگر اثرات قابل توجه میکوریز در تحمل به خشکی به نقش آن در افزایش جذب فسفر، تحریک سنتز سیتوکینین و افزایش راندمان فتوسنتز نسبت داده شده است (16). گیاهان میکوریزی قادرند با پتانسیل آب کمتر در خاک جذب بیشتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزی داشته باشند (32). همچنین سرعت تعرق در واحد سطح برگ در آنها نسبت به گیاهان غیر میکوریزی پایین تر است (4). توپار و همکاران (35) و سانچز بلانکو و همکاران (30) نشان دادند که گیاهان میکوریزی، سطح بالایی از هدایت روزنه ای نسبت به گیاهان غیر میکوریزی داشتند. سابرامانیا و همکاران (33) نشان دادند که گونه فرنگی میکوریزی شده با گونه *Rosmarinus officinalis* تحت تنش خشکی در مقایسه با شاهد از مقدار نسبی آب برگ بالاتری هم در شرایط تنش خشکی و هم در شرایط آبیاری کامل برخوردار بود.

استفاده از غده چه ها و ریزغده چه های بذری سالم و عاری از بیماری در سیب زمینی از طریق کشت بافت با هدف کاهش انتقال عوامل بیماریزا به نسل بعد و تهیه بذور سالم، سرعت و قدرت رشد بیشتر، یکنواختی رشد در گیاهان حاصله و نهایتاً دستیابی به عملکرد بالا انجام می گیرد (9). ریز ازدیادی در سیب زمینی با هدف بالا بردن ضریب تکثیر و بر مبنای تولید ریزغده، علاوه بر تولید هسته اولیه بذر سالم، امکان ذخیره ژرم پلاسما جدید و انتقال آسان مواد گیاهی را میسر می سازد. در بررسی تأثیر دو ایزوله تجاری مخلوط از قارچ مایکوریز با نام های Vaminoc و Endorize و نیز جدایه خالص شده از قارچ آربوسکولار مایکوریز گونه *Glomus intraradices* بر میزان تولید غده و توزیع آن در اندازه های مختلف مشخص شد که گیاهچه

2 -Myc-green
3 -University of International Technology Mara Sarawak (UITM)

1 - Mycorrhizal helper bacteria

ها به صورت زیر است.

$$\ln RWC = a - b \ln qs \quad (2)$$

عکس شیب معادله 2 به عنوان برآوردی از توان تنظیم اسمزی گیاه بکار رفته است (18 و 20).

پرویلین با استفاده از روش ایریگوئن و همکاران (17) استخراج و با استفاده از منحنی حاصل از استانداردهایی از پرویلین (صفر تا 0/1 میکرومول بر لیتر) در طول موج 515 نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد.

برای اطمینان از کلونیزه شدن زادمایه قارچ میکوریز موجود در کود مایکوگرن با ریشه در گیاهچه‌ها، هشت هفته پس از کاشت ریزغده‌ها، در هر واحد آزمایشی یک گیاهچه به صورت تصادفی برداشت شده و کلونیزاسیون ریشه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای تعیین شدت کلونیزاسیون قارچ در ریشه از روش فیلیپس و هیمن (24) استفاده شد. درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها براساس روش بیرمن و لیندرمن (10) محاسبه شد. در هنگام برداشت، گیاهچه‌ها با دقت از محیط کشت خارج شده و ریزغده‌های تولیدی پس از توزین به چهار کلاس با اندازه‌های متفاوت تفکیک شده (بزرگ‌تر از پنج گرم، سه تا پنج گرم، یک تا سه گرم و کوچک‌تر از یک گرم)، تعداد آن‌ها در هر کلاس بذری مشخص شده و بر اساس نسبت به گیاهچه موجود در هر جعبه کاشت متوسط تعداد ریزغده در هر گیاهچه و در هر تکرار برآورد گردید. جهت اندازه‌گیری ماده خشک غده سه نمونه تصادفی از هر تکرار جدا شده و پس از شستشو و خشک نمودن آن‌ها، برش‌هایی به صورت چپس از آن‌ها تهیه شده و در آون در دمای 85 درجه سانتی‌گراد بمدت 48 ساعت قرار گرفتند. بعد از چند نوبت توزین، و رسیدن به وزن ثابت، درصد ماده خشک آن‌ها از تقسیم وزن نهایی بر وزن اولیه و ضرب عدد حاصل در 100 تعیین شد. در خاتمه محاسبات آماری داده‌های حاصل از طریق نرم‌افزار SAS انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال خطای 5 درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که کاربرد کود بیولوژیک مایکوگرن تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال 1 درصد) بر محتوای نسبی آب برگ در گیاهچه‌های سیب‌زمینی دارد. اثر دور آبیاری بر مقدار آب نسبی برگ در سطح 1 درصد معنی‌دار شد. در برهمکنش رقم و دور آبیاری تفاوت معنی‌دار ایجاد نشد (جدول 2). با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که در دور آبیاری 5 روزه محتوای آب نسبی برگ در مقایسه با دو دور آبیاری 8 و 11 روزه بالاتر بود. اما تفاوت معنی‌دار در محتوای آب نسبی با دور آبیاری 11 روزه ایجاد شد و در هر دو رقم با دور آبیاری 8 روزه تفاوت‌ها در سطح 5 درصد آزمون دانکن معنی‌دار نشد (جدول 4).

مد نظر قرار گرفتند. هر تیمار آزمایشی در چهار تکرار اجرا شد. شروع تیمارهای آبیاری (5، 8 و 11 روزه) همزمان با خروج جوانه‌ها و تکمیل جوانه‌زنی صورت گرفت. درست قبل از هر آبیاری مقدار کاهش وزن جعبه‌های کشت اندازه‌گیری و به همان میزان آب تا رسیدن به ظرفیت مزرع‌های به هر جعبه کشت اضافه شد. جهت تأمین عناصر غذایی ریزمغذی که کود مایکوگرن فاقد آنها بود، کود میکرو کامل با نام تجاری فرتایل گرو¹ با نسبت وزنی 0/1 درصد وزنی به مخلوط خاکی اضافه و به صورت کامل با محیط کشت مخلوط گردید. در دو ماه اول کاشت و قبل از غده زایی طول روز با 16 ساعت تنظیم شد و دوره نوری بیشتر با روشن نمودن لامپ‌های سدیمی فشار بالا به صورت خودکار با زمان سنج مرکزی تأمین شد. در دو ماه آخر دوره رشد، طول روز معمولی 12 ساعته و کمتر برقرار شد. در روزهای ابری و بارانی با روشن کردن لامپ‌های سدیمی فشار بالا (با توزیع 2 عدد لامپ 250 وات) در هر 10 متر مربع از سطح گلخانه) و تأمین شدت نوری معادل 5000 لوکس به ازاء هر لامپ، کمبود نور در گلخانه جبران شد. پتانسیل اسمزی برگ در سه نوبت با شروع غده‌زایی، و دو نوبت پس از آن با فواصل دو هفته‌ای اندازه‌گیری شد. بدین منظور قسمتی از برگ همسن در تمام واحدهای آزمایشی، قبل از آبیاری جدا شده و به سرعت در میکروتیوب 1 میلی لیتری قرار داده و فوراً در نیتروژن مایع منجمد گردید. در زمان اندازه‌گیری، بعد از ذوب نمونه‌ها و تخریب یاخته‌ها در مدت کوتاه در دمای اتاق، عصاره یاخته‌های با سانتریفوژ در دمای 4 درجه سانتی‌گراد با دور 4200 دور در دقیقه و به مدت 10 دقیقه استخراج گردید. بی‌درنگ پتانسیل اسمزی عصاره به وسیله دستگاه اسمومتر² اندازه‌گیری شد (11). برای تعیین مقدار نسبی آب برگ (RWC)³ همانند پتانسیل اسمزی در سه نوبت در زمان‌های یاد شده، سه دیسک برگ به قطر 7 میلی‌متر توزین (وزن تر) و سپس به مدت 4 ساعت در آب مقطر با دمای حدود 5 درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور و در محل تاریک نگهداری گردید. بعد از خشک کردن سطحی به وسیله کاغذ خشک کن، نمونه‌ها دوباره توزین (وزن تورم کامل) و سپس وزن خشک آن‌ها در دمای 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت تعیین گردید و به وسیله معادله (1) محاسبه شد.

$$RWC = ((Fw - Dw) / (Tw - Dw)) \times 100 \quad (1)$$

Tw، Fw و Dw به ترتیب وزن تورم کامل، وزن تر و وزن خشک نمونه‌ها را نشان می‌دهند (19).

برای برآورد توان تنظیم اسمزی از مقادیر مقدار نسبی آب و پتانسیل اسمزی برگ اندازه‌گیری شده، استفاده شد. مقدار نسبی آب و پتانسیل اسمزی متغیر وابسته به هم بوده و معادله رگرسیونی بین آن

1 - Fertile gro

2 - Osmometer (Osmomat 010, Gonotec GmbH, Berlin, Germany)

3 - Relative Water Content

گزارشات مختلف (5 و 21) بیانگر آن است که در خاکی با پتانسیل آبی برابر، برگ گیاهان میکوریزی از مقدار نسبی آب بیشتری در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی برخوردار هستند. ارتباط بهتر ریشه و خاک باعث افزایش هدایت آبی خاک به سطح ریشه می‌شود و دلایلی وجود دارد که همزیستی گیاهان با قارچ های میکوریز می‌تواند هدایت آبی خاک به ریشه را تغییر دهد. در این آزمایش افزایش قابل توجه در میزان نسبی آب در دور آبیاری 5 و 8 روزه (تنش ملایم) با کاربرد کود بیولوژیک، می‌تواند با قابلیت بالای میکوریز موجود در کود در جهت کلونیزه شدن با گیاهچه‌های سیب زمینی مرتبط باشد. در مقابل کاهش محتوای آب نسبی در دور آبیاری 11 روزه (تنش شدید) بیانگر این موضوع مهم می‌باشد که هر چند میکوریز با کمک به هدایت هیدرولیکی قادر به افزایش قدرت جذب آب در شرایط کم آبی می‌باشد، اما این توانایی ممکن است نامحدود نبوده و در شرایطی از کم آبیاری که آستانه بحرانی تنش وجود دارد، می‌تواند کاهش پیدا کرده و یا به ظرفیت نهایی برسد. افزایش مقدار نسبی آب برگ در نتیجه تلقیح با میکوریز در گوجه‌فرنگی (33) در شرایط تنش و رژیم های مختلف آبی به اثبات رسیده است. همچنین روئیز لوزانو و آزکن (27) نشان دادند که در کاهوی تلقیح شده با میکوریز میزان آب نسبی برگ بیشتر از گیاهان شاهد بود.

پتانسیل اسمزی هم زمان با مقدار نسبی آب در سه نوبت اندازه گیری شد. روند تغییرات پتانسیل اسمزی در هر سه مرحله یکنواخت بود. با ادغام داده های سه مرحله، مشخص گردید که پتانسیل اسمزی برگ به طور معنی‌دار متأثر از دور آبیاری می‌باشد. برهمکنش دور آبیاری و نوع رقم تفاوت معنی‌دار نشان نداد. اثر دور آبیاری بر پتانسیل اسمزی برگ معنی‌دار شد (جدول 2). در هر دو رقم با افزایش دور آبیاری از 5 روز به 8 و 11 روز پتانسیل اسمزی افزایش پیدا کرد. در دو دور آبیاری 8 و 11 روزه تفاوت معنی‌دار با دور 5 روزه حاصل شد. اما این دو با همدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند (جدول 4). میکوریزی شدن منجر به کاهش پتانسیل اسمزی برگ در گیاهان تحت تنش خشکی می‌شود. پایین بودن پتانسیل اسمزی در گیاهچه‌های تیمار شده با کود زیستی حاوی میکوریز در تنش ملایم (8 روزه) موقعی که پتانسیل کل برگ ها در زمان تنش آبی بالاست، بیانگر این است که گیاهچه‌های میکوریزی شده در این شرایط قادر به عبور از تنش بوده و با کاستن از اثرات مخرب تنش، قادر به ادامه رشد و فعالیت فتوسنتزی فعال و موثر می‌باشند. کاهش پتانسیل اسمزی برگ در ورد (رز) تلقیح شده با *G. intraradices* و *G. deserticola* (8) گزارش شده است. استفاده از کود بیولوژیک و در نتیجه ایجاد تلقیح با میکوریز و باکتری محرک رشد در گیاهچه‌های سیب‌زمینی متناسب با دور آبیاری و شدت تنش آبی، تنظیم اسمزی را افزایش داد. این افزایش به صورت معنی‌دار در دور 8 و 11 روزه در مقایسه با دور 5 روزه قابل ملاحظه بود. طی آزمایشی (38) گزارش شد که در

جدول 1- ویژگی های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی کود بیولوژیکی مایکروگرین (M-Green).
Table 1- Chemical, physical and biological characters of mycogreen biofertilizer.

درصد رطوبت Moisture percentage	45-55
PH	5.5-6.6
درصد کربن Carbon percentage	30-40
C/N	25-35
نیترژن (درصد) N (%)	1-1.5
فسفر P ₂ O ₅ (ppm)	1200-1500
پتاسیم K ₂ O (ppm)	1200-1500
منیزیم MgO (ppm)	2000-3000
کلسیم Ca (ppm)	2000-7000
زادمایه میکوریز Mycorrhizal n.g. ⁻¹ (inoculum)	80-120
جمعیت باکتری محرک رشد growth promoting Rhizobacteria colony (cfu.g. ⁻¹)	2-3×10 ⁷

گیاهان تلقیح شده با میکوریز و باکتریهای محرک رشد غلظت کربوهیدراتهای محلول و غیر ساختاری و نیز یونهای پتاسیم و منیزیم بالا رفته و این عوامل به عنوان اسمولیتها می‌توانند نقش مهمی در تنظیم اسمزی بویژه در شرایط تنش در گیاهان داشته باشند. سانچز-بلانکو و همکاران (30) گزارش کردند که همزیستی گیاه رزماری با قارچ *G. deserticola* باعث کاهش پتانسیل اسمزی برگ شده و گیاهان میکوریزی از توانایی تنظیم اسمزی بالاتری نسبت به شاهد برخوردار شدند. در پژوهش اوگ و همکاران (7) همزیستی لوبیا با قارچ میکوریز در شرایط فسفر کم باعث افزایش توانایی تنظیم اسمزی شده است. هم‌چنین در ریحان تلقیح شده با قارچ میکوریز توانایی تنظیم اسمزی در مقایسه با شاهد به صورتی معنی‌دار افزایش پیدا کرده است (6). اثر رقم بر میزان پرولین در گیاهچه‌ها معنی‌دار نشد اما دور آبیاری بر میزان پرولین تاثیر معنی‌دار داشت (جدول 2). عموماً سطح پرولین آزاد در گیاهچه‌ها با دو دور آبیاری 8 و 11 روزه در مقایسه با دور آبیاری 5 روزه بالاتر بود، این افزایش در رقم آگریا معنی‌دار شد اما در رقم مارفونا دو تیمار 5 و 8 روزه تفاوت معنی‌دار نشان ندادند (جدول 4). به نظر می‌رسد تغییرات سطوح پرولین در گیاه تابع پتانسیل اسمزی آب و محلول خاک باشد. در دور آبیاری 5 روزه که هیچ نوع تنش به گیاه وارد نمی‌شود، سیگنال‌های کمتری در جهت القاء سنتز پرولین در گیاه دریافت می‌شود. بنابراین سطح پرولین کاهش می‌یابد. متناسب با افزایش شدت تنش، سیگنال‌های بیشتری از ریشه به اندام هوایی منتقل شده و این فرآیند منجر به افزایش میزان پرولین شده و در نتیجه گیاهان با تنظیم اسمزی و استفاده از پرولین به عنوان یک اسمولیت خود را در جهت انطباق با تنش و کاهش اثرات مخرب آن همراه و سازگار می‌نمایند. به نظر می‌رسد وجود قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های محرک رشد در ایجاد این سازگاری در شرایط تنش نقش تعیین کننده‌ای دارد. گزارشات ضد و نقیضی در ارتباط با اثرات میکوریز بویژه در شرایط تنش در مقدار پرولین آزاد گیاهان ارائه شده است. روئیز لوزانو و آزن (27) نشان دادند که در تنش ملایم، کاهوی میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی از میزان پرولین کمتری برخوردار بود. در حالی که براساس یافته‌های خلف اله و ابوگالیا (19) در تنش کوتاه مدت کمبود آب، گندم میکوریزی دارای پروتئین آزاد و پرولین بیشتری نسبت به شاهد بدون میکوریز بود. بلند نظر و همکاران (1) نتیجه گرفتند که در پیاز در شرایط عدم تنش و تنش ملایم (دور آبیاری 7 و 9 روزه) در گیاهان شاهد مقدار پرولین بیشتر از گیاهان میکوریزی بود اما با افزایش شدت تنش و در دور آبیاری 11 روزه مقدار پرولین افزایش پیدا کرد و میزان آن در گیاهان میکوریز بسته به گونه میکوریز متفاوت بود. افزایش و کاهش تجمع پرولین در گیاهان میکوریزی به مقاومت بالای این گیاهان به تنش کمبود آب نسبت داده می‌شود. بدین ترتیب که در تنش ملایم کمبود

آب، به طور معمول در گیاهان میکوریزی مقدار پرولین با شیب و شدت کمتری افزایش می‌یابد و بیانگر برطرف شدن تنش کمبود آب می‌باشد. در تنش‌های شدید آب، گیاهان میکوریزی با تجمع پرولین بیشتر، از توانایی تنظیم اسمزی بالاتری برخوردار شده و در برابر تنش کمبود آب نسبت به شاهد مقاوم‌تر می‌شوند (اوگ، 2001 و رویز-لوزانو، 2003). دو رقم مورد مطالعه از نظر شدت کلونیزاسیون تفاوت معنی‌دار نداشتند. در مقابل دور آبیاری بر میزان کلونیزاسیون ریشه تاثیر معنی‌دار در سطح 5 درصد گذاشت (جدول 3). شدت کلونیزاسیون ریشه در دور آبیاری 8 روزه در هر دو رقم بالاتر از دو تیمار 5 و 11 روزه بود. هرچند تفاوت معنی‌داری با دور آبیاری 5 روزه (بدون تنش) نشان نداد (جدول 5). با این نتایج مشخص می‌شود که در حالت کلی کود بیولوژیک مایکوگربین با ترکیب جمعیت فعال قارچ ذکر شده، قابلیت بالایی در جهت کلونیزاسیون با گیاهچه‌های سبب-زمینی دارد، اگرچه در تیمار با تنش آبی زیاد (دور 11 روزه) ممکن است این قابلیت به صورت نسبی کاهش بیابد. پژوهش پرویزی و همکاران (2) نشان داد که در تلقیح ایزوله‌های خالص شده از دو گونه قارچ میکوریز (*G. etunicatum* و *G. mosseae*) با گیاهچه‌های سبب‌زمینی به ترتیب درصد کلونیزاسیون 36/63 و 55/25 درصد حاصل شد. که در پژوهش اخیر در مقایسه با آن وضعیتی به مراتب بهتر در میزان استقرار و شدت کلونیزاسیون ایجاد شد. نوع رقم و دور آبیاری در تولید ریزغده در هر چهار اندازه ریزغده معنی‌دار شد اما در میزان کل ریزغده تولیدی نوع رقم تفاوت معنی‌دار نداشت. اثر متقابل رقم و دور آبیاری در تمامی اندازه‌های ریزغده معنی‌دار شد اما در میزان کل ریزغده تولیدی این برهمکنش معنی‌دار نشد (جدول 3). در میزان تولید ریزغده در اندازه بزرگتر از 5 گرم و 3 تا 5 گرم، در هر دو رقم در دو دور آبیاری 5 و 8 روزه بیشترین ریزغده حاصل شد. هر چند در مجموع رقم آگریا با تولید ریزغده بیشتر در هر دو اندازه وضعیتی مطلوب‌تر از رقم مارفونا داشت. ریزغده‌های تولید شده با اندازه متوسط، مناسب‌ترین نوع ریزغده جهت کشت در مزرعه می‌باشند. معمولاً میزان تلفات آنها بسیار پایین بوده و از سرعت رشد بالاتری برخوردار هستند. با بررسی صورت گرفته توسط پرویزی و همکاران (2) هم ثابت شده است که رقم آگریا در مجموع نسبت به مارفونا ضریب تکثیر پایین‌تری دارد. افزایش معنی‌دار تعداد ریزغده بویژه در اندازه متوسط در رقم آگریا نسبت به مارفونا در این پژوهش می‌تواند با تأثیر مستقیم و غیر مستقیم کود زیستی در سرعت آسیمیلایسیون و افزایش راندمان فتوسنتز مرتبط باشد. و به نظر می‌رسد رقم آگریا در پاسخ به کود زیستی واکنش بهتری در مقایسه با رقم مارفونا نشان داده است. در تولید ریزغده متوسط و ریز (1 تا 3 گرم و کوچک‌تر از 1 گرم)، در هر دو رقم تفاوت معنی‌داری با سه دور آبیاری ایجاد نشد. اما در رقم مارفونا و در این دو اندازه، ریزغده بیشتری نسبت به رقم آگریا در هر سه دور آبیاری تولید شد (جدول

ممکن است به حد نهایی ظرفیت همیاری خود برسند. با پژوهش میجاهد و همکاران (22) ثابت شد که با کاربرد کودهای بیولوژیکی حاوی باکتری‌های محرک رشد *Azotobacter*, *Azospirillum* و *Bacillus megaterium* در کرفس افزایش قابل توجهی در عملکرد و اسانس گیاه ایجاد شده است. در گیاه *Vallisneria spiralis* کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی مخلوط باکتریهای *Bacillus sp.* و *pseudomonas sp.* در ترکیب با کود آلی کمپوست افزایش وزن خشک گیاه نسبت به تیمارهایی شد که تنها از کود آلی استفاده شده بود. ضمن این که جمعیت باکتری‌های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن در محیط ریشه گیاه در این تیمار افزایش یافت (40). وضعیت تغییرات درصد ماده خشک ریز غده در هر سه تیمار آبیاری با کاربرد کود بیولوژیک تفاوت معنی‌دار نشان نداد. در مجموع ماده خشک ریز غده‌ها در هر سه تیمار آبیاری در رقم آگریا بالاتر از رقم مارفونا بود و تفاوتها در سطح 5 درصد آزمون دانکن معنی‌دار شد (شکل 2). اثرات مثبت کودهای بیولوژیک در افزایش ماده خشک و زیست توده گیاهی با پژوهشهای دیگر به اثبات رسیده است (3 و 26).

5). در مجموع در تعداد کل ریز غده تولیدی، در هر دو رقم با دو دور آبیاری 5 و 8 روزه بیشترین تعداد ریز غده در گیاهچه تولید شد و از نظر آماری در سطح 5 درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار با هم نداشتند. اما تفاوتها در هر دو رقم با دور آبیاری 11 روزه معنی‌دار شد (شکل 1). به نظر می‌رسد در شرایط بدون تنش و تنش ملایم، رابطه همزیستی قارچ و وجود باکتری‌های محرک رشد با افزایش سرعت جذب آب و مواد غذایی، سنتز هورمون‌های گیاهی و افزایش ضریب جذب و بکارگیری مواد فتوسنتزی ضمیمه رشد مضاعف را فراهم کرده و گیاهچه‌ها را نه تنها به غلبه بر تنش کمک نموده‌اند، بلکه گیاهچه‌ها را با ذخیره‌سازی بهتر در جهت تشکیل ریز غده‌های بیشتر کمک کرده و در نتیجه راندمان تولید ریز غده را افزایش داده‌اند. با اعمال تنش شدیدتر در گیاهچه‌ها (دور آبیاری 11 روزه)، تولید ریز غده و عملکرد نهایی کاهش پیدا کرد. با این وصف می‌توان نتیجه گرفت که هرچند وجود میکوریز و باکتری محرک رشد در افزایش جذب آب و مواد غذایی موثر و کارآمد بوده و سرعت رشد قابل قبول را ایجاد کرده است، اما به نظر می‌رسد اثرات مثبت آن‌ها بیشتر تابع شدت تنش بوده و در تنش بحرانی که در آستانه خسارت به گیاه قرار دارد،

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس اثرات کاربرد کود بیولوژیک مایکروگرین بر روابط آبی گیاهچه‌های سیب‌زمینی در دوره‌های مختلف آبیاری.
Table 2- Variance analysis of the effect of biofertilizer Myco-green on water relation of potato plantlets in different interval irrigation

S.O.V منابع تغییرات	DF درجه آزادی	میانگین مربعات Mean of Squares					تنظیم اسمزی 1/b Osmotic adjustment
		محتوای آب نسبی برگ RWC ₁	محتوای آب نسبی برگ RWC ₂	محتوای آب نسبی برگ RWC ₃	پتانسیل اسمزی OP _m ³	پرولین Proline	
رقم Cultivar	1	4.50 *	3.38 *	16.66 **	0.0018 ^{ns}	0.41 ^{ns}	0.05 ^{ns}
دور آبیاری Irrigation interval	2	7.94 **	8.66 **	6.73 **	0.051 *	0.58 *	0.39 *
رقم×دور آبیاری Cultivar×Irrigation interval	2	0.002 ^{ns}	0.031 ^{ns}	0.39 ^{ns}	0.030 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.04 ^{ns}
خطا Error	10	15.23	9.53	18.19	0.0018	0.48	1.62
کل Total	17						
ضریب تغییرات C.V		3.90	3.52	4.73	6.63	10.03	6.32

1، 2 و 3 به ترتیب محتوای آب نسبی برگ در شروع غده‌زایی، دو و چهار هفته پس از آن
1, 2 and 3 are relative water content of leaf in tuberization stage, 2 and 4 weeks after tuberization respectively.
**، * به ترتیب بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 1 و 5 درصد و ns بدون اختلاف معنی‌دار
**and* show being significant ($\alpha=0.01$ and 0.01 , respectively). ns means no significant.

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس اثرات کاربرد کود بیولوژیک مایکوگترین بر کلونیزاسیون ریشه و تولید ریز غده از گیاهچه‌های سیب‌زمینی در دوره‌های مختلف آبیاری.

Table 2- variance analysis of the effect of biofertilizer Myco-green on root colonization and minituber production of potato plantlets in different interval irrigation.

S.O.V منابع تغییرات	درجه آزادی DF	کلونیزاسیون ریشه Root colonization	میانگین مربعات Mean of Squares				تعداد کل ریز غده Total Minituber No	ماده خشک ریز غده Minituber dry matter
			تعداد ریز غده کوچکتر از 1 گرم Minituber No ≤ 1 gr	تعداد ریز غده 1 تا 3 گرم Minituber No (1 ≥ 3 ≤)	تعداد ریز غده 3 تا 5 گرم Minituber No (3 ≥ 5 ≤)	تعداد ریز غده بزرگتر از 5 گرم Minituber No ≥ 5 gr		
رقم Cultivar	1	1.34 *	3.62 **	7.25 **	3.83 **	5.88 **	0.48 ns	3.29 ns
دور آبیاری Irrigation interval	2	24.00 **	0.76 *	2.69 **	0.54 *	2.19 **	13.22 *	1.21 ns
رقم×دور آبیاری Cultivar×Irrigation interval	2	0.08 ns	0.88 *	1.06 *	0.96 **	1.506 *	0.012 ns	0.01 ns
خطا Error	10	1.26	0.218	0.241	0.071	0.505	2.92	1.299
کل Total	17							
ضریب تغییرات C.V		5.29	12.78	13.49	10.89	23.26	14.99	5.92

1، 2 و 3 به ترتیب محتوای آب نسبی برگ در شروع غده‌زایی، دو و چهار هفته پس از آن
1, 2 and 3 are relative water content of leaf in tuberization stage, 2 and 4 weeks after tuberization respectively.

*, ** به ترتیب بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 1 و 5 درصد و ns بدون اختلاف معنی‌دار
**and* show being significant ($\alpha=0.01$ and 0.05 , respectively). ns means no significant.

جدول 4- اثر دور آبیاری بر ویژگی‌های مربوط به روابط آبی در گیاهچه‌های سیب‌زمینی.

Table 2- The effect of interval irrigation on water relation of potato plantlets.

رقم Cultivar	دور آبیاری (روز) Interval Irrigation (day)	محتوای آب نسبی برگ در مرحله 1 RWC ₁ (%)	محتوای آب نسبی برگ در مرحله 2 RWC ₂ (%)	محتوای آب نسبی برگ در مرحله 3 RWC ₃ (%)	پتانسیل اسمزی OP _m ³ (MPa)	پرولین Proline (μg g ⁻¹)	تنظیم اسمزی 1/b Osmotic adjustment
آگریا Agria	5	89.35 a [†]	89.25 ab	90.15 ab	- 0.86 b	5.568 c	0.360 c
	8	85.35 b	86.45 b	88.25 b	- 0.93 a	6.793 b	2.421 ab
	11	82.19 c	83.29 c	83.90 c	- 0.94 a	7.321 a	3.105 a
مارفونا Marfona	5	91.35 a	90.65 a	94.85 a	- 0.87 b	6.422 b	0.541 c
	8	87.45 ab	89.15 ab	93.25 a	- 0.91 a	7.310 a	2.855 a
	11	85.29 b	87.19 b	89.09 b	- 0.92 a	8.310 a	3.301 a

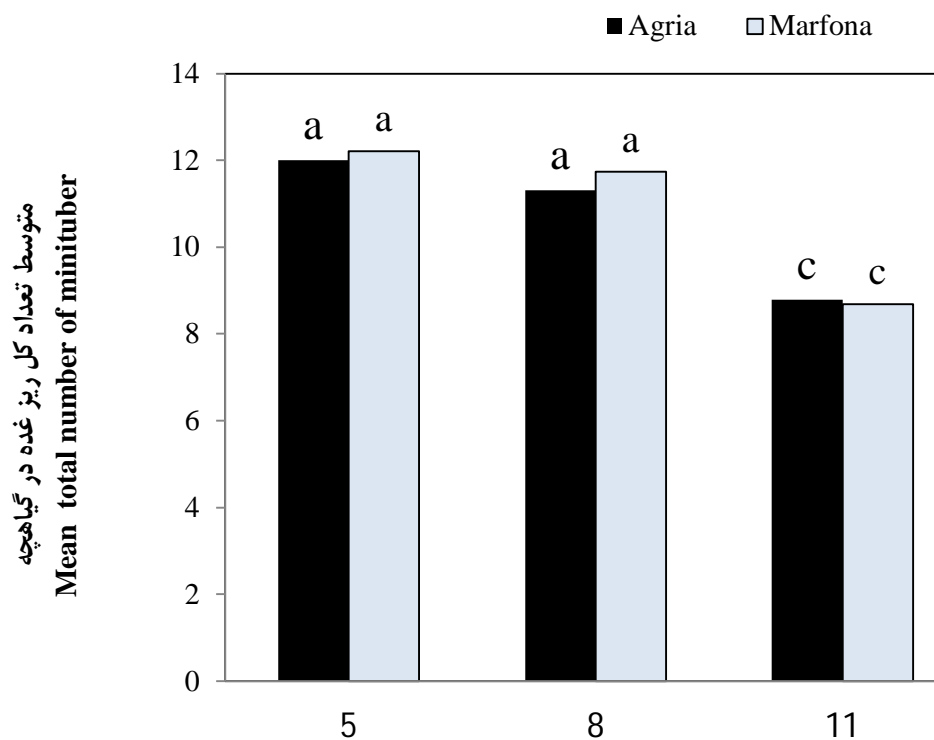
1، 2 و 3 به ترتیب محتوای نسبی آب برگ در مرحله غده‌زایی، 2 و 4 هفته بعد از غده‌زایی 3- پتانسیل اسمزی برگ (میانگین سه مرحله).
1, 2 and 3 are relative water content of leaf in tuberization stage, 2 and 4 weeks after tuberization respectively, 3- osmotic potential of leaf (three phases means)

† اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند.
Numbers followed by the same letter in every column are not significantly different (P<0.05)

جدول ۵- مقایسه میانگین های مربوط به اثرات متقابل رقم و سطوح آبیاری بر درصد کلونیزاسیون ریشه و تولید ریز غده در اندازه‌های مختلف.
 Table 3- Mean comparisons of interaction between cultivar and irrigation levels on root colonization percentage, minituber production and dry weight of minituber in potato plantlets.

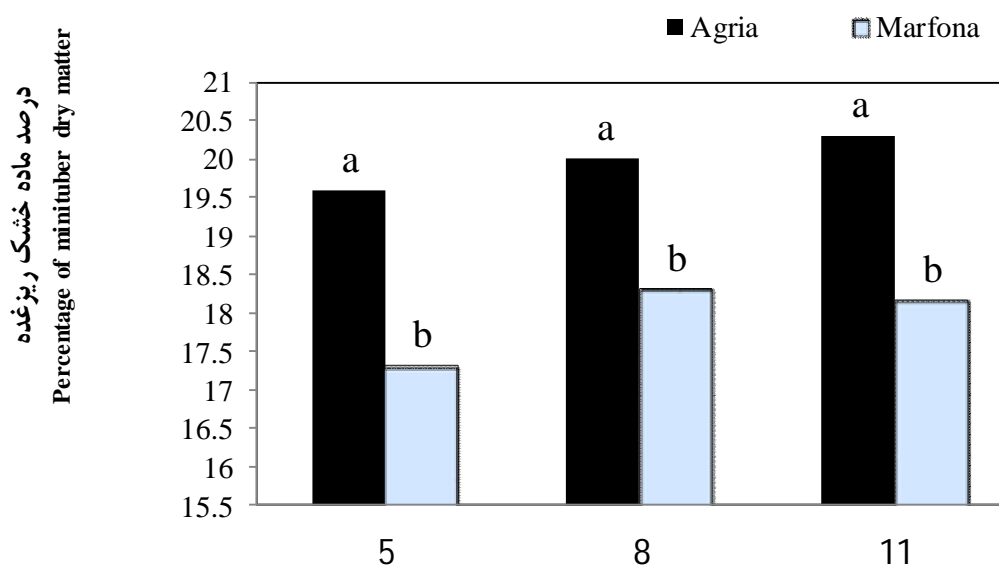
ترکیبهای مختلف رقم با سطوح آبیاری Different combination of cultivar with irrigation levels	کلونیزاسیون ریشه Root colonization (درصد) (%)		تعداد ریز غده بزرگتر از ۵ گرم Minituber No ≥ 5 gr		تعداد ریز غده ۳ تا ۵ گرم Minituber No (3 ≥ 5 \leq)		تعداد ریز غده ۱ تا ۳ گرم Minituber No (1 ≥ 3 \leq)		تعداد ریز غده کوچکتر از ۱ گرم Minituber No ≤ 1 gr	
	آگریا × دور آبیاری ۵ روزه Agria × 5 days interval irrigation	78.86	b	2.82	a	3.15	a	3.03	b	3.07
آگریا × دور آبیاری ۸ روزه Agria × 8 days interval irrigation	81.33	a	2.61	a	2.95	a	2.70	b	3.05	b
آگریا × دور آبیاری ۱۱ روزه Agria × 11 days interval irrigation	75.30	b	1.02	b	2.65	ab	2.25	b	2.87	b
مارفونا × دور آبیاری ۵ روزه Marfona × 5 days interval irrigation	79.25	ab	1.42	b	2.12	b	4.40	a	4.27	a
مارفونا × دور آبیاری ۸ روزه Marfona × 8 days interval irrigation	84.00	a	0.95	c	2.19	b	4.23	a	4.37	a
مارفونا × دور آبیاری ۱۱ روزه Marfona × 11 days interval irrigation	73.88	b	0.58	c	1.67	c	3.27	ab	3.17	b

اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) می‌باشند.
 Numbers followed by different letters in every column are significantly differentns ($P < 0.05$)



شکل 1- مقایسه میانگین تعداد کل ریزغده تولیدی در دو رقم سیبزمینی و در دوره‌های مختلف آبیاری

Figure 1- Comparison of mean total number of minituber production in two potato cultivar in different interval irrigation.



شکل 2- مقایسه میانگین درصد ماده خشک ریزغده در دو رقم سیبزمینی و در دوره‌های مختلف آبیاری

Figure 2- Comparison of mean dry matter percentage of minituber in two potato cultivar in different interval irrigation.

در این راستا می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کود زیستی مایکوگترین که حاوی میکوریز و باکتری محرک رشد می‌باشد از طریق افزایش امکان جذب و تجمع املاح معدنی بیشتر و افزایش توانایی تنظیم اسمزی قادر به جذب آب و تعدیل اثرهای تنش کمبود آب از خاک در حال خشک شدن می‌باشد و این قابلیت بسته به شدت تنش متفاوت می‌باشد. در شرایط عدم تنش و هم چنین در تنش ملایم می‌توان از اثرات مثبت این کود بیولوژیک در افزایش قدرت رشد و عملکرد نهایی تولید ریزغده از گیاهچه‌های سبب‌زمینی به یک نسبت بهره برد. اما در تنش‌های شدید از اثرات مثبت آن کاسته می‌شود.

البته در این آزمایشات اثرات کاربرد کود بیولوژیک بر ماده خشک و زیست توده گیاهی در مقایسه با شاهد که کودی مورد استفاده قرار نگرفته است، مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین با شرایط انجام آزمایش حاضر که در همه تیمارها کود بیولوژیک به کار گرفته شده است، مطابقت ندارد. اما دست‌آورد مهم‌تر پژوهش حاضر در این است که تغییرات ماده خشک ریزغده در سطوح مختلف آبیاری، حتی زمانی که تنش جدی و موثر به گیاهچه‌ها وارد شده است نیز وضعیتی مشابه با تیمارهای بدون تنش (دور آبیاری 5 روزه) داشته است. ثابت شده است که میکوریز و باکتری‌های محرک رشد با افزایش جذب عناصر غذایی مهم از جمله فسفر، آهن، روی و منگنز و نیز با کمک به هدایت هیدرولیکی آب و کاهش شدت تعرق، سرعت آسمیلاسیون و فتوسنتز موثر را بالا برده و نقش مهمی در تعدیل اثرات تنش آبی در گیاهان دارند (4، 5، 37 و 38). لذا اثرات کود بیولوژیک در افزایش ماده خشک غده حتی با اعمال تنش شدید و در دور آبیاری 11 روزه

منابع

- 1- Boland nazar S., Naishaboori M., Asgharzadeh N., and Chaparzadeh N. 2009. The effects of Arbuscular mycorrhizal fungi on water relation of Onion. Journal of Horticultural Science and Technology: 10 (4): 293-300 (in Persian with English abstract)
- 2- Parvizi K. 2013. Symbiotic effect of Arbuscular mycorrhiza on growth regulators levels, growth properties and yield of potato plantlets under *in vitro* and *ex vitro* condition Ph.D thesis of horticulture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (in Persian with English abstract).
- 3- Abdul-Jaleel C., Manivannan P., Sankar B., Kishorekumar A., Gopi R., Somasundaram R., and Panneerselvam R. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 60: 7-11.
- 4- Allen M.F., Smith W.K., Moore, T.S. and Christensen M. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. New Phytologist, 88: 683-693.
- 5- Auge R.M. 2000. Stomatal behaviour of arbuscular mycorrhizal plants. In Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. Edited by Y. Kapulnik and Douds J.D.D. Kluwer Academic Publishers, Netherlands PP.360.
- 6- Auge R.M. 2001. Water relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza, 11:3-42.
- 7- Auge R.M. 2004. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. Canadian Journal Soil Science, 84:373-381.
- 8- Auge R.M., Schekel K.A., and Wample R.L. 1986. Greater leaf conductance of VA mycorrhizal rose plants is not related to phosphorus nutrition. New Phytologist, 103:107-116.
- 9- Bajaj Y.P.S., and Sopory S.K. 1988. Biotechnology of potato improvement, In Bajaj, Y.P.S. (eds). Biotechnology in Agriculture and Forestry 2. Springer-Verlag, Germany. P.429-454.
- 10- Bierman B., and Linderman R.G. 1980. Quantifying vesicular – arbuscular mycorrhizae: a proposed method toward standardization, New Phytology. 87: 63 – 67. Busse, M.D. and Ellis, J.R. 1984. Vesicular-arbuscular mycorrhizal (*Glomus fasciculatus*) influence on soybean drought in high phosphorus soil. Canadian Journal of Botany, 63: 2290-2294.
- 11- Chapharzadeh, N., Khavari-Nejad R.A., Navari-Izzo F., and Izzo R. 2003. Water relation and ionic balance in *Calendola officinalis* L. under salinity conditions. Agrochimica, 117:69-79.
- 12- Davies J., Calderón F. T., and Huainan Z. 2005. Influence of arbuscular on growth, Yield, and leaf elemental concentration of 'Yungay' potatoes. Hort Science, 40: 381-385.
- 13- Duffy E.M., Hurley E., and Casseles A.C. 1999. Weaning performance of potato microplants following bacterization and micorrhization. Potato Research, 42: 521-527.
- 14- Ebhin Masto R., Chhonkar P.K., Singh D., and Patra A.K. 2006. Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisil. Soil Biology and Biochemistry, 38: 1577-1582.

- 15- Fortin J.A., Becard G., Dalpe S., and St- Arnaud M.Y. 2002. Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures Canadian Journal Botany, 80: 1-20.
- 16- Goicoechea N., Antolín M.C., and Sánchez-Díaz M. 1997. Influence of arbuscular mycorrhizae and Rhizobium on nutrient content and water relations in drought stressed alfalfa. Plant and Soil, 192: 261- 268.
- 17- Irrigoyen J.J., Einerich D.W., and Sanchez-Diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiology Plantarum, 84:55-60.
- 18- Jensen C.R., Mogensen V.O., Mortensen C., Fieldsend J.K., Mildford G.F.J., Andersen M.N., and Thage J.H. 1996. Seed glucosinolate, oil and protein contents of fieldgrown rape (*Brassica napus* L.) affected by soil drying and evaporative demand. Field Crop Research, 47:93-105.
- 19- Khalafallah A.A., and Abo-Ghalia H.H. 2008. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the metabolic products and activity of antioxidant system in wheat plants subjected to short-term water stress, followed by recovery at different growth stages. Journal Applied Science Research, 4:559-569.
- 20- Kumar A., and Singh D.P. 1998. Use of physiological indices as a technique for drought tolerance in oilseed Brassica species. Annual Botany, 81:413-420.
- 21- Mandal A., Patra A.K., Singh D., Swarup A., and Ebhin Masto R. 2007. Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. BioresourceTechnology, 98: 3585–3592.
- 22- Migahed H.A., Ahmed A.E., and Abd El-Ghany B.F. 2004. Effect of different bacterial strains as biofertilizer agents on growth, production and oil of *Apium graveolense* under Calcareous soil. Journal of Agricultural Sciences, 12: 511-525.
- 23- Niemira B.A., Safir G.R and Bird G.W. 1995. Production of pre-nuclear mini-tubers of potato with peat based arbuscular mycorrhiza fungal inoculums. Agronomy Journal, 87: 942-946.
- 24- Phillips J.M and Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Mycology Society Journal, 55: 159-161.
- 25- Pozo M.J., Cordier C., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S., Barea J.M., and Azcon-Aguilar C. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on de-fence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. Journal of Experimental Botany, 53: 525-534.
- 26- 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.
- 27- Ruiz-Lozano J.M., and Azcon R. 1997. Effect of calcium application on the tolerance of mycorrhizal lettuce plants to polyethylene glycol-induced water stress. Symbiosis, 23:9-21.
- 28- Ruiz-Lozano J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza, 13:309-317.
- 29- Ryan N.A., Deliopoulos T., Jones P., and Haydock P.P. 2003. Effects of mixed-isolate mycorrhizal inoculums on the potato- potato cyst nematode interaction. Annual Applied Biology. 143: 111-119.
- 30- Sanchez-Blanco M.J., Fernandez T., Morales M.A., Morte A., and Alarcon J.J. 2001. Variation in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glumus deserticola* under drought conditions. Journal Plant Physiology. 161:675-682.
- 31- Siddiqui Z.A. 1998. Effect of a plant growth promoting bacterium on AM fungus and soil types morphogenesis. Applied Soil Ecology. 8: 77-88.
- 32- Smith S.E and Read D.J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. 3rd edit. London Academic Press, 787p.
- 33- Subramanian K.S., Santhanakrishnan P., and Balasubramania P. 2006. Response of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. Scientia Horticulture, 107:245-253.
- 34- Tilak K.V.B.R., Ranganayaki N., Pal K.K., De R., Saxena A.K., Shekhar C., Shilpi M., Tripathi A.K., and Johri B.N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science, 89: 136-150.
- 35- Tobar R., Azcón R., and Barea J.M. 1994. Improved nitrogen uptake and transport from ¹⁵N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water-stressed conditions. New Phytologist, 126: 119-122.
- 36- Toro M., Azcon R., and Barea J. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability ((sup32)P) and nutrient cycling. Applied Environmental Microbiology, 63: 4408-4412.
- 37- Vázquez M.M., César S., Azcón R., and Barea J.M. 2000. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (Azospirillum, Pseudomonas, Trichoderma) and their effect on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. Applied Soil Ecology, 15: 261-272.
- 38- Vessey J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil. 255: 571-586.

- 39- Vosatka M., and Gryndler M .1999. Treatment with culture fractions from *pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus Fistulosum* mycorrhiza and response of potato to inoculation. *Applied Soil Ecology*, 11: 245-251.
- 40- Young C.C., Lai W.A., Shen F.T., Huang W.S., and Arun A.B. 2004. Characterization of multifunctional biofertilizer from Taiwan and biosafety considerations. *International Symposium on Future Development of Agricultural Biotechnology Park*, pp. 373-388.