



پاسخ نهال بنه به تلقیح با میکروارگانیزم‌ها در دو سطح رطوبتی در گلخانه

نگین آرمنده^۱، انوشیروان شیروانی^{۲*}، محمد متینی‌زاده^۳ و مریم تیموری^۴

^۱ دانشجوی دکتری دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

^۲ دانشیار دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

^۳ دانشیار مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

^۴ استادیار مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱)

چکیده

بنه (*Pistacia atlantica* var. *mutica* Rech. f.) یکی از گونه‌های درختی مهم در جنگل‌های ایران محسوب می‌شود که در سال‌های اخیر با چالش‌های زیادی برای احیای طبیعی خود مواجه شده است. در این پژوهش اثر متقابل قارچ *Funneliformis mosseae*، کود زیستی مایکوروت و باکتری *Pseudomonas fluorescens* روی نهال بنه در دو تیمار رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار بدون تنش و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار تنش خشکی بررسی شد. براساس نتایج، کاهش رطوبت خاک موجب کاهش رشد (قطر، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه) نهال بنه شد. برهمکنش قارچ‌های میکوریزی و باکتری حل‌کننده فسفات روی رشد نهال و همچنین محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و پرولین برگ در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. بیشترین ارتفاع ساقه به تیمار ترکیبی *Funneliformis mosseae* و *Pseudomonas fluorescens* (۲۴/۵۴ سانتی‌متر) در تیمار بدون تنش و کمترین ارتفاع به تیمار شاهد (۸/۸ سانتی‌متر) در شرایط تنش خشکی تعلق داشت. محتوای پرولین در نهال‌های تلقیح‌شده با قارچ *Funneliformis mosseae* در حضور باکتری بیشتر از تیمارهای دیگر بود (۸/۸۷ میکرومول بر گرم) و این تیمار در کاهش علائم تنش خشکی نسبت به تیمارهای دیگر مؤثرتر واقع شد. در شرایط بدون تنش، حضور باکتری *Pseudomonas fluorescens* به‌تنهایی موجب بهبود رشد نهال‌ها نشد؛ اما در تعامل با قارچ میکوریزی و همچنین در زمان کاهش رطوبت خاک اثرهای مثبت آن بر رشد نمایان شد. در این پژوهش مشاهده شد که نهال‌های میکوریزی و باکتریایی نسبت به نهال‌های شاهد از رشد بهتری برخوردار بودند و میکروارگانیزم‌ها اثری مشابه آبیاری بر برخی مشخصه‌های رویشی داشتند، اما به‌منظور تأیید نتایج حاضر، آزمایش‌های تکمیلی مشابه در نهالستان و رویشگاه طبیعی روی نهال بنه با اعمال سطوح آبیاری مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل‌کننده فسفات، تنش خشکی، قارچ میکوریز آربسکولار، نهال بنه.

مقدمه

اختلالات فیزیولوژیکی و حساسیت به بیماری‌ها قرار می‌گیرد (Nadeem et al., 2014) که به کاهش پتانسیل آب خاک، محتوای آب نسبی برگ، مهار گسترش و تقسیم سلولی، محدود شدن جوانه‌زنی و رشد نهال، کاهش سطح و تعداد برگ، محدود شدن تعداد روزنه‌ها، افزایش طول ریشه، اختلال در جذب آب و مواد مغذی و

تنش خشکی یا کمبود آب یکی از موانع محیطی مهم در اکوسیستم‌های طبیعی است که بر رشد گیاه و تولید زیست‌توده تأثیر منفی می‌گذارد (Wu & Zou, 2017). در شرایط تنش، رشد گیاه تحت تأثیر عواملی مانند عدم تعادل هورمونی و تغذیه‌ای، سمیت یونی،

اثر مثبت باکتری *Bacillus thuringiensis* و قارچ میکوریز آرسکولار را بر رشد و محتوای مواد مغذی گیاه ذرت (*Zea mays*) در شرایط تنش رطوبتی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در مقایسه با تیمار بدون تنش در گلخانه گزارش کردند. یافته‌های (Visen et al., 2017) نشان داد که تلقیح همزمان با قارچ *Glomus intraradices* و باکتری‌های *Pseudomonas jesseni* و *P. synxantha* در گونه (*Litchi chinensis* S.) به افزایش کلنیزاسیون ریشه، رشد گیاه و غلظت فسفر برگ منجر شد. (Behrooz et al., 2019) در پژوهشی اثر متقابل قارچ‌های *Glomus mosseae*، *Glomus etunicatum* و ترکیب باکتری‌های *Azospirillum lipofrum* و *Azotobacter chroococcum* را در نهال گردو (*Juglans regia* L.) در دو شرایط آبیاری طبیعی و تنش خشکی در گلخانه بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که کاربرد قارچ‌های میکوریز آرسکولار به‌ویژه *G. etunicatum* و PGPR می‌تواند رشد و جذب عناصر غذایی را در نهال گردو تحت تنش خشکی افزایش دهد. همچنین تلقیح AMF و PGPR سطح پرولین را به‌طور چشمگیری افزایش داد که به افزایش جذب آب تحت تنش خشکی منجر می‌شود در پژوهشی (Aalibpour et al., 2020) به بررسی اثر قارچ‌های *Funneliformis Rhizophagus irregularis* و باکتری *P. fluorescens* بر گونه سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica* G.) تحت آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) پرداختند. نتایج نشان داد که تلقیح گیاه سرو نقره‌ای با قارچ میکوریزی به‌همراه استفاده از باکتری *P. fluorescens* می‌تواند اثر مثبتی بر بقای این گیاه در شرایط تنش آبی داشته باشد.

بنه یا پسته وحشی (*Pistacia atlantica* var. *mutica* Rech. f.) یکی از گونه‌های درختی مهم در ایران به شمار می‌رود که به خانواده *Anacardiaceae* تعلق دارد. بهره‌برداری غیراصولی و بی‌رویه از این گونه موجب زوال آن در رویشگاه‌های جنگلی شده است،

کاهش زیست‌توده تر و خشک در گیاه می‌انجامد (Kaushai & Wani, 2016). تأثیر منفی ناشی از تنش بر رشد گیاه را می‌توان با استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید مانند باکتری‌ها و قارچ‌ها، به‌صورت جداگانه و یا ترکیبی کاهش داد یا به کمترین حد رساند. میکروارگانیسم‌های مفید خاک‌زی مانند قارچ‌های میکوریز آرسکولار (AMF^1) و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه ($PGPR^2$) برای کاهش اثرهای نامطلوب تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی بر گیاهان با موفقیت استفاده شده‌اند (Nadeem et al., 2014). ارتباط همزیستی ایجادشده توسط قارچ‌های میکوریزی با ریشه‌های گیاه موجب افزایش سطح جذب ریشه می‌شوند و سبب می‌شوند که گیاه آب و مواد مغذی را از حجم خاک بیشتری جذب کند. در واقع، بارزترین اثر AMF از طریق شبکه میسلیوم خارجی آن است که عمیق‌تر و گسترده‌تر در خاک نفوذ می‌کنند و موجب فراهم شدن آب و مواد مغذی برای گیاه میزبان می‌شوند. افزون‌بر این، هیفاها به‌دلیل قطر کم خود می‌توانند به داخل منافذ خاکی که برای ریشه یا حتی ریشه‌های مویین دور از دسترس‌اند گسترش یابند (Berruti et al., 2016). افزون‌بر قارچ‌های میکوریزی، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه نیز می‌توانند اثر مهمی در سلامت گیاه میزبان و کاهش اثرهای منفی تنش خشکی داشته باشند (Deveau et al., 2007; Minaxi et al., 2013) و در شرایط تنش موجب افزایش بهره‌وری گیاه شوند (Rahimzadeh & Pirzad, 2017; Monfared et al., 2021). PGPR با تولید تنظیم‌کننده‌های رشد یا بهبود تغذیه گیاه با تأمین و تسهیل جذب مواد مغذی از خاک، تغییرات چشمگیری در رشد گیاه در هر دو شرایط طبیعی و تنش ایجاد می‌کنند (Begum et al., 2021; Nadeem et al., 2014).

در پژوهش‌های مختلف اثر هم‌افزایی قارچ‌های میکوریز آرسکولار و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه بررسی شده است. در تحقیقی (Armada et al., 2015)

1. arbuscular mycorrhizal fungi
2. plant growth promoting rhizobacteria

تسریع در جوانه‌زنی، بذرها به مدت چهار ماه تحت عمل لایه‌پردازی سرد^۱ در ماسه ضد عفونی شده (در اتوکلاو به مدت ۶۰ دقیقه با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲۰ اتمسفر) و در داخل یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Cavieres & Arroyo, 2000). بذرها دارای ۸۲/۳ درصد جوانه‌زنی، وزن هزاردانه ۲۷۶ گرم و تعداد ۳۷۵۸ عدد در کیلوگرم بودند.

شیوه اجرای پژوهش

این آزمایش به صورت طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با عامل‌های سطوح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (بدون تنش) و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی)، تلقیح با میکروارگانسیم‌ها (قارچ‌های میکوریز آربسکولار و باکتری حل‌کننده فسفات) با استفاده از پنج تکرار بررسی شد. تیمارهای AMF (تلقیح با قارچ *Funneliformis mosseae* (Fm)، تلقیح با کود زیستی مایکوروت حاوی سه قارچ *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus irregularis*, *Glomus etunicatum* (Mix) به عنوان تیمار مخلوط و تیمار بدون قارچ به عنوان شاهد (NM))، تیمار باکتری (تلقیح با *Pseudomonas fluorescens* سویه P168 و تیمار بدون تلقیح با باکتری به عنوان شاهد (NPF)) بودند. باکتری *P. fluorescens* از مؤسسه تحقیقات خاک و آب واقع در کرج، کود زیستی مایکوروت از شرکت زیست‌فناور پیش‌تاز واریان واقع در کرج و مایه تلقیح حاوی قارچ *F. mosseae* از کلینیک گیاه‌پزشکی ارگانیک واقع در اسدآباد همدان تهیه شد. بذرها در کیسه گلدان‌های پلاستیکی سه کیلوگرمی (با ابعاد ۱۵×۳۰) کاشته شدند. نهال‌های تیمار بدون تنش تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمار تنش خشکی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، آب دریافت کردند. خاک استفاده شده برای این پژوهش متشکل از خاک و ماسه (با نسبت ۲ به ۱) قبل از استفاده در اتوکلاو (به مدت ۶۰ دقیقه در

به طوری که از نظر توان زایشی و رویشی دچار مشکل شده است (Jahanpour et al., 2011). از طرف دیگر، کاهش بارندگی و رطوبت خاک شرایط اکولوژیکی و اقلیمی را برای استقرار نهال‌ها یا زنده‌مانی آنها نامساعد کرده (Hosseini & Pourhashemi, 2022) و احیای طبیعی این گونه را با مشکل مواجه کرده است (Sadeghzadeh Hallaj et al., 2022). از این رو استفاده از میکروارگانسیم‌ها می‌تواند ابزار زیستی ارزشمند برای بهبود رشد نهال و روش مناسبی برای جبران اثرهای منفی کمبود آب و در نتیجه موفقیت بیشتر برنامه‌های احیای جنگل باشد (Nadeem et al., 2014).

با وجود تأثیر مثبت استفاده همزمان از میکروارگانسیم‌های مفید خاک‌زی، پژوهش‌های کمی در مورد اثرهای تلقیح همزمان قارچ‌های میکوریزی و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه بر گونه‌های درختی جنگلی در شرایط تنش غیرزیستی وجود دارد. هدف این پژوهش، بررسی تأثیر تنش خشکی بر رشد نهال بنه و کاربرد قارچ‌های میکوریزی و باکتری حل‌کننده فسفات در مقاومت این نهال‌ها به تنش است.

مواد و روش‌ها

منطقه پژوهش

این پژوهش طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰ در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور انجام گرفت. آزمایش در گلخانه با میانگین دما و رطوبت روزانه ۵/۷ ± ۲۳/۳ درجه سانتی‌گراد و ۹/۱۴ ± ۳۶/۷۳ درصد و میانگین دام و رطوبت شبانه ۳/۱ ± ۱۷/۵۴ درجه سانتی‌گراد و ۱۱/۴۵ ± ۴۴/۳۲ درصد اجرا شد. برای تولید نهال، بذرها درختان مادری آن در رویشگاهی در بالادست روستای ازگی در شمال غرب تهران در محدوده منطقه ۲۲ شهرداری تهران با ارتفاع ۱۸۵۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری شد. بذرها سالم پس از انتقال به آزمایشگاه شسته شدند و پوسته رویی آنها جدا شد. بذرها در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت پنج دقیقه ضد عفونی شدند. برای

گلدان‌ها اعمال شد. کنترل رطوبت و تنظیم آن برای اعمال سطوح رطوبتی روزانه با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج دستی تا پایان فصل رویش انجام گرفت. پس از پایان فصل رویش نخست (اواخر آبان) و تا شروع فصل رویش دوم (اواخر بهمن) یعنی در زمان خزان نهال‌ها، آبیاری نهال‌ها با استفاده از مه‌پاش گلخانه‌ای و همزمان با آغاز فصل رویش دوم دوباره با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج انجام گرفت. تیمارهای آبیاری تا سه ماه پس از آغاز فصل رویش دوم ادامه داشت و در اواخر اردیبهشت ۱۴۰۰ نمونه‌برداری و اندازه‌گیری نهال‌ها انجام گرفت.

پس از رشد گیاهان و اعمال سطوح رطوبتی، نهال‌های بنه از سطح خاک قطع و مشخصه‌های رویشی شامل ارتفاع، قطر یقه، تعداد برگ، طول ریشه و وزن تر و خشک با پنج تکرار اندازه‌گیری شد. ارتفاع نهال با استفاده از خط‌کش و با دقت میلی‌متر، قطر یقه به کمک کولیس دیجیتال و وزن تر و خشک نهال با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک اندام‌ها، نمونه‌ها در داخل پاکت‌های کاغذی قرار داده شده و به مدت ۴۸ ساعت به آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و سپس توزین شدند. به منظور تعیین درصد همزیستی، ابتدا ریشه‌ها شست‌وشو داده شده و تعدادی از ریشه‌های موبین سالم با قطر کمتر از ۲ میلی‌متر تا زمان رنگ‌آمیزی در داخل ظروف حاوی الکل ۶۰ درصد نگهداری شدند. برای رنگ‌آمیزی از روش Philips & Hayman (1970) استفاده شد. ریشه‌ها نخست در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد و درون بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت یک ساعت قرار داده شدند؛ سپس با آب مقطر شسته شده و به محلول حاوی آب اکسیژنه قلیایی انتقال داده شدند و ۲ تا ۲/۵ ساعت در این محلول نگهداری و پس از شست‌وشو، در مرحله بعد حدود ۳۰ دقیقه در محلول اسیدکلریدریک ۱ درصد قرار داده شدند. در نهایت ریشه‌ها به‌طور مستقیم از محلول اسیدی به محلول رنگی آنیلین بلو ۰/۵ درصد منتقل شدند. برای هر تکرار

دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲۰ اتمسفر) ضدعفونی شد. خاک استفاده‌شده دارای بافت لومی-شنی (۶۲/۴۴ درصد شن، ۲۲/۷۲ درصد لوم و ۱۴/۸۴ درصد رس) بود. دیگر ویژگی‌های مهم آن شامل فسفر ۹/۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ازت ۰/۴۹ درصد، ماده آلی ۰/۸۲ درصد و pH ۷/۹ بود.

به‌منظور تولید نهال میکوریزی بنه، همزمان با کاشت بذرها، جوانه‌زده، حدود ۲۵ تا ۳۰ گرم مایه تلقیح قارچی (هر گرم حاوی ۱۰۰ عدد اندام فعال قارچی و ۵۰ تا ۶۰ عدد اسپور) در کنار بذرها ریخته شد. برای تلقیح باکتری نیز ۴ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی (10^7 CFU/ml) در زمان کاشت بذرها روی آنها ریخته شد (Aalipour et al., 2020). پس از کاشت بذرها، بنه در اواخر اسفند، به مدت چهار ماه و تا قبل از اعمال تنش خشکی، همه تیمارها دو تا سه بار در هفته برای استقرار بهتر با استفاده از مه‌پاش گلخانه‌ای تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. برای اعمال سطوح رطوبتی، ابتدا ظرفیت زراعی از طریق نمونه‌برداری از خاک گلدان‌های اشباع‌شده برآورد شد. برای اندازه‌گیری ظرفیت زراعی از خاک گلدان‌های اشباع در نقاط مختلف گلدان‌ها و در فواصل زمانی مختلف (۱۶، ۲۴، ۴۰، ۴۸، ۶۴ و ۷۲ ساعت) تا زمان ثابت شدن رطوبت خاک نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها بلافاصله وزن شدند و سپس در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد آون به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و وزن نهایی آنها اندازه‌گیری شد. درصد رطوبت موجود در نمونه‌های خاک از روی اختلاف وزن مرطوب و وزن خشک به دست آمد. همزمان با نمونه‌برداری، ظرفیت زراعی با دستگاه رطوبت‌سنج دستی (TDR)^۱ مدل HH2 به‌منظور مقایسه دو روش و بررسی صحت دستگاه اندازه‌گیری شد. در نهایت سطوح رطوبتی در حد ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار بدون تنش (شاهد) و تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار تنش خشکی روی کلیه

احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما این عامل تحت تأثیر سطوح آبیاری و برهمکنش سطوح آبیاری و میکروارگانسیم‌ها قرار نگرفت. براساس نتایج، هیچ‌گونه همزیستی در نهال‌های شاهد و نهال‌های تلقیح‌شده با باکتری *P. fluorescens* مشاهده نشد. مقایسه میانگین‌ها اثر هم‌افزایی باکتری *P. fluorescens* بر درصد کلنیزاسیون ریشه در هر دو سطح رطوبتی را نشان داد، اما هیچ برتری‌ای در نهال‌هایی که در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند با نهال‌های تحت تنش وجود نداشت. کمترین درصد کلنیزاسیون به تیمار قارچ *F. mosseae* در هر دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی به ترتیب با ۴۳/۸۲ و ۴۱/۹۲ درصد تعلق داشت (شکل ۱).

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تأثیر برهمکنش سطح رطوبتی و میکروارگانسیم‌ها بر ارتفاع نهال‌ها در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین گویای آن است که صرف نظر از نوع گونه قارچی، ارتفاع نونهال‌های بنه در هر دو سطح رطوبتی در تیمارهای تلقیح‌شده با قارچ‌های میکوریزی نسبت به تیمار شاهد افزایش چشمگیری یافت. اثر باکتری *P. fluorescens* بر ارتفاع نونهال‌ها در شرایط تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین باکتری *P. fluorescens* در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع شد. بیشترین ارتفاع به تیمار قارچ *F. mosseae* در حضور باکتری *P. fluorescens* (۲۴/۵۴ سانتی‌متر) در شرایط بدون تنش و کمترین ارتفاع به تیمار شاهد (۸/۸ سانتی‌متر) در شرایط تنش خشکی تعلق داشت. در ارتباط با قطر یقه، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که قطر یقه تحت تأثیر متقابل سطح رطوبتی و میکروارگانسیم‌ها قرار نگرفت، اما اثر میکروارگانسیم‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بین همه تیمارهای تلقیح‌شده با قارچ‌های میکوریزی و باکتری *P. fluorescens* در هر دو تیمار رطوبتی با تیمار شاهد

۵۰ قطعه ریشه به طول ۱ سانتی‌متر روی پتری‌دیش مدرج قرار داده شدند و با استفاده از روش تقاطع شبکه (gridline intersection method) درصد کلنیزاسیون میکوریزی محاسبه شد (Brundrett et al., 1996). برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل، کاروتنوئید و پرولین، قبل از قطع نهال‌ها از برگ‌های بالغ بنه نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها بلافاصله در داخل ورقه‌های آلومینیومی قرار داده شدند و سپس به تانک حاوی ازت مایع انتقال یافتند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه تا زمان سنجش عامل‌های مورد نظر در فریزر ۲۵- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کلروفیل کل و کاروتنوئید براساس روش (Arnon 1967) با استفاده از استن ۸۰ درصد استخراج و با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ اندازه‌گیری شدند. مقدار پرولین برگ با ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگ و براساس روش (Bates et al. 1973) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای سنجش فسفر برگ، برگ‌های خشک‌شده آسیاب و در کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت خاکستر شدند. در نهایت مقدار فسفر با استفاده از روش آمونیوم-وانادات-مولیبدات اندازه‌گیری شد (Chapman & Pratt, 1961).

روش تحلیل

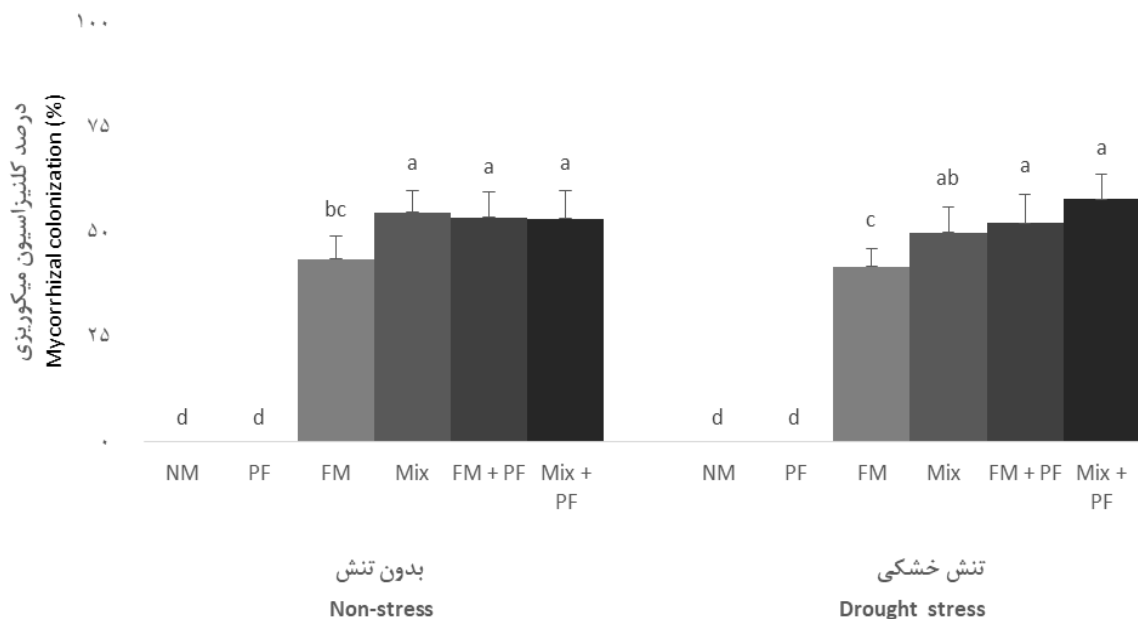
برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا توسط آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف و لون، نرمال بودن و همگنی واریانس داده‌ها بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون چنددامنه‌ای دانکن در نرم‌افزار SPSS 22 صورت گرفت و برای محاسبات و رسم شکل از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها در مجموع برای دوازده تیمار با پنج تکرار در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج

مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، تأثیر میکروارگانسیم‌ها بر کلنیزاسیون ریشه در سطح

ترکیبی قارچ‌های میکوریزی و باکتری *P. fluorescens* در هر دو سطح رطوبتی و همچنین تیمار کود زیستی مایکوروت تحت رطوبت ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و باکتری *P. fluorescens* در تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار تعداد برگ نسبت به تیمار شاهد شدند. اثر میکروارگانیسم‌ها و همچنین اثر متقابل سطح رطوبتی و میکروارگانیسم‌ها بر طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. طولانی‌ترین طول ریشه در تیمار Mix در شرایط بدون تنش برآورد شد (۵۹/۸ سانتی‌متر) که با تیمارهای شاهد در هر دو سطح رطوبتی اختلاف معنی‌داری نشان داد؛ در مقابل کوتاه‌ترین طول ریشه در تیمار باکتری *P. fluorescens* در شرایط تنش خشکی (۴۱/۹۸ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۲).

در تیمار تحت تنش اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. تنها در زمان استفاده از قارچ‌های میکوریزی در حضور باکتری *P. fluorescens* در شرایط تنش خشکی با تیمار شاهد در شرایط بدون تنش اختلاف معنی‌داری دیده شد. کمترین قطر یقه (۴/۳۴ میلی‌متر) در تیمار شاهد و در شرایط بدون تنش و بیشترین قطر یقه در تیمارهای Mix + PF (۶/۱۴ میلی‌متر) و FM+ PF (۶/۴ میلی‌متر) در شرایط بدون تنش مشاهده شد. قطر یقه در تیمار شاهد تحت رطوبت ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به تیمار شاهد تحت رطوبت ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). در خصوص تعداد برگ نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنها تأثیر میکروارگانیسم‌ها بر این مشخصه در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار



شکل ۱- میانگین درصد کلنیزاسیون میکوریز آربسکولار در نهال‌های بنه. حروف یکسان نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است. (NM: non-microorganisms; PF: *P. fluorescens*; FM: *F. mosseae*; Mix: (*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*); FM + PF: *F. mosseae* + *P. fluorescens*; Mix + PF: ((*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*) + *P. fluorescens*)

Figure 1. Means of arbuscular mycorrhizal colonization (%) of the wild pistachio seedlings. Similar letters do not express significant differences at $P < 0.05$. (NM: non-microorganisms; PF: *P. fluorescens*; FM: *F. mosseae*; Mix: (*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*); FM + PF: *F. mosseae* + *P. fluorescens*; Mix + PF: ((*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*) + *P. fluorescens*)

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سطوح رطوبتی و تلقیح با میکروارگانیسم‌ها بر صفات اندازه‌گیری شده

Table 1- Variance analysis of the effect of moisture levels and microorganisms inoculation on measured traits

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares						
		کلنیزاسیون Colonization	ارتفاع Plant height	قطر یقه Root collar diameter	تعداد برگ Leaf number	طول ریشه Root length	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight
Moisture levels	1	7.149 ^{ns}	3.8 ^{ns}	0.066 ^{ns}	2.017 ^{ns}	43.69 ^{ns}	2.996*	0.018 ^{ns}
Microorganisms	5	315.98**	188.27**	2.473**	48.937**	298.345**	28.54**	25.04**
Moisture levels × Microorganisms	5	37.89 ^{ns}	29.461**	0.544 ^{ns}	8.377 ^{ns}	72.203**	4.183**	2.896**
Total	60							

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares					
		وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	فسفر برگ Leaf phosphorus	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	پرولین برگ Leaf proline
Moisture levels	1	1.105 ^{ns}	0.115 ^{ns}	0.001*	0.047 ^{ns}	5.922*	21.266 ^{ns}
Microorganisms	5	5.486**	6.105**	0.006**	0.383**	5.195*	22.79**
Moisture levels × Microorganisms	5	1.004**	0.604*	0.002 ^{ns}	0.094 ^{ns}	3.434 ^{ns}	0.695 ^{ns}
Total	60						

** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد؛ * معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد؛ ns معنی دار نبودن.

**Significant at the 1% probability level; * Significant at the 5% probability level and ns not significant.

تنش خشکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری داشت. نتایج اندازه‌گیری وزن تر ریشه نشان داد که استفاده از قارچ *F. mosseae* در حضور باکتری در شرایط تنش خشکی این مشخصه را تا حد چشمگیری نسبت به تیمارهای دیگر افزایش داد، به طوری که تنها با تیمارهای قارچ *F. mosseae* در شرایط رطوبتی بدون تنش و تیمار استفاده توأم مایکوروت و باکتری *P. fluorescens* اختلاف معنی دار مشاهده نشد و در مجموع تیمار شاهد کمترین وزن تر ریشه را داشت. مطابق جدول مقایسه میانگین‌ها، تیمار ترکیبی *F. mosseae* با *P. fluorescens* در تیمار بدون تنش بیشترین اثر را بر وزن خشک اندام هوایی نونهال‌های بنه گذاشت و تنها با تیمارهای PF، Mix، Mix + PF و FM + PF در شرایط تنش خشکی اختلاف معنی داری نشان نداد. درباره وزن خشک ریشه نیز نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که تیمار قارچ

مطابق جدول ۱، اثر متقابل سطوح رطوبتی و میکروارگانیسم‌ها بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه نهال بنه معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تلقیح بذرها بنه با قارچ‌های میکوریزی و باکتری *P. fluorescens* به صورت جداگانه و ترکیبی اثرهای منفی تنش خشکی را کاهش داد و سبب افزایش چشمگیر وزن تر اندام هوایی و ریشه و وزن خشک اندام هوایی نهال‌های بنه نسبت به تیمارهای شاهد در هر دو سطح رطوبتی شد و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری نشان داد (جدول ۲). همچنین براساس نتایج، تنش خشکی به طور معنی داری سبب کاهش وزن تر در نهال‌های بنه در تیمار شاهد شد. بیشترین وزن تر اندام هوایی در تیمار ترکیبی قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. fluorescens* در شرایط بدون تنش خشکی مشاهده شد که با همه تیمارها به جز تیمارهای PF، Mix، PF + FM تحت

و تیمار ترکیبی باکتری با کود مایکوروبوت در شرایط بدون تنش با تیمار شاهد تحت تنش خشکی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۲).

F. mosseae در حضور باکتری در هر دو سطح رطوبتی بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد، در حالی که تیمارهای باکتری در شرایط تنش خشکی

جدول ۲- تأثیر قارچ میکوریز آریسکولار، باکتری و آبیاری بر رشد نهال‌های بنه (mean ± SE)

Table 2- Effect of AMF, bacteria and irrigation on growth of wild pistachio seedlings (mean ± SE)

سطوح رطوبتی Moisture levels	قارچ AMF	باکتری Bacteria	ارتفاع (cm) Plant height (cm)	قطر یقه (mm) Root collar diameter (mm)	تعداد برگ Leaf number	طول ریشه (cm) Root length (cm)
بدون تنش Non-stress	NM	NPF	11.4 ± 2.48 ^{fg}	5.11 ± 0.12 ^b	8.4 ± 2.07 ^{de}	46.32 ± 4.04 ^{de}
	Fm		16.6 ± 2.1 ^d	5.58 ± 0.53 ^{ab}	10.2 ± 1.64 ^{cd}	44.82 ± 4.99 ^{de}
	Mix		22.4 ± 4.9 ^{ab}	5.6 ± 0.68 ^{ab}	13.6 ± 2.5 ^{ab}	59.8 ± 3.47 ^a
	NM	PF	14.06 ± 2.08 ^{ef}	5.77 ± 0.64 ^{ab}	10.8 ± 0.83 ^{b-d}	47.58 ± 4.63 ^{c-e}
	Fm		23.5 ± 3.9 ^a	5.89 ± 0.68 ^{ab}	12 ± 1.87 ^{bc}	49.28 ± 3.91 ^{cd}
	Mix		17.8 ± 2.9 ^{e-c}	5.79 ± 0.59 ^{ab}	13 ± 3.24 ^{ab}	54.86 ± 3.31 ^{ab}
تنش خشکی Drought stress	NM	NPF	8.8 ± 1.3 ^g	4.34 ± 0.23 ^c	7.2 ± 1.64 ^e	47.26 ± 4.56 ^{c-e}
	Fm		15.8 ± 2 ^{de}	5.62 ± 0.3 ^{ab}	10.6 ± 2.2 ^{b-d}	52.02 ± 2.06 ^{bc}
	Mix		17.8 ± 2.1 ^{c-e}	5.24 ± 0.46 ^b	11.4 ± 2.3 ^{b-d}	57.58 ± 1.94 ^{ab}
	NM	PF	19.02 ± 2.4 ^{b-d}	5.6 ± 0.97 ^{ab}	12.8 ± 1.78 ^{ab}	41.98 ± 3.75 ^e
	Fm		21.6 ± 2.7 ^{a-c}	6.4 ± 0.76 ^a	12.6 ± 2.3 ^{ab}	57.68 ± 3.03 ^{ab}
	Mix		19.6 ± 2.6 ^{a-d}	6.14 ± 0.42 ^a	15.6 ± 2.7 ^a	56.38 ± 2.86 ^{ab}
سطوح رطوبتی Moisture levels	قارچ AMF	باکتری Bacteria	وزن تر اندام هوایی (g) Shoot fresh weight (g)	وزن تر ریشه (g) Root fresh weight (g)	وزن خشک اندام هوایی (g) Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه (g) Root dry weight (g)
بدون تنش Non-stress	NM	NPF	2.47 ± 0.71 ^f	3.15 ± 0.76 ^e	1.26 ± 0.43 ^d	1.55 ± 0.39 ^{ef}
	Fm		4.88 ± 0.76 ^{c-e}	6.82 ± 1.15 ^{ab}	2.4 ± 0.59 ^{bc}	2.92 ± 0.41 ^{a-c}
	Mix		5.41 ± 0.85 ^{b-e}	5.39 ± 0.95 ^{c-e}	2.62 ± 0.37 ^{bc}	2.33 ± 0.45 ^{bc}
	NM	PF	4.54 ± 0.9 ^{de}	4.53 ± 0.64 ^e	2.45 ± 0.68 ^{bc}	3.21 ± 0.88 ^{ab}
	Fm		6.86 ± 1.44 ^a	6.56 ± 1.01 ^{bc}	3.43 ± 0.75 ^a	3.49 ± 0.67 ^a
	Mix		5.17 ± 0.88 ^{b-e}	5.22 ± 0.42 ^{de}	2.52 ± 0.49 ^{bc}	1.99 ± 0.33 ^{de}
تنش خشکی Drought stress	NM	NPF	1.33 ± 0.37 ^g	1.83 ± 0.61 ^f	0.61 ± 0.14 ^e	0.9 ± 0.31 ^f
	Fm		4.16 ± 1.01 ^e	5.95 ± 1.1 ^{b-e}	2.05 ± 0.46 ^c	2.73 ± 0.54 ^{a-d}
	Mix		5.88 ± 0.57 ^{a-c}	6.18 ± 0.88 ^{bc}	2.77 ± 0.22 ^{a-c}	2.52 ± 0.43 ^{b-d}
	NM	PF	6.26 ± 1.07 ^{ab}	5.13 ± 1.8 ^{de}	3.04 ± 0.54 ^{ab}	2.20 ± 0.73 ^{c-e}
	Fm		6.04 ± 1.06 ^{a-c}	8.17 ± 0.79 ^a	2.92 ± 0.75 ^{ab}	3.46 ± 0.62 ^a
	Mix		5.46 ± 0.48 ^{b-d}	7.08 ± 1.29 ^{ab}	2.77 ± 0.22 ^{a-c}	2.78 ± 0.49 ^{a-d}

* حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (NM, non-mycorrhizal; NPF non- *P. fluorescens*;

PF: *P. fluorescens*; FM: *F. mosseae*; Mix: (*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*))

* Similar letters within each column do not express significant differences at $P < 0.05$. (NM, non-mycorrhizal; NPF non- *P. fluorescens*; PF: *P. fluorescens*; FM: *F. mosseae*; Mix: (*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*))

درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. در بین تیمارهای تلقیح‌شده، استفاده توأم قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. fluorescens* در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین و تیمارهای تلقیح با قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. fluorescens* به صورت مجزا کمترین فسفر را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). اثر متقابل سطوح رطوبتی و میکروارگانیزم‌ها بر کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ معنی‌دار نبود، اما اثر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سطوح رطوبتی و میکروارگانیزم‌ها بر سنجش فسفر برگ به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود، اما برهمکنش سطوح رطوبتی و میکروارگانیزم‌ها اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میکروارگانیزم‌ها توانستند در هر دو سطح رطوبتی محتوای فسفر برگ را تا حد زیادی در مقایسه با شاهد افزایش دهند و در سطح احتمال ۵

شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. کمترین مقدار کاروتنوئید در تیمار شاهد تحت تنش خشکی برآورد شد. مطابق با جدول تجزیه واریانس، تأثیر میکروارگانیسم‌ها بر محتوای پرولین برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، نتایج مقایسه میانگین پرولین اندازه‌گیری شده نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی تیمار دوگانه *F. mosseae* و باکتری *P. fluorescens* سبب افزایش مقدار پرولین شده و بیشترین تجمع آن در این تیمار مشاهده شد که با دیگر تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارد. در شرایط تنش، همه تیمارها به جز تیمار باکتری *P. fluorescens* با تیمارهای مشابه خود تحت رطوبت ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری نشان دادند. کمترین غلظت پرولین در تیمارهای شاهد و قارچ *F. mosseae* در شرایط بدون تنش مشاهده شد (جدول ۳).

میکروارگانیسم‌ها بر کلروفیل در سطح ۵ درصد و اثر سطح رطوبتی و میکروارگانیسم‌ها بر کاروتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین غلظت کلروفیل برگ در تیمارهای میکوریز مخلوط بدون تنش، باکتری *P. fluorescens* در تنش خشکی و تلقیح دوگانه *F. mosseae* با *P. fluorescens* در هر دو سطح رطوبتی به دست آمد که با هر دو تیمار شاهد در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار داشتند. تحت شرایط تنش غلظت کلروفیل شاهد به شدت کاهش یافت. بین تیمارهای شاهد با تیمار قارچ *F. mosseae* در سطح رطوبت ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی اختلافی مشاهده نشد (جدول ۳). در خصوص کاروتنوئید، براساس نتایج، بیشترین غلظت در تیمارهای باکتری *P. fluorescens*، قارچ *F. mosseae* و تلقیح همزمان FM و PF در تنش خشکی مشاهده شد که با تیمارهای مشابه در شرایط بدون تنش اختلافی نداشتند، در حالی که با هر دو تیمار

جدول ۳- تأثیر قارچ میکوریز آریسکولار، باکتری و آبیاری بر کلروفیل کل، کاروتنوئید، فسفر و پرولین برگ (mean ± SE)

Table 3. Effect of AMF, bacteria and irrigation on total chlorophyll, carotenoids, leaf phosphorus and proline (mean ± SE)

سطوح رطوبتی Moisture levels	قارچ AMF	باکتری Bacteria	فسفر (mg/g) (mg/g)phosphorus	کلروفیل کل (mg/g) Total chlorophyll (mg/g)	کاروتنوئید (mg/g) Carotenoids (mg/g)	پرولین (μmol/g) (μmol/g)proline
بدون تنش Non-stress	NM	NPF	0.087 ± 0.008 ^c	1.82 ± 0.15 ^{cd}	10.49 ± 0.31 ^{bc}	1.57 ± 0.12 ^g
	Fm		0.103 ± 0.005 ^b	2.09 ± 0.22 ^{b-d}	11.05 ± 1.21 ^{ab}	1.71 ± 0.88 ^g
	Mix		0.113 ± 0.005 ^{ab}	2.1 ± 0.14 ^a	12.02 ± 1.08 ^{ab}	2.17 ± 0.49 ^{fg}
	NM	PF	0.112 ± 0.007 ^{ab}	2.31 ± 0.41 ^{ab}	11.89 ± 0.95 ^{ab}	3.94 ± 0.31 ^{de}
	Fm		0.118 ± 0.12 ^a	2.33 ± 0.41 ^a	11.65 ± 0.82 ^{ab}	2.08 ± 0.81 ^{fg}
	Mix		0.11 ± 0.004 ^{ab}	2.11 ± 0.17 ^{ab}	10.9 ± 0.87 ^{ab}	3.57 ± 1.42 ^{ef}
تنش خشکی Drought stress	NM	NPF	0.084 ± 0.003 ^c	1.7 ± 0.1 ^d	9.63 ± 0.43 ^c	4.84 ± 1.06 ^{c-e}
	Fm		0.105 ± 0.018 ^b	1.95 ± 0.21 ^{a-c}	12.87 ± 1.89 ^a	6.12 ± 1.386 ^{bc}
	Mix		0.109 ± 0.008 ^{ab}	2.39 ± 0.22 ^{a-c}	11.41 ± 0.99 ^{ab}	6.46 ± 0.49 ^b
	NM	PF	0.104 ± 0.007 ^b	2.28 ± 0.32 ^a	12.46 ± 1.46 ^a	6.5 ± 0.9 ^b
	Fm		0.112 ± 0.006 ^{ab}	2.31 ± 0.12 ^a	12.29 ± 2.13 ^a	8.87 ± 1.03 ^a
	Mix		0.107 ± 0.007 ^{ab}	2.2 ± 0.17 ^{a-c}	11.79 ± 1.32 ^{ab}	6.53 ± 0.66 ^b

* حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است (NM, non-mycorrhizal; NPF non- *P. fluorescens*; PF: *P. fluorescens*; FM: *F. mosseae*; Mix: (*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*))
* Similar letters within each column do not express significant differences at $P < 0.05$. (NM, non-mycorrhizal; NPF non- *P. fluorescens*; PF: *P. fluorescens*; FM: *F. mosseae*; Mix: (*F. mosseae*, *R. irregularis*, *G. etunicatum*))

بحث

ریشه گذاشت، اما بر ارتفاع، طول ریشه، تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی تأثیرگذار نبود. پژوهش‌های پیشین روی گونه‌های خنجوک و بنه نتایج حاضر را تأیید می‌کند (Mirzaei et al., 2011; Mirzaei & Karamshahi, 2015; Sadeghzadeh et al., 2022). براساس پژوهش (Mirzaei & Karamshahi, 2015) که اثر تنش خشکی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) را بر رشد بنه بررسی کردند، کاهش رطوبت به‌طور معنی‌داری سبب کاهش زنده‌مانی، قطر یقه و سطح برگ به‌ویژه در تیمارهای ۵۰ و ۲۵ درصد شد و تنها در تیمار ۲۵ درصد اثر منفی آن بر ارتفاع مشاهده شد. اما از طرفی، تنش خشکی بر طول ریشه و تعداد برگ اثرگذار نبود. براساس یافته‌های آنها برای رشد مناسب و بهینه بنه در سال اول رشد، باید مقدار رطوبت در حد ظرفیت زراعی نگه داشته شود. (Sadeghzadeh et al., 2022). اثر متقابل رطوبت خاک (۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و سایه را بر رشد، محتویات شیمیایی و خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نهال یکساله بنه در نهالستان بررسی کردند و دریافتند که رطوبت خاک به‌طور معنی‌داری بر وزن خشک برگ و ساقه تأثیر گذاشت. در پژوهشی دیگر، (Mirzaei et al., 2011) اثر میکوریز را بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک نهال خنجوک (*Pistacia khinjuk*) تحت تنش خشکی در سطوح ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بررسی کردند و نتیجه گرفتند که قطر یقه، ارتفاع نهال، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه در نهال‌های غیرمیکوریزی خنجوک تحت تنش خشکی به‌ویژه در تیمارهای ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش یافت.

پژوهش‌های پیشین نشان دادند که قارچ‌های میکوریز آربسکولار و PGPR می‌توانند اثرهای منفی تنش خشکی را در گونه‌هایی مانند داغداغان، سرو سیمین و تنباکو کاهش دهند (Aalipour et al.,

روش‌های کاشت مناسب گونه‌های چوبی درختی و درختچه‌ای از مهم‌ترین نیازهای پژوهشی در زمینه جنگلکاری و توسعه فضاهای سبز شهری به‌شمار می‌آید (Maghsodian et al., 2021). نتایج بررسی همزیستی میکوریزی در نهال‌های بنه نشان داد که تنش خشکی اعمال‌شده در این پژوهش بر درصد کلنیزاسیون اثر منفی ندارد که با نتایج (Armada et al., 2015) مطابقت داشت. بنابر نتایج آنها بین کلنیزاسیون ریشه گیاه ذرت در تیمار قارچ میکوریزی و تیمار توأم قارچ میکوریزی و باکتری در شرایط تنش رطوبتی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در مقایسه با تیمار بدون تنش در گلخانه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. به نظر می‌رسد که خشکی کوتاه‌مدت خاک نمی‌تواند مانع کلنیزاسیون AMF ریشه شود، درحالی که خشکی طولانی‌مدت خاک به‌طور چشمگیری موجب کاهش کلنیزاسیون ریشه و رشد هیف در خاک خواهد شد (Wu & Zou, 2017). با وجود چنین تغییری در رشد قارچ‌های میکوریزی، آنها همچنان به‌طور چشمگیری سبب بهبود رشد و افزایش بقای گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شوند (Wu & Zou, 2017). همچنین در این پژوهش مشاهده شد که تلقیح همزمان قارچ *F. mosseae* و باکتری *P. fluorescens* موجب افزایش درصد کلنیزاسیون شده است که با یافته‌های برخی از محققان همخوانی دارد (Aalipour et al., 2020; Rahimzadeh & Pirzad, 2017). به نظر می‌رسد توانایی باکتری‌ها در تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی، ایجاد همزیستی توسط AMF را تسهیل می‌کند (Visen et al., 2017). توانایی جنس *Pseudomonas* برای تولید این نوع آنزیم‌ها به‌خوبی تأیید شده است (Deveau et al., 2007).

به‌دلیل محدودیت آب، رشد نهال‌های بنه در تیمارهای شاهد (بدون میکوریز و باکتری) تحت تأثیر قرار گرفت. به‌طوری که کاهش رطوبت خاک اثر منفی بر قطر یقه، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر

تنش خشکی، از طریق سازوکارهای فیزیولوژیک با جذب مواد مغذی و سازوکارهای بیوشیمیایی مرتبط با هورمون‌ها، تنظیم فشار اسمزی و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی تحمل به خشکی گیاه میزبان را افزایش می‌دهند (Wu & Zou, 2017). به‌طور کلی، PGPR ممکن است با روش‌های مختلف مانند کاهش اثرهای مضر بیمارگرهای گیاهی، تسهیل جذب مواد مغذی از محیط خاک و به‌واسطه تولید هورمون‌های گیاهی و آنزیم‌های مهم، سبب رشد و نمو گیاه شود (Glick et al., 2007). برخی از سویه‌ها بیش از یک سازوکار دارند و می‌توانند هم در محیط طبیعی و هم در محیط تنش‌زا مقاومت کنند. اثربخشی PGPR برای تقویت رشد گیاه افزون‌بر توانایی‌های ذاتی آنها، به تعامل با گیاه میزبان و محیط خاک نیز بستگی دارد (Nadeem et al., 2014). در پژوهش حاضر مشخص شد که قارچ‌های میکوریزی در تعامل با یکدیگر و همچنین در حضور باکتری حل‌کننده فسفات مؤثرتر بودند. مشابه این نتیجه در تحقیقات پیشین روی گردو، سرو سیمین، کتان و ذرت گزارش شده است (Aalipour et al., 2020; Behrooz et al., 2019; Rahimzadeh & Pirzad, 2017; Armada et al., 2015). این اثر مثبت ممکن است به‌دلیل ترکیب سازوکارهای خاص و همچنین اثر هم‌افزایی این جمعیت‌ها بر یکدیگر باشد. تعامل بین آنها نه تنها سبب افزایش رشد گیاهان می‌شود، بلکه جمعیت خودشان را نیز افزایش می‌دهد. (Nadeem et al., 2014). با وجود این در این پژوهش تیمار FM + PF نسبت به تیمار Mix + PF اثرگذاری بیشتری را نشان داد. براساس یافته‌های (Nadeem et al., 2014)، پاسخ‌های هم‌افزایی و آنتاگونیستی میکروارگانیسم‌ها به ماهیت سویه‌های میکروبی درگیر در این فعل و انفعالات و همچنین گونه‌های گیاهی بستگی دارد. در بیشتر مشخصه‌های رویشی اندازه‌گیری شده در این پژوهش، برهمکنش باکتری-قارچی، هم‌افزایی یکسانی با تیمار مخلوط قارچ میکوریز نشان داد که با نتایج (Rahimzadeh & Pirzad (2017) همخوانی

2020; Behrooz et al., 2019; Begum et al., 2021). در تأیید این موضوع، نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح قارچ‌های میکوریزی و باکتری حل‌کننده فسفات به‌صورت مجزا و ترکیبی، ویژگی‌های رویشی نونهال‌های بنه مانند ارتفاع، قطر، تعداد برگ، وزن تر و خشک گیاه را در هر دو سطح رطوبتی نسبت به تیمار شاهد (بدون میکوریزی و بدون باکتری) افزایش می‌دهند. نتایج پژوهش (Mirzaei et al., 2011) نشان دادند که میکوریز اثری مشابه آبیاری بر مشخصه‌های مورفولوژیک نهال خنجوک داشته است، به‌طوری که این قارچ‌ها همانند آبیاری سبب افزایش قطر یقه، ارتفاع، تعداد برگ و همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه نهال شدند. براساس یافته‌های (Feizi Kamareh et al., 2017)، نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی (*Pistacia vera* L.) به‌سبب بهره‌مندی از مزایای همزیستی با قارچ، از طریق جذب حداقل آب موجود در خاک به‌واسطه هیف‌های قارچ، در طول دوره تنش اعمال‌شده، مقاومت بیشتری نسبت به نهال‌های بدون میکوریزی نشان دادند. همچنین ارزیابی صفات مورفولوژیک نشان داد که کمیت رویش نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از نهال‌های غیرمیکوریزی بود. در مرحله نخست، گیاهان میکوریزی می‌توانند از طریق تغییر در مورفولوژی برگ و ریشه با خشکی سازگار شوند. همچنین این گیاهان دارای مسیر مستقیم جذب و انتقال آب از طریق هیف‌های خارج ریشه‌ای هستند (Wu & Zou, 2017). (Khalvati et al., 2005) نشان دادند که هیف‌های نازک قارچ‌های میکوریز آربسکولار با دسترسی به فضاهای ریز خاک، که ریشه‌های موبین توانایی نفوذ در آنها را ندارند، سبب جذب آب موجود در این فضاهای ریز می‌شوند. بنابراین انتقال آب از این فضاهای خاک به ریشه گیاهان تحت تنش خشکی، در رشد بهتر آنها تأثیر بسیار مهم و چشمگیری دارد. افزون‌بر این، قارچ‌های میکوریز آربسکولار از طریق سازوکارهای مولکولی با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با

شده با قارچ و باکتری بیشترین مقدار کلروفیل کل را در برگ‌های گیاه در مقایسه با نهال‌های شاهد ارائه می‌کنند که نشان‌دهنده دفاع آنها در برابر تنش خشکی است که این نتایج با یافته‌های Begum et al. (2021) و Behrooz et al. (2019) همخوانی دارد. مقدار کاروتنوئید نیز به‌منزله دفاع غیرآنزیمی گیاهان در مقابل کم‌آبی، در گیاهان با تلقیح دوگانه میکوریز-باکتری مشابه دیگر تیمارهای تلقیح‌شده بود که با یافته‌های Rahimzadeh & Pirzad (2017) مطابقت دارد. گیاهان تحت تنش خشکی از تنظیم پتانسیل اسمزی برای ساخت املاح مناسب به‌منزله نوعی سازوکار سازشی با هدف بهبود جذب آب استفاده می‌کنند. پرولین یکی از مخازن اصلی انرژی در همه گیاهان به شمار می‌رود و برای کاهش تنش و حفظ یکپارچگی ساختاری گیاهان عمل می‌کند (Meena et al., 2019). در پژوهش حاضر، سطح پرولین در تیمار شاهد (بدون میکوریز و باکتری) در شرایط تنش رطوبتی در مقایسه با تیمار بدون تنش سه برابر شد که با یافته‌های (Shayesteh Pahangeh et al., 2022) همخوانی دارد. همچنین تلقیح با ترکیبی از قارچ‌های میکوریزی و همچنین تلقیح دوگانه قارچ میکوریزی و باکتری *P. fluorescens* بیوسنتز پرولین را افزایش دادند و به بهبود رشد نهال بنه در شرایط کم‌آبی کمک کردند. در مقابل، غلظت کمتر پرولین در نهال‌های تلقیح‌شده تحت تیمار بدون تنش نشان داد که این تیمارها کمتر تحت تأثیر تنش اسمزی قرار گرفتند و در مقایسه با نهال‌های شاهد به غلظت‌های پرولین کمتری نیاز دارند. نتایج حاصل با یافته‌های Rahimzadeh & Pirzad (2017) و Behrooz et al. (2019) و Aalipour et al. (2020) همخوانی دارد. غلظت پرولین در نهال‌های شاهد تحت تنش به‌طور معنی‌داری بیشتر از نهال‌های شاهد بدون تنش بود که با یافته‌های Sadeghzadeh et al. (2022) همخوانی دارد.

دارد. در پژوهش حاضر مشاهده شد که تنش خشکی بر تیمارهای مشابه میکروارگانیزم‌ها اثری نداشته است که با نتایج Armada et al. (2015) مطابقت دارد؛ درحالی که Monfared et al. (2020) گزارش کردند که تیمارهای میکروارگانیزم‌ها روی نهال‌های داغداغان در تنش متوسط (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) بهترین عملکرد را نسبت به تیمارهای تنش کم و تنش زیاد داشته است و نهال‌ها از رشد بهتری برخوردار بوده‌اند.

بنابر نتایج این پژوهش، سطح فسفر برگ در تیمارهای شاهد در هر دو سطح رطوبتی اختلاف معنی‌داری نشان نداد که با یافته‌های Sadeghzadeh et al. (2018) مطابقت دارد. آنها نشان دادند که غلظت فسفر برگ در هر سه سطح رطوبتی ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی یکسان بود. افزون‌بر این نتایج، غلظت فسفر برگ در تیمارهای تلقیح‌شده با میکروارگانیزم‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای بدون تلقیح بود که با یافته‌های Visen et al. (2017) همخوانی دارد. قارچ‌های میکوریزی با تغییر در مورفولوژی ریشه جذب مواد غذایی ضروری را از خاک افزایش می‌دهند (Wu & Zou, 2017). افزون‌بر این، هیف‌های آنها مانند ریشه‌های اضافی گیاه عمل کرده و مسیری کارآمد برای افزایش انتقال و جذب آب و مواد مغذی ایجاد می‌کنند (Berruti et al., 2016). در این پژوهش جذب فسفر بیشتر توسط تیمارهای دوگانه را می‌توان به انتقال فسفر توسط قارچ میکوریز آریسکولار پس از انحلال آن توسط باکتری حل‌کننده فسفات نسبت داد که منعکس‌کننده دسترسی به حجم زیاد خاک است که جذب و انحلال فسفر به‌نسبت نامحلول را تسهیل می‌کند (Minaxi et al., 2013). افزایش جذب مواد مغذی توسط قارچ‌های میکوریز آریسکولار و PGPR یک مکانیسم اساسی در بهبود اثرهای نامطلوب تنش خشکی بر رشد گیاه است (Nadeem et al., 2014). در این پژوهش مشاهده شد که برخی تیمارهای تلقیح

نتیجه‌گیری

براساس نتایج پژوهش حاضر، کاهش رطوبت خاک توانست رشد نهال‌های بنه در تیمار بدون تلقیح با قارچ‌های میکوریزی و باکتری حل‌کننده فسفات را کاهش دهد، درحالی‌که کاربرد قارچ‌های میکوریزی و باکتری حل‌کننده فسفات به خصوص استفاده همزمان از آنها به‌طور مؤثری رشد نهال بنه و جذب مواد معدنی را تحت تنش خشکی افزایش داد. وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مشابه تلقیح‌یافته با میکروارگانیسم‌ها در هر دو سطح رطوبتی در بیشتر صفات اندازه‌گیری‌شده می‌تواند بیانگر تأثیر مثبت تلقیح بر افزایش تحمل خشکی در گونه بنه باشد. افزون‌بر این، باکتری *P. fluorescens*، قارچ‌های میکوریزی و ترکیب آنها محتوای پرولین برگ را به‌طور چشمگیری افزایش داد که نشان می‌دهد سازوکار تنظیم فشار اسمزی در بنه اثر مهمی در حفظ محتوای آب آن در شرایط تنش خشکی دارد. در بین تیمارهای اعمال‌شده

در این پژوهش، قارچ *F. mosseae* به‌همراه باکتری *P. fluorescens* از بقیه تیمارها مؤثرتر واقع شد. در مجموع با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که می‌توان با استفاده از ترکیب مناسبی از قارچ‌های میکوریزی آربسکولار و ریزوباکتری‌های افزایش‌دهنده رشد در هنگام تولید نهال بنه، تا حدودی به افزایش استقرار و رشد بنه در سال‌های ابتدایی در مناطقی که امکان آبیاری وجود ندارد کمک کرد. اما برای تأیید و تکمیل یافته‌های حاضر، آزمایش‌های تکمیلی مشابه در نهالستان و رویشگاه طبیعی روی نهال بنه و با اعمال سطوح رطوبتی متفاوت ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی خود را از آقایان مهندس مصطفی خوشنویس، دکتر فرهاد رجالی، مهندس حامد سوری و همچنین مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور بابت همکاری در انجام این پژوهش اعلام نمایند.

References

- Aalipour, H., Nikbakht, A., Etemadi, N., Rejali, F., & Soleimani, M. (2020). Biochemical response and interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria during establishment and stimulating growth of Arizona cypress (*Cupressus arizonica* G.) under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 261, DOI:10.1016/j.scienta.2019.108923
- Armada, E., Azcón, R., López-Castillo, O.M., Calvo-Polanco, M., & Ruiz-Lozano, J.M. (2015). Autochthonous arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus thuringiensis* from a degraded Mediterranean area can be used to improve physiological traits and performance of a plant of agronomic interest under drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 90, 64-74. DOI:10.1016/j.plaphy.2015.03.004
- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1), 205-207.
- Behrooz, A., Vahdati, K., Rejali, F., Lotfi, M., Sarikhani, S., & Leslie, C. (2019). Arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting bacteria alleviate drought stress in walnut. *HortScience*, 54(6), 1087-1092. DOI:10.21273/HORTSCI13961-19.
- Begum, N., Wang, L., Ahmad, H., Akhtar, K., Roy, R., Ishfaq Khan, M., & 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*, 83(4), 971-988. DOI:10.1007/s00248-021-01815-7
- Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., & Bianciotto, V. (2016) Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1559.

- Chapman, H.I., & Pratt, P.F. (1961). *Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters*. California: The University of California. DOI:10.3389/fmicb.2015.01559.
- Brundrett, M., Bougher, N., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture, Monograph 32. Canberra: Australian Center for International Agriculture Research. DOI:10.13140/2.1.4880.5444
- Cavieres, L.A., & Arroyo, M.T.K. (2000). Seed germination response to cold stratification period and thermal regime in *Phacelia secunda* (*Hydrophyllaceae*). *Plant Ecology*, 149, 1–8.
- Feizi Kamareh, T., Rahmani, R., Soltanloo, H., & Matinizadeh, M. (2017). Effect of water stress on the growth and antioxidant enzymes activities of pistachio mycorrhiza seedlings (*Pistacia vera* L.). *Iranian Journal of Forest*, 8(4), 507-518 (In Persian).
- Deveau, A., Palin, B., Delarulle, C., Peter, M., Kohler, A., Pierrat, J.C., Sarniguet, A., Garbaye, J., Martin, F., & Frey-Klett, P. (2007). The mycorrhiza helper *Psuedomonas fluoresces* BBc6R8 has a specific priming effect on the growth, morphology and gene expression of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N. *New Phytologist*, 1175, 743–755. DOI:10.1111/j.1469-8137.2007.02148.x
- Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J., & Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *New perspectives and approaches in plant growth-promoting Rhizobacteria research*, 329-339. DOI:10.1080/07352680701572966
- Hosseini, A., & Pourhashemi, M. (2022). The effect of aspect and seeding position on the seedling emergence and survival of wild pistachio, maple and almond by direct seeding in Ilam forests. *Iranian Journal of Forest*, 13(4), 395-408 (In Persian).
- Jahanpour, F.A., Fatahi, M., & Karamian, R. (2011). Studying the influence of light on surviving of pistachio saplings in Lorestan province. *Iranian Journal of Forest*, 3(2), 91-98 (In Persian).
- Khalvati, M.A., Mozafar, Y.H.A., & Schmidhalter, U. (2005). Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology*, 7, 706-712. DOI:10.1055/s-2005-872893
- Kaushai, M., & Wani, S.P. (2016). Rhizobacterial-plant interactions: strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 231, 68–78. DOI:10.1016/j.agee.2016.06.031
- Meena, M., Divyanshu, K., Kumar S., Prashant Swapnil, b.c., Andleeb Zehra, b., Vaishali Shukla, b., Mukesh Yadav, b., & Upadhyay, R.S. (2019). Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. *Heliyon*, 5, e02952. DOI:10.1016/j.heliyon.2019.e02952
- Minaxi Saxena, J., Chandra, S., & Nain, L. (2013). Synergistic effect of phosphate solubilizing rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza on growth and yield of wheat plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(2), 511-525. DOI:10.4067/S0718-95162013005000040
- Mirzaei, J., Akbarinia, M., Mohamadi Goltapeh, E., Sharifi, M., & Rezaei Danesh, Y. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizae fungi on morphological and physiological characteristics of *Pistacia khinjuk* under drought stress. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 19(2), 291-300 (In Persian).
- Mirzaei, J., & Karamshahi, A. (2015). Effects of drought stress on growth and physiological characteristics of *Pistacia atlantica* seedlings. *Journal of Wood & Forest Science and Technology*, 22 (1), 31-43 (In Persian).
- Maghsodian, O., Mollashahi, M., Moshki, A.R., Ravanbakhsh, H., & Kianian, M.K. (2021). The effect of different soil remediation methods on growth and primary establishment of *Pistacia atlantica* Desf., *Quercus infectoria* Oliv., *Melia azedarach* L. and *Cupressus sempervirens* L. saplings in Semnan. *Iranian Journal of Forest*, 13(1), 59-72. DOI: 10.22034/IJF.2021.269743.1764. (In Persian).

- Monfared, A.M., Pourmajidian, M.R., Rejali, F., Hojati, H., & Ramak, P. (2021). The impact of biological inputs on drought stress resistance in *Celtis caucasica* L. seedlings. *Environmental Sciences*, 19(2), 39-56. (In Persian).
- Nadeem, S.M., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Javaid, A., & Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, 32, 429-448. DOI:10.1016/j.biotechadv.2013.12.005
- Philips, J.M., & Hayman, J.M. (1970). Improved procedures for clearing roots by staining parasitic and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *British Mycological Society*, 55, 158-160. DOI:10.1016/S0007-1536(70)80110-3
- Rahimzadeh, S., & Pirzad, A. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas* in reduce drought stress damage in flax (*Linum usitatissimum* L.): a field study. *Mycorrhiza*, 10, 1-16. DOI:10.1007/s00572-017-0775-y
- Sadeghzadeh Hallaj, M.H., Azadfar, D., & Mirzaei Nodoushan, H. (2018). Effect of artificial shading and soil humidity on allocation of some nutrients in the organs of wild pistachio saplings. *Iranian Journal of Forest*, 10 (1), 43-54 (In Persian).
- Sadeghzadeh Hallaj, M.H., Azadfar, D., Mirzaei Nodoushan, H., & Eskandari, S. (2022). Shade moderates the drought stress on saplings of Beneh (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *mutica*) in semiarid areas of Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 29 (3), 1-12. DOI: 10.1007/s11356-022-19635-8
- Shayesteh Pahangeh, E., Aliarab, A., Sadati, S.E., Espahbodi, K., & Karimian, Z. (2022). Effect of soil moisture content on survival, growth, and physiological characteristics of wild cherry (*Prunus avium* L.) seedlings. *Iranian Journal of Forest*, 13(5), 57-69. DOI:10.22034/IJF.2022.318436.1832
- Visen, A., Bohra, M., Singh, P.N., Srivastava, P.C., Kumar, S., Sharma, A.K., & Chakraborty, B. (2017). Two pseudomonad strains facilitate AMF mycorrhization of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) and improving phosphorus uptake. *Rhizosphere*, 3, 196-202. DOI:10.1016/j.rhisph.2017.04.006
- Wu, Q.S., & Zu, Y.N. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and tolerance of drought stress in plants. In Q.S. Wu (Ed.) *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants* (pp. 25- 41). Singapore: Springer. DOI:10.1007/978-981-10-4115-0_2



Research Article

Response of wild Pistachio seedlings to inoculation with microorganisms under two moisture levels in greenhouse

N. Armand¹, A. Shirvany^{2*}, M. Matinizadeh³, and M. Teimouri⁴

¹ Ph.D. Student of Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran.

² Associate Prof., Dept. of Forestry, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran

³ Associate Prof., of Research Institute of Forests and Rangelands, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I. R. Iran.

⁴ Assistant Prof., of Research Institute of Forests and Rangelands, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I. R. Iran.

(Received: 15 December 2021; Accepted: 3 October 2022)

Abstract

Wild Pistachio (*Pistacia atlantica* var. *mutica* Rech. f.) is an important tree species in the forests of Iran that has faced many challenges in its natural restoration. This study investigated the interaction effects of *Funneliformis mosseae*, MycoRoot biofertilizer, and *Pseudomonas fluorescens* on *Pistacia atlantica* seedlings under two water treatments: 100% field capacity as a non-stress treatment and 50% field capacity as a drought stress treatment. Decreased soil moisture reduced the growth (root collar diameter, shoot and root fresh weight, shoot dry weight) of *Pistacia atlantica* seedlings. The interaction of mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria on seedling growth, as well as chlorophyll, carotenoid, and leaf proline content, was significant at the 5% level. The highest stem height was observed in the combined treatment of *Funneliformis mosseae* and *Pseudomonas fluorescens* (24.54 cm) under non-stress conditions, while the shortest belonged to the control treatment (8.8 cm) under drought stress conditions. Proline content in seedlings inoculated with *Funneliformis mosseae* in the presence of *Pseudomonas fluorescens* was higher (8.87 $\mu\text{mol/g}$) than other treatments, and this treatment was more effective in reducing drought stress symptoms than other treatments. Under non-stress conditions, the presence of *Pseudomonas fluorescens* alone did not play a significant role in improving seedling growth, but its positive effects on growth appeared when interacting with mycorrhizal fungi and during drought. Although this research observed that mycorrhizal and bacterial seedlings had better growth than control seedlings and that microorganisms had the same effect as irrigation on some growth characteristics, it is necessary to conduct similar additional experiments in nurseries and natural habitats on *P. atlantica* seedlings using different irrigation levels to confirm these results.

Keywords: Phosphate-solubilizing bacteria, drought stress, arbuscular mycorrhizal fungi, wild pistachio seedling.