Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Wood and Forest Science and Technology

Print ISSN: 2322-2077
Online ISSN: 2322-2786

Root formation of semi-hardwood cuttings of *Vaccinium arctostaphylos* L. (Caucasian whortleberry) under the influence of Indole -3- butyric acid treatments and inoculation of growth promoting rhizobacteria

Younes Rostamikia[*1], Maryam Teimouri[2], Farnoush Jafari[3]

1. Corresponding Author, Assistant Prof., Forests and Rangelands Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ardabil, Iran. E-mail: younesrostamikia@gmail.com
2. Assistant Prof., Forest Research Department, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: mteimouri@rifr-ac.ir
3. Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ardabil, Iran. E-mail: f.jafari@areeo.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 10.29.2022
Revised: 01.08.2023
Accepted: 01.09.2023

Keywords:
Auxin,
Callusing,
Caucasian whortleberry,
Rooting

ABSTRACT

Background and Objectives: *Vaccinium arctostaphylos* L. is a forest shrub that plays a significant role in the formation, development, and improvement of the structure of beech forest stands. Currently, the irregular collection and harvesting of the fruit of this species, due to its medicinal properties and high economic value even before the fruit fully ripens, has endangered the existence of this species. *Vaccinium arctostaphylos* is a recalcitrant plant and therefore its propagation by conventional asexual methods is almost impossible. The aim of this research is to determine the effect of auxin and inoculation of growth promoting rhizobacteria on callus formation, root formation and growth traits cuttings.

Materials and Methods: The semi hardwood cuttings of *V. arctostaphylos* were collected at the end of August from the natural habitat of this species (Soha forest) located in the south-east of Ardabil Fandoghlou Forest. For surface sterilization cuttings were washed with water and 2% Benomyl fungicide solution for 15 minutes. In order to stimulate root induction, the bottom of the cuttings was scratched with a sharp knife to a length of one centimeter and a depth of approximately 2 mm. Cuttings were treated with concentrations of 0, 500, 1000, 2000, 3000 and 4000 mg/ L of Indole -3-butyric acid and then were inoculated with two bacteria including *Pseudomonas putida* STRAIN 169 and *Enterobacter cloacae* STRAIN 3, alone and together. Cuttings were planted in perlite - sand medium and then they were kept in a mist system-equipped greenhouse. After 90 days from planting, percentage of callus formation, root formation, number of roots, root length, root dry weight, root volume, leaf area, and seedlings height were recorded.

Results: In the control cuttings (without the application of hormones and bacteria) and the cuttings treated with 500 mg L^{-1} of IBA with and without *P. putida* and *E. cloacae* callus and root formation were not performed. The highest callus formation (50.20%), root formation (41.10%), root number (3.22), root length (3.55 cm), root dry weight (0.355 g), root volume (0.358 cm^3), leaf area (8.88 cm^2) and height cutting (14.07 cm) was observed in cuttings that were treated by Indole -3-butyric acid 3000 mg/L and inoculated with both *P. putida* and *E. cloacae*.

Conclusion: The present study showed that *V. arctostaphylos* is one of the recalcitrant species, then, for more succeed in cuttings root induction, it is therefore suggested that semi-woody cuttings should be collected in August and cuttings should be treated by a concentration of 3000 mg/L of Indole -3-butyric acid along with inoculation of both *P. putida* and *E. cloacae* bacteria.

Cite this article: Rostamikia, Younes, Teimouri, Maryam, Jafari, Farnoush. 2023. Root formation of semi-hardwood cuttings of *Vaccinium arctostaphylos* L. (Caucasian whortleberry) under the influence of Indole -3- butyric acid treatments and inoculation of growth promoting rhizobacteria. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 29 (4), 43-55.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JWFST.2023.20699.1988
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۷۷
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۸۶

ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه خشبی سیاه‌گیله (*Vaccinium arctostaphylos* L.) تحت‌تأثیر هورمون ایندول–۳– بوتیریک اسید و باکتری‌های محرک رشد

یونس رستمی‌کیا*[۱]، مریم تیموری[۲]، فرنوش جعفری[۳]

۱. نویسنده مسئول، استادیار پژوهش، بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران. رایانامه: younesrostamikia@gmail.com

۲. استادیار پژوهش، بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: mteimouri@rifr-ac.ir

۳. مدرس، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران. رایانامه: f.jafari@areeo.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۷
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۹

واژه‌های کلیدی:
اکسین،
ریشه‌زایی،
سیاه‌گیله،
کالوس‌زایی

چکیده

سابقه و هدف: سیاه‌گیله (*Vaccinium arctostaphylos* L.) درختچه‌ای است جنگلی که نقش بسیار زیادی در شکل‌گیری، تکامل و بهبود ساختار توده‌های جنگلی راش دارد. در حال حاضر جمع‌آوری و برداشت بی‌رویه میوه این گونه (به دلیل خواص دارویی و ارزش اقتصادی بالا) حتی قبل از رسیدن کامل میوه به‌صورت نارس در منطقه مورد مطالعه، موجودیت این گونه را به خطر انداخته است. این گونه سخت ریشه‌زا است و ازاین‌رو تکثیر آن با روش‌های متداول غیرجنسی تقریباً امکان‌پذیر نمی‌باشد. هدف از این پژوهش، تعیین تأثیر اکسین و مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد بر ریشه‌زایی و صفات رویشی قلمه‌های سیاه گیله است.

مواد و روش‌ها: قلمه‌های نیمه‌خشبی سیاه‌گیله در اواخر مردادماه از رویشگاه طبیعی این گونه (جنگل سوها) واقع در جنوب‌شرقی جنگل فندقلوی اردبیل جمع‌آوری و پس از شستشوی سطحی با آب با محلول قارچ‌کش بنومیل با غلظت دو در هزار به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. به‌منظور تحریک تولید ریشه، در قسمت تحتانی قلمه‌ها با استفاده از چاقو، روی پوست یک بریدگی به‌صورت مورب به طول یک سانتی‌متر و ضخامت دو میلی‌متر ایجاد شد و با غلظت‌های صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ایندول –۳– بوتیریک اسید تیمار و سپس با باکتری‌های Pseudomonas *putida* STRAIN 169 و Enterobacter *cloacae STRAIN* 3 به‌صورت مجزا و ترکیبی مایه‌زنی شدند. قلمه‌ها در بستر کاشت مخلوط ماسه- پرلیت (۱:۱) در گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کاشته شدند و ۹۰ روز پس از کاشت، صفات کالوس‌زایی، ریشه‌زایی، تعداد ریشه، طول ریشه، وزن خشک ریشه، سطح برگ و ارتفاع نهال اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: در قلمه‌های شاهد (بدون تیمار هورمون ایندول-۳- بوتیریک اسید و باکتری) و قلمه‌هایی که در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هورمون ایندول -۳- بوتیریک اسید همراه با و بدون باکتری *P. putida* و *E. cloacae* تیمار شده بودند، کالوس‌زایی و ریشه‌زایی انجام نشد. بیش‌ترین مقدار کالوس‌زایی (۵۰/۲ درصد)، ریشه‌زایی (٤١/١ درصد)، تعداد ریشه (۳/۲۲ عدد)، طول ریشه (۳/۵۵ سانتی‌متر)، وزن خشک ریشه (۰/۳۵۸ گرم)، حجم ریشه (۱/۷۹ سانتی‌متر مکعب)، سطح برگ (۸/۸۸ سانتی‌متر مربع) و ارتفاع نهال (١٤/٠٧ سانتی‌متر) در ترکیب تیمار غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ایندول-۳- بوتیریک اسید و مایه‌زنی تلفیقی با دو باکتری مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر نشان داد سیاه‌گیله از گونه‌های سخت‌ریشه‌زا به شمار می‌رود و کاربرد ایندول-۳- بوتیریک اسید برای ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه‌خشبی آن ضروری است. برای تکثیر رویشی آن از قلمه‌های نیمه‌خشبی جمع‌آوری‌شده در مردادماه، تیمار با هورمون ایندول -۳- بوتیریک اسید (غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) همراه با مایه‌زنی ترکیبی دو باکتری *P. putida* و *E .cloacae* پیشنهاد می‌گردد.

استناد: رستمی‌کیا، یونس، تیموری، مریم، جعفری، فرنوش (۱۴۰۱). ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه خشبی سیاه‌گیله (*Vaccinium arctostaphylos* L.) تحت‌تأثیر هورمون ایندول-۳- بوتیریک اسید و باکتری‌های محرک رشد. *نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل*، ۲۹ (۴)، ۵۵-۴۳.

DOI: 10.22069/JWFST.2023.20699.1988

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

سیاه‌گیله (*Vaccinium arctostaphylos* L.) متعلق به خانواده Eriacaceae است (۱). این گونه بومی نواحی جنگلی آسیا، قفقاز (۲)، سیبری، آمریکای شمـالی و نواحی مدیترانه‌ای اروپـا است (۳). در ایران این گونه در جنگل‌های شمال کشور به‌طور عمده در ارتفاعات استان گیلان از جمله ارتفاعات تالش، اسالم و فومن، ارتفاعات کلاردشت و لاجیم استان مازندران (۲) و منطقه جنگلی فندقلوی اردبیل (سقزچی، حور، شغال درق و سوها) در ارتفاع ۱٤٥۰ تا ۱۸٥۰ متر از سطح دریا انتشار دارد (٤). میوه این گونه به دلیل دارا بودن مواد فنلی، آنتوسیانین و پروسیانیدین در درمان بیماری‌های مختلف از جمله چربی خون، دیابت و فشار خون کاربرد دارد (٥، ٦). حضور این گونه در زیراشکوب جنگل‌های راش نقش بسیار زیادی در شکل‌گیری، تحول، تکامل و بهبود ساختار توده دارد (۷). در حال حاضر جمع‌آوری و برداشت بی‌رویه میوه این گونه (به دلیل خواص دارویی و ارزش اقتصادی بالا) حتی قبل از رسیدن کامل میوه به‌صورت نارس (مشاهدات نگارندگان) در منطقه مورد مطالعه، موجودیت این گونه را به خطر انداخته است که اگر شرایط موجود ادامه یابد در آینده نزدیک با خطر تخریب رویشگاه‌ها و انقراض این گونه ارزشمند مواجه خواهیم بود (٤). جنس *Vaccinium* از طریق بذر، قلمه، کشت بافت و پیوند تکثیر می‌شود (۳). با توجه این‌که بذرهای این جنس با مشکلاتی مانند خواب فیزیولوژیک، جوانی‌زنی اندک و نامنظم و کند بودن مراحل تکثیر همراه است (۸، ۹). ازاین‌رو تولید نهال از طریق ریشه‌دار کردن قلمه ساقه یکی از مهم‌ترین روش‌های تکثیر و توسعه جنس *Vaccinium* است (۳، ۱۰، ۱۱). تحریک ریشه‌زایی یک فرآیند پیچیده رشدی است که منعکس‌کننده انعطاف‌پذیری گیاهان برای سازگاری در شرایط جدید است (۱۲). در حال حاضر، تکثیر رویشی، به دلیل کوتاه بودن مراحل تکثیر، انتخاب و نگهداری کلن‌ها، حفاظت از پایه‌های نخبه و امکان ایجاد باغ بذر نسبت به تکثیر زایشی مزیت دارد (۱۳). بااین‌حال، دشواری ازدیاد جنس *Vaccinium* از طریق قلمه هم یکی از عوامل اصلی گسترش محدود آن گزارش شده است (۱٤). در حال حاضر هیچ‌گونه اطلاعاتی در خصوص رفتار ریشه‌زایی و تولید نهال‌های قلمه‌رست سیاه گیله در داخل و خارج از کشور وجود ندارد ولی در مورد سایر گونه‌های *Vaccinium* گزارش‌های زیادی منتشر شده است.

یاماموتو و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثر بستر کاشت و غلظت‌های مختلف ایندول- ۳- بوتیریک اسید (IBA) بر ریشه‌زایی و صفات رشدی قلمه‌های سبز *Vaccinium ashei* گزارش کردند. بیش‌ترین ریشه‌زایی (٥۸ درصد)، تعداد ریشه (٤/۳ عدد)، طول ریشه (٤/۱ سانتی‌متر) با استفاده از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA در بستر کاشت پوسته برنج کربنیزه به دست آمد (۱٥).

بررسی تأثیر بستر کاشت و غلظت‌های مختلف IBA بر ریشه‌زایی ریز قلمه‌های نیمه‌خشبی *V. ashei* نشان داد استفاده از بستر پوسته کاج و غلظت۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم IBA، بیش‌ترین تأثیر را بر ریشه‌زایی (۳٦/۲ درصد) و وزن خشک ریشه (۲۷/۱۰ میلی‌گرم) در مقایسه با شاهد دارد (۱٦).

براها و راما (۲۰۱۸) بیش‌ترین مقدار ریشه‌زایی را در قلمه‌های سبز *V. corymbosum* با ٦۲/۲ درصد، قلمه‌های نیمه‌خشبی با ۷۹/٥ درصد و قلمه‌های خشبی با ۸۲/۷ درصد در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA گزارش کردند (۱۷).

در پژوهش دیگری که توسط هیگوچی و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد ۷۰ درصد ریشه‌زایی در

قلمه‌های نیمه‌خشبی (تابستانه) و ٦۱ درصد ریشه‌زایی در قلمه‌های خشبی (پاییزه) را در گونه *V. ashei* با تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA مشاهده کردند (۱۸).

در سال‌های اخیر از روش‌های جدید برای تحریک و القای ریشه‌زایی قلمه‌های سخت ریشه‌زا از جمله تلقیح باکتری‌های محرک رشد (کودهای زیستی) مانند *Agrobacterium rhizogenes* (۱۹) و برخی گونه‌های جنس *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Alcaligenes* و *Streptomyces* استفاده شده است. این باکتری‌ها علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و مبارزه با عوامل بیماری‌زای گیاهی از طریق تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها و هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به‌ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکینین (۲۰) موجب تسریع ریشه‌زایی، افزایش سطح ریشه، بهبود توانایی ریشه در جذب آب و مواد غذایی و به دنبال آن افزایش رشد گیاه می‌شوند (۲۱).

کاراکورت و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند تلقیح باکتری *Agrobacterium rubi* A-18 می‌تواند ریشه‌زایی (۲۰ درصد) و طول ریشه (۱/۷۲ سانتی‌متر) و *Bacillus subtilis* OSU-142 ریشه‌زایی (۲۰ درصد)، قلمه‌های چوبی سیب (*Malus alba* L.) را در مقایسه با شاهد افزایش دهد (۲۲).

اثر تیمارهای IBA، باکتریایی بر ریشه‌زایی قلمه‌های زالزالک ایرانی (*Crataegus pseudoheterophylla*) نشان داد ترکیب IBA (٤۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) با باکتری *Pseudomonas fluorescens* مشخصه‌های ریشه‌زایی و رشد را نسبت به شاهد افزایش داد و بیش‌ترین وزن خشک و میزان کلروفیل نهال‌ها با این تیمار به دست آمد (۲۳).

صفری مطلق و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند بیش‌ترین مقدار صفات رشدی مانند ارتفاع ساقه (۳٤/۳ سانتی‌متر) و وزن خشک ریشه (۱٦/٦ گرم) قلمه‌های ریشه‌دار شده زیتون (*Olea europaea*) در تیمار ترکیبی۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA و *P. fluorescens* به دست آمد (۲٤).

در حال حاضر، رویشگاه‌های سیاه‌گیله به دلیل پراکنش محدود، مشکلات زادآوری به دلیل داشتن بذرهایی با خواب فیزیولوژیکی و تغییرات اقلیمی در معرض خطر تهدید قرار گرفته است. ازاین‌رو، شناخت رفتار ریشه‌زایی این گونه می‌تواند برای توسعه نهالکاری‌ها و حفاظت از ژرم‌پلاسم آن مؤثر باشد. این پژوهش با هدف ارزیابی اثر سطوح مختلف ایندول-۳- بوتیریک اسید (IBA) در ترکیب با باکتری‌های محرک رشد بر درصد ریشه‌زایی و صفات رشدی قلمه‌های نیمه‌خشبی سیاه‌گیله انجام شد.

مواد و روش‌ها

در اواخر مردادماه ۱۳۹۸ قلمه‌های نیمه‌خشبی به قطر ۸-٦ میلی‌متر و طول ۱۲-۸ سانتی‌متر (حداقل با چهار جوانه جانبی) از شاخه‌های یک‌ساله درختچه‌های سیاه‌گیله از پایه‌های مادری سالم با ویژگی‌های یکسان (از نظر قطر و ارتفاع) از رویشگاه طبیعی این گونه (جنگل سوها) واقع در جنوب‌شرقی جنگل‌های فندقلوی اردبیل با عرض جغرافیایی "۳۸°۱٦´۲٤ و طول جغرافیایی"۳۵´٤۱°٤۸ و متوسط ارتفاع ۱۵۷۰ متر از سطح دریا تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل منتقل شدند. قلمه‌ها پس از شستشوی سطحی با آب با محلول قارچ‌کش بنومیل با غلظت دو در هزار به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی و دوباره با آب شستشو داده شدند. به‌منظور تحریک تولید ریشه، در قسمت تحتانی قلمه‌ها با استفاده از چاقو، روی پوست یک بریدگی به‌صورت مورب به طول یک سانتی‌متر و ضخامت دو میلی‌متر ایجاد شد (۱۸).

قلمه‌ها قبل از کشت، در محلول‌هایی با غلظت‌های ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ٤۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA (تولید شرکت مرک آلمان) و آب مقطر (غلظت صفر) به مدت ۱۰ ثانیه قرار داده شدند (١٦) و پس از خشک شدن، انتهای قلمه‌ها به‌مدت ٦۰ دقیقه در مایه تلقیح باکتری *Pseudomonas putida* STRAIN 169 و *Enterobacter cloacae* STRAIN 3 ترکیب‌شده با صمغ عربی ۲۰ درصد به‌طور مجزا نگهداری شدند. قلمه‌های تیمار شده در گلخانه گرم (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) با بستری که قبلاً با مخلوط نسبت حجمی ۱:۱ از ماسه و پرلیت (استریل شده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه) کاشته شدند (۱۷). لازم به ذکر است تعداد ٦۰ قلمه در سه تکرار (۲۰ قلمه در هر تکرار) (بدون استفاده از IBA و بدون تلقیح باکتری) به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. در پژوهش حاضر، مایه تلقیح باکتری‌ها *P. putida* و *E. cloacae* با جمعیت 10^{7} در هر میلی‌لیتر، از بخش بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد.

آزمایش در گلخانه مجهز به سیستم مه‌پاش با فاصله زمانی پاشش روزها هر ٤۵ دقیقه و شب‌ها هر ٦۰ دقیقه با مدت‌زمان پاشش ۲۰ ثانیه و شرایط رطوبتی ۷۰ درصد و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ١٦ درجه سانتی‌گراد در شب برای یک فصل رویش انجام گرفت. شدت نور به‌وسیله نورسنج (LI-COR، Li250، USA) سنجیده شد طوری که در اوایل دوره کشت به دلیل تاریک نمودن محیط جهت ریشه‌زایی قلمه‌ها، ۱۸۵ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و سپس با روشن نمودن محیط گلخانه به‌صورت تدریجی، میزان شدت نور به میزان ۵۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه رسید. رطوبت نسبی اطراف قلمه‌ها، ۸۵ تا ۹۰ درصد با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج تنظیم شد (۱۷).

در انتهای آزمایش (۹۰ روز بعد از کاشت)، تعداد ۱۰ قلمه از هر تکرار به‌آرامی از گلدان بیرون آورده شدند و صفات درصد کالوس‌زایی و ریشه‌زایی، تعداد ریشه (ریشه‌های روی کالوس و قلمه)، طول ریشه، وزن خشک ریشه، حجم ریشه (از طریق غوطه‌ور کردن ریشه در آب و اندازه‌گیری مقدار آب جابجایی در استوانه مدرج برحسب سانتی‌مترمکعب) ارتفاع نهال و سطح برگ اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه، نمونه‌ها به مدت ٤۸ ساعت در دستگاه آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (۲۵). برای تعیین سطح برگ، سه برگ سالم و کاملاً توسعه‌یافته از بالاترین قسمت هر نهال برداشت‌شده و با دستگاه اسکنر Leaf Area Meter اندازه‌گیری شدند (۲٦).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور شامل غلظت ایندول -۳- بوتیریک اسید در شش سطح (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ ، ۳۰۰۰ و ٤۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و مایه‌زنی باکتری در چهار سطح (شاهد، *P. putida*، *E. cloacae* و ترکیب دو باکتری) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار ۲۰ قلمه سیاه‌گیله (٦۰ قلمه در هر تیمار) انجام شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت. نرمال بودن داده‌ها با آزمون نرمالیته کولموگروف- اسمیرونوف و همگنی واریانس داده‌ها از طریق آزمون لون (Levene) تعیین شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر، اثر سطوح مختلف هورمون ایندول-۳- بوتیریک اسید (IBA) در ترکیب با باکتری‌های *P. putida* و *E. cloacae* بر انگیزش ریشه‌زایی و صفات رشدی قلمه‌های نیمه‌خشبی سیاه‌گیله بررسی شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد

اثرات اصلی هورمون IBA و مایه‌زنی باکتری و نیز اثرات متقابل آن‌ها بر تمام صفات مورد بررسی در سطح خطای کم‌تر از یک درصد و پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). قلمه‌های شاهد (بدون تیمار هورمون و باکتری) کالوس‌زایی و ریشه‌زایی نداشتند. از دلایل عمده آن می‌توان به کم بودن سطح هورمون و آغازنده‌های ریشه در قلمه‌های جنس *Vaccinium*، وجود مواد فنلی و لیگنینی شدن بافت‌های استحکامی مانند لایه اسکلرانشیم که سبب کاهش سریع آب بافت ساقه می‌شوند، اشاره کرد (۱٦).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تیمارهای غلظت‌های مختلف ایندول-۳- بوتیریک اسید و تلقیح باکتری بر صفات رویشی قلمه‌های سیاه‌گیله.

Table 1. Analysis of variance of effect of IBA concentration and bacterial inoculation on growth traits of Caucasian Whortleberry cuttings.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کالوس‌زایی Callous formation	ریشه‌زایی Root formation	تعداد ریشه N. of root	طول ریشه Root length	وزن خشک ریشه Dry weight of root	حجم ریشه Root volume	سطح برگ Leaf area	ارتفاع Height
غلظت ایندول-۳- بوتیریک اسید IBA concentration	5	99.24**	202.62*	112.27**	39.33*	104.09**	62.09*	82.44**	78.07*
باکتری Bacterium	3	62.11*	20.24*	121.45*	67.16*	113.34**	51.21*	105.07**	132.20*
ایندول-۳- بوتیریک اسید× باکتری IBA×Bacteria	15	45.61**	71.09**	66.68**	80.05**	39.19**	4.05*	55.10*	54.03**
ضریب تغییرات Coefficient of variation	-	13.18	9.23	16.30	12.23	17.09	9.09	10.32	16.78

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

** and * significant at 1 and 5% respectively

نتایج این پژوهش نشان داد در قلمه‌های سیاه‌گیله که فقط با باکتری‌های *P. putida* و *E. cloacae* مایه‌زنی شده‌اند کالوس‌زایی و ریشه‌زایی صورت نگرفت. حتی مایه‌زنی هم‌زمان باکتری و تیمار با غلظت پایین IBA (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز موجب ریشه‌زایی در قلمه‌ها نشد. این امر نشان‌دهنده نقش مهم اکسین در تحریک بافت مریستمی انتهای ریشه است (۱٤، ۱٦)، که از طریق القاء و تحریک تقسیم سلولی با افزایش غلظت کربوهیدرات و هیدرولیز آنزیم‌ها در منطقه ریشه سبب افزایش درصد ریشه‌زایی می‌شود (۱۳). ازاین‌رو می‌توان نتیجه گرفت قلمه‌های سیاه‌گیله سخت ریشه‌زا هستند و برای دستیابی به ریشه‌زایی مطلوب باید تیمارهای هورمونی به کار گرفته شوند. در این زمینه گزارش‌های متعددی در خصوص سخت ریشه‌زا بودن و عدم ریشه‌زایی قلمه‌های جنس *Vaccinium* بدون حضور هورمون‌های اکسینی وجود دارد که اشاره داشتند برای تحریک ریشه‌زایی باید از تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اکسین با غلظت بهینه استفاده کرد (۱٤، ۱۵، ۱٦، ۱۷، ۱۸).

در پژوهش حاضر، مراحل کالوس‌زایی (۱۰/٤ درصد) و ریشه‌زایی (٤/۳ درصد) در قلمه‌های نیمه‌خشبی در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد (جدول ۲). به‌عبارت‌دیگر غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌عنوان یک آغازگر در کالوس‌زایی و ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه‌خشبی نقش داشت. درحالی‌که Higuchi و همکاران (۲۰۲۱) با کاربرد ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA بر *V. ashei*، به ۷۰ درصد ریشه‌زایی در قلمه‌های نیمه‌خشبی (تابستانه) و ٦۱ درصد ریشه‌زایی در قلمه‌های خشبی (پاییزه) رسیدند (۱۸) که با نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش ما مطابقت ندارد. بیش‌تر بودن درصد ریشه‌زایی را می‌توان به متفاوت بودن نوع گونه، مقدار هورمون درونی، شرایط محیطی، مقدار و ترکیبات هیدروکربنی و مواد فنلی در پوست قلمه‌ها نسبت داد (۱٦). نتایج نشان داد در بین تیمارهای شاهد (بدون استفاده از باکتری) بیش‌ترین مقدار کالوس‌زایی (۳۲/۱ درصد)، ریشه‌زایی (۲۵/٤ درصد)، تعداد ریشه (۳/۵۱ عدد)، طول ریشه (٤/٤۳ سانتی‌متر)، حجم ریشه (۱/۱۰ سانتی‌متر مکعب) (جدول ۲) و سطح برگ با ۷/۰۹ سانتی‌متر مربع (شکل ۱) و ارتفاع قلمه‌ها با ۱۰/۱ سانتی‌متر (شکل ۲) در تیمار ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد که با نتایج براها و راما (۲۰۱۸) در مورد قلمه‌های نیمه‌خشبی *V. corymbosum* (۱۷) و کلومبو و همکاران (۲۰۱۸) در مورد قلمه‌های نیمه‌خشبی *V. ashei* (۱٦) هم‌خوانی دارد.

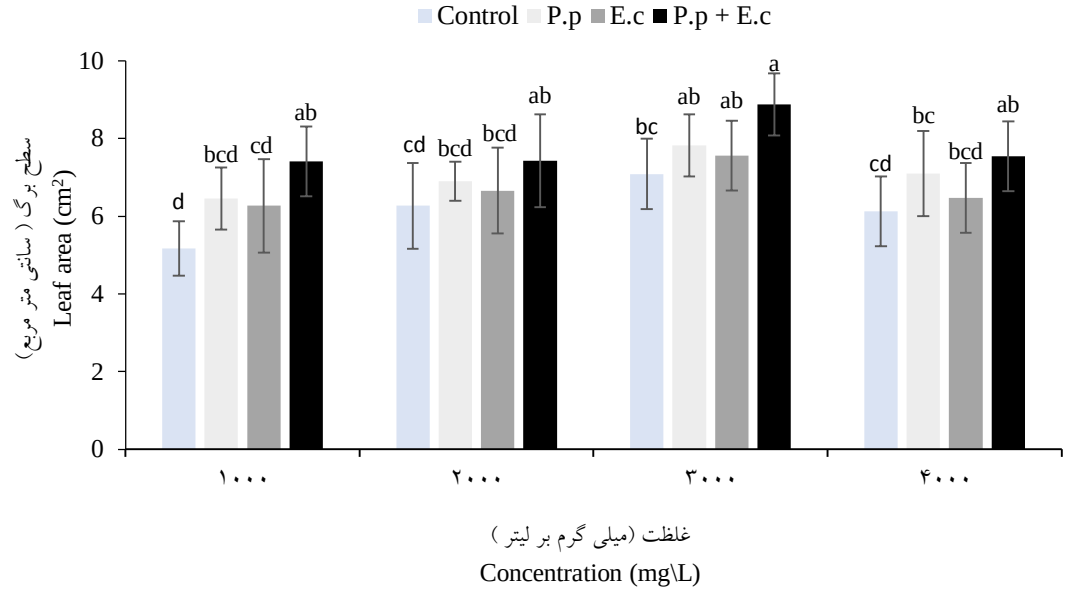
جدول ۲- مقایسه میانگین± اشتباه معیار اثر متقابل غلظت هورمون ایندول-۳- بوتیریک اسید × تلقیح باکتری بر صفات رویشی قلمه‌های سیاه‌گیله.

Table 2. Mean ± std error of the interaction effect of IBA concentration on bacteria inoculation on growth traits of Caucasian Whortleberry cuttings.

تیمار (Treatment)							
غلظت ایندول- ۳- بوتیریک اسید IBA concentration (mg/L)	باکتری Bacteria	کالوس‌زایی Callous formation (%)	ریشه‌زایی Root formation (%)	تعداد ریشه N. of Root	طول ریشه Root length (cm)	وزن خشک ریشه Dry weight of Root (g)	حجم ریشه Root volume (cm^3)
1000	شاهد (Control)	10.4±1.3^{h}	4.3±0.9^{g}	2.22±0.19^{f}	3.15±0.9 ^{g}	0.121±0.02^{f}	0.94±0.11 ^{d}
	P. p	18.1±1.7^{fg}	13.3±1.4^{ef}	2.81±0.15^{de}	3.63±0.14 ^{ef}	0.170±0.04^{def}	1.22±0.23 ^{bcd}
	E. c	14.9±2.1^{fgh}	11.6±1.1^{efg}	2.70±0.22^{def}	3.50±0.16^{efg}	0.127±0.04^{f}	1.07±0.21 ^{cd}
	P. p+ *E. c*	20.3±1.7^{efg}	19.5±2.6^{cde}	3.42±0.44^{cde}	4.04±0.28^{def}	0.178±0.02^{def}	1.33±0.16 ^{bc}
2000	شاهد (Control)	24.9±2.7^{def}	18.4±1.6^{cde}	2.64±0.18^{ef}	4.25±0.13 ^{de}	0.164±0.02^{ef}	1.14±0.15^{cd}
	P. p	36.1±4.2^{bc}	25.3±2.2^{bc}	2.84±0.31^{de}	4.59±0.29 ^{bcd}	0.236±0.03^{bcd}	1.10±0.12 ^{cd}
	E. c	28.2±2.9^{cde}	21.7±3.2^{cd}	2.71±0.39^{def}	2.30±0.24^{de}	0.221±0.02^{cd}	1.07±0.13^{cd}
	P. p+ *E. c*	40.4±5.6^{b}	27.8±2.7^{b}	4.43±0.33^{cde}	5.29±0.44^{ab}	0.283±0.04^{bc}	1.33±0.15 ^{bc}
3000	شاهد (Control)	32.1±2.3^{cd}	25.4±1.9^{bc}	3.51±0.21^{cde}	4.43±0.29^{cde}	0.238±0.03^{bcd}	1.10±0.88 ^{cd}
	P. p	37.7±4.5^{b}	29.9±2.7^{b}	3.84±0.29^{b}	4.94±0.45^{b}	0.304±0.05^{ab}	1.55±0.94 ^{b}
	E. c	35.9±4.6^{bc}	25.9±3.1^{bc}	3.55±0.34^{cd}	4.76± 0.22^{bc}	0.256±0.05^{bc}	1.13±.14 ^{bcd}
	P. p+ *E. c*	50.2±5.9^{a}	41.1±4.4^{a}	4.22±0.66^{a}	5.55±0.48^{a}	0.358±0.02^{a}	1.79±0.19 ^{a}
4000	شاهد (Control)	24.1±2.4^{def}	19.4±1.4^{cde}	2.84±0.33^{de}	4.09±0.17 ^{def}	0.179±0.06^{def}	1.04±0.10 ^{cd}
	P. p	28.9±3.7^{cde}	15.8±1.5^{def}	3.50±0.81^{cd}	4.21±0.26 ^{de}	0.236±0.06^{bcd}	1.20±0.07 ^{bcd}
	E. c	22.6±3.9^{ef}	11.5±2.2^{efg}	3.41±0.46^{cde}	4.08±0.31^{def}	0.217± 0.03^{cd}	1.08±0.16 ^{cd}
	P. p+ *E. c*	28.5±3.3^{cde}	18.9±2.6^{cde}	3.59±0.34^{cd}	4.29±0.34^{de}	0.253±0.05^{bc}	1.52±0.14 ^{b}

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار آماری ندارند

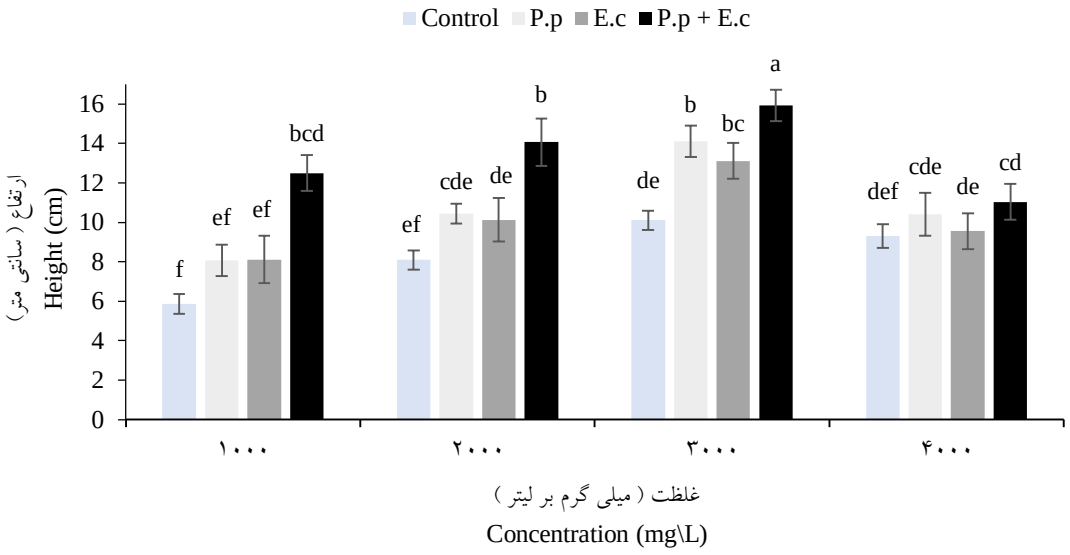
In each column, the averages that have common letters do not have a statistically significant difference at the 5% probability level



شکل ۱- میانگین ± اشتباه معیار اثر متقابل غلظت مختلف ایندول- ۳- بوتیریک اسید در تلقیح باکتری بر سطح برگ قلمه‌های سیاه‌گیله.

میانگین‌هایی با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال خطای پنج درصد با یکدیگر ندارند.

Figure 1. Mean ± std error of the interaction effect of IBA concentration × bacteria inoculation on the leaf area of Caucasian Whortleberry cuttings. Means with the same letters indicate no significant difference at the 5% error level.



شکل ۲- میانگین ± اشتباه معیار اثر متقابل غلظت مختلف ایندول- ۳- بوتیریک اسید در تلقیح باکتری بر ارتفاع قلمه‌های سیاه‌گیله.

میانگین‌هایی با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال خطای پنج درصد با یکدیگر ندارند.

Figure 2. Mean ± error of the interaction effect of IBA concentration on bacteria inoculation on the height of Caucasian Whortleberry cuttings. Means with the same letters indicate no significant difference at the 5% error level.

در پژوهش پیش‌رو، بیش‌ترین مقدار کالوس‌زایی (۵۰/۲ درصد)، ریشه‌زایی (٤١/١ درصد)، تعداد ریشه (۳/۲۲ عدد)، طول ریشه (۳/۵۵ سانتی‌متر)، وزن خشک ریشه (۰/۳۵۸ گرم) و حجم ریشه (۱/۷۹ سانتی‌مترمکعب) با اعمال تیمار ترکیبی قرار دادن انتهای قلمه در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و مایه‌زنی هم‌زمان دو باکتری *P. putida* و *E. cloacae* مشاهده گردید (جدول ۲). به نظر می‌رسد کاربرد هم‌زمان دو باکتری در مقایسه با استفاده مجزای آن‌ها اثر هم‌افزایی قوی‌تری را با ایندول -۳- بوتیریک اسید (IBA) داشته است و تولید بیش‌تری از تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اکسین و متابولیت‌های ثانویه در این باکتری‌ها را سبب شده است. طوری که با تغییرات اولیه در القاء کالوس، سبب افزایش درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه قلمه‌ها می‌شود. ثابت شده است باکتری‌های محرک رشد از طریق توسعه ریشه و جذب کربن و نیتروژن بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارند (۲۰).

تأثیر مثبت کاربرد هم‌زمان IBA و باکتری‌های محرک رشد بر ریشه‌زایی و صفات رویشی قلمه‌ها توسط بسیاری از پژوهش‌گران گزارش شده است که از جمله می‌توان به افزایش ریشه‌زایی قلمه‌های سبز و قلمه نیمه‌خشبی *Prunus cerasus* در تیمار ترکیبی IBA و باکتری *Agrobacterium rubi* A18، قلمه‌های چوبی سیب (*Malus alba* L.) در تیمار با باکتری *Bacillus subtilis* و IBA، قلمه‌های نیمه‌خشبی زیتون (*Olea europea*) و زالزالک (*Crataegus pseudoheterophylla* Pojark) در تیمار ترکیبی IBA و باکتری *P. fluorescens* (۲۲، ۲۳، ٢٤) اشاره کرد که با یافته‌های ما مطابقت دارد. در حقیقت، باکتری‌های محرک رشد با تولید هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به‌ویژه انواع اکسین (۲۰)، سبب افزایش درصد ریشه‌زایی، سطح ریشه، توانایی ریشه در جذب آب و مواد غذایی و به دنبال آن رشد گیاه می‌شوند (۲۱). باکتری‌های محرک رشد علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک با تولید مقادیر قابل‌ملاحظه مواد و هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به‌ویژه انواع اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها، رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (۲۱).

صرف‌نظر از مایه‌زنی ترکیبی دو باکتری، بر اساس نتایج به‌دست‌آمده (جدول ۲)، بیش‌ترین اندازه صفات رویشی قلمه‌ها در تیمار مجزای باکتری *P. putida* در مقایسه با باکتری *E. cloacae* مشاهده شد. اثر مثبت باکتری‌های جنس *Pseudomonaceae* بر صفات رویشی، فیزیولوژیک و عناصر تغذیه‌ای (به‌ویژه فسفر) نهال‌های ریشه‌دار شده توسط پژوهش‌گران زیادی گزارش شده است که با یافته‌های ما مطابقت دارد (۲۳، ٢٤). بهبود صفات رویشی نهال‌های مایه‌زنی شده با باکتری‌های خانواده *Pseudomonaceae* از طریق تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند، ثابت شده است (۲۱).

در پژوهش حاضر، با افزایش غلظت IBA به ٤٠٠٠ میلی‌گرم در لیتر، علاوه بر کاهش کالوس‌زایی و ریشه‌زایی، مشخصه‌های رویشی مانند تعداد و وزن خشک ریشه، سطح برگ و ارتفاع قلمه‌ها نیز کاهش یافت (جدول ۲). به‌عبارت‌دیگر غلظت ٤٠٠٠ میلی‌گرم در لیتر نقش بازدارنده را بازی کرد. در این زمینه نتایج آن و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان داد غلظت اکسین نقش عمده‌ای در ریشه‌زایی قلمه‌ها دارد و سبب تمایز سلولی، تجزیه نشاسته و حرکت کربوهیدرات‌ها و عناصر تغذیه‌ای به انتهای قلمه می‌شود ولی در غلظت‌های بیش‌تر، نقش بازدارنده

دارد (۱۰). با توجه به این‌که قلمه‌های نیمه‌خشبی قادر به ساخت اکسین و کوفاکتورهای ریشه‌زایی بوده درنتیجه وجود مقدار کمی هورمون در مراحل اولیه ریشه‌زایی به افزایش سرعت و درصد ریشه‌زایی منجر می‌شود درحالی‌که اکسین در غلظت‌های بالا باعث سنتز هورمون اتیلن می‌شود که از رشد ریشه جلوگیری می‌کند و یا با ایجاد مسمومیت باعث مرگ قلمه‌ها شده و ریشه‌زایی را کاهش می‌دهد (۱۸).

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر نشان داد سیاه‌گیله از گونه‌های سخت‌ریشه‌زا به شمار می‌رود و کاربرد IBA برای ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه‌خشبی آن ضروری است. براساس نتایج، کاربرد تیمار ترکیبی غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و مایه‌زنی دو باکتری *P. putida* و *E . cloacae* تأثیر به‌سزایی در کالوس‌زایی، ریشه‌زایی و صفات رویشی مانند تعداد ریشه، طول ریشه، سطح برگ و ارتفاع قلمه‌ها دارد؛ بنابراین برای دستیابی به نهال‌های قلمه‌رست مطلوب سیاه گیله، کاربرد توأمان آن‌ها توصیه می‌گردد. با توجه به کسب ٤۱ درصد ریشه‌زایی قلمه‌های سیاه‌گیله پیشنهاد می‌گردد برای افزایش درصد ریشه‌زایی قلمه سیاه‌گیله تیمارهای مختلف هورمونی، منشأ قلمه (ریشه‌جوش و یا شاخه‌های دوساله)، زمان قلمه‌گیری و بسترهای مختلف کاشت در ترکیب با این باکتری‌ها و یا سایر باکتری‌های محرک رشد توسط پژوهش‌گران دیگر مورد مطالعه قرار گیرد.

منابع

1. Mozaffarian, V. 2004. Trees and shrubs of Iran. Farhang-e Moaser. Press, Tehran. 1120p. (In Persian)
2. Sabeti, H. 1994. Forests, trees and shrubs of Iran. Tehran, University of science and Technology. Press. 810p. (In Persian)
3. Fischer, D.L.O., Fachinello, J.C., Giacobbo, C.L., and Timm, C.R.F. 2007. The effect of hormone, stratification period and cultivation on seeds germination of blueberry. J. of ISHS Acta Horticulturae. 872p.
4. Rostamikia, Y., and Teimouri, M. 2019. Effects of land form and soil properties on growth Characteristics of Caucasian whortleberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) in Fandoglou forest of Ardabil (Case study: Soha forest). Iranian J. of Forest. 11: 2. 119-133. (In Persian)
5. Karcheva-Bahchevanska, D., Lukova, P., Nikolova, M., Mladenov, R., and Iliev, I. 2017. Therapeutic effects of anthocyanins from *Vaccinium* Genus. J. of International Medical Research and Pharmaceutical Sciences. 4: 6. 1-9.
6. Hasanloo, T., Jafarkhani Kermani, M., Dalvand, Y.A., and Rezazadeh, Sh. 2019. A complete review on the Genus *Vaccinium* and Iranian Ghareghat. J. of Medicinal Plants. 18: 72. 46-65. (In Persian)
7. Marvie Mohadjer, M.R. 2013. Silviculture. University of Tehran Press, Tehran. 378p. (In Persian)
8. Baskin, C.C., Milberg, P., Andersson, L., and Baskin, J.M. 2000. Germination studies of three Dwarf Shrubs (*Vaccinium*, Ericaceae) of Northern Hemisphere Coniferous forests. J. of Canadian Botany. 78: 1552-1560.
9. Rostamikia, Y., Teimori, M., and Jafari. F. 2022. Effect of chilling and gibberellic acid on seed germination traits of Caucasian whortleberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.). J. of Forest and Wood Products. 25: 1. 51-60. (In Persian)
10. An, H., Meng, J., Xu,F., Luo, J., Jiang, S., Wang, X., Shi, C., Zhou, B., and Zhang, X. 2019. Rooting ability of hardwood cuttings in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) under different indole-butyric acid concentrations. J. of HortScience. 54: 2. 194-199.

11. Hussain, I., Roberto, S.R., Colombo, E.C., Assis, A., and Koyama, R. 2017. Cutting types collected at different seasons on blackberry multiplication. J. of Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 39. 3: 939-945.
12. Zhang, Y., Xiao, Z., Zhan, C., Liu, M., Xia, W., and Wang, N. 2019. Comprehensive analysis of dynamic gene expression and investigation of the roles of hydrogen peroxide during adventitious rooting in poplar. BMC Plant Biology. London, 19: 1. 99.
13. Hartmann, H.T., Hudson, T., Kester, D.E., Dale, E.K., Davies, J.R.F.T., and Geneve, R.L. 2002. Plant propagation: principles and practices. New Jersey, Prentice-Hall Press, London. 880p.
14. Shahab, M., Roberto, S.R., Colombo, R.C., Silvestre, I.P., Ahmad, S., Koyama, R., and Hussain, I. 2018. Clonal propagation of blueberries mini cutting sunder subtropical conditions. J. of International Biosciences. 13: 3. 1-9.
15. Yamamoto, L.Y., Assis, A.M., Koyama, R., Borges, W.F.S., Favetta, V., Antunes, L.E.C., and Roberto, S.R. 2017. Substrates and IBA concentrations on rooting of herbaceous cuttings of blueberry 'Woodard'. J. of Agronomy Science and Biotechnology. 3: 2. 113-117.
16. Colombo, R.C., Carvalho, D.U., Cruz, M.A., and Roberto, S.R. 2018. Blueberry Propagation by mini cuttings in response to substrates and indole butyric acid application methods. J. of Agricultural Science. 10: 450-458.
17. Braha, S., and Rama, P. 2016. The effect of Indole butyric acid and naphthalene acetic acid of adventitious root formation to green cuttings in blueberry cv. (*Vaccinium corymbosum* L.). J. of International Science and Research. 5: 7. 876-879.
18. Higuchi, M.T., Ribeiro, L.R.M., Aguiar, A.C., Zeffa, D.M., Roberto, S.R., and Koyama, R. 2022. Methods of application of indole butyric acid and basal lesion on 'Woodard' blueberry cuttings in different seasons. J. of Revista Brasileira de Fruticultura. 43: 5. 1-10.
19. Ercan, A., Taskin, M., Turgut, K., and Yuce, S. 1999. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated hairy root formation in some *Rubia tinctorum* L. populations grown in Turkey. J. Turkish Botany, 23: 6. 373-377.
20. Ahemad, M., and Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. J. of King Saud University Science. 26: 1. 1-20.
21. Ahemad, M., and Khan, M.S. 2012. Effect of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica compestris*) rhizosphere. J. of Chemosphere. 86: 945–950.
22. Karakurt, H., Aslantas, R., Ozkan, G., and Guleryuz, M. 2009. Effects of indol–3-butyric acid (IBA), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and carbohydrates on rooting of hardwood cutting of MM106 apple rootstock. J. of African Agricultural Research. 4: 2. 060-064.
23. Ahmadloo, F., Tabari Kouchaksaraei, M., and Goodarzi, GH.R. 2016. Effects of IBA, bacterial and mycorrhizal treatments on the rooting of *Crataegus pseudohetrophylla* Pojark. Cuttings. Iranian J. of Forest and Poplar Research. 24: 2. 344-355. (In Persian)
24. Safari Motlagh, M.R., Haviani, B., and Mousavi Mohammadi, S.A. 2019. Simultaneous effects of different levels of indole butyric acid and inoculation with growth promoting bacteria on some growth and biochemical traits of olive (*Olea europaea L.*) Scion. J. of Plant Environmental Physiology. 14: 55. 13-25. (In Persian)
25. Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao X.Q., and Yin, H.J. 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. J. of Photosynthetica. 45: 613-619.
26. Alizadeh, A. 2005. Water, soil and plant relationship. Emam Reza Press, Mashhad, 470p. (In Persian)