

پاسخ جمعیت میکروبی ریزوسفر ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به خشکی گونه‌های چمنی علف باغ، علف پشمکی و فسکیوی بلند به تنش آبی

سعید عبدی اردستانی^۱، بنفشه خلیلی^{۱*} و محمد مهدی مجیدی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۳۱)

چکیده

ترشحات و ویژگی‌های مورفولوژیک ریشه نقش مهمی در پاسخ گیاه به تنش خشکی ایفا می‌کنند اما در مورد نتایج کاربردی این تغییرات بر جمعیت میکروبی ریزوسفر پژوهش‌های کمی انجام شده است. در این بررسی فرض شده است که در پاسخ به تنش خشکی، تغییرات در ترشحات ریشه، استراتژی رشد و سیستم ریشه‌ای ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به خشکی گونه‌های علفی می‌تواند متفاوت باشد و بنابراین تنش خشکی آثار متفاوتی بر جمعیت میکروبی ریزوسفر این گیاهان به دنبال خواهد داشت. در این پژوهش فعالیت میکروبی خاک ریزوسفری ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم سه گونه چمنی علف باغ، علف پشمکی و فسکیوی بلند در شرایط طبیعی و تنش خشکی پس از گذشت ۴ سال در مزرعه بررسی شد. زیست‌توده میکروبی ریزوسفر در ژنوتیپ‌های مختلف واکنش‌های متفاوتی به تنش آبی نشان دادند. میزان کربن زیست‌توده میکروبی خاک ریزوسفری هر دو گروه ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم گونه علف پشمکی و فسکیوی بلند در شرایط تنش خشکی افزایش یافت، اما در مورد گونه علف باغ روندی برعکس مشاهده شد، به‌طوری‌که در هر دو نوع ژنوتیپ، تنش آبی موجب کاهش کربن زیست‌توده میکروبی شده است. در مورد گونه فسکیوی بلند نیز در تیمار تنش خشکی کربن زیست‌توده میکروبی خاک ریزوسفری در ژنوتیپ‌های حساس افزایش و در ژنوتیپ‌های مقاوم کاهش یافت. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به خشکی علف پشمکی پاسخ مشابه به تنش آبی نشان دادند که تأییدکننده استراتژی‌های تکاملی علف پشمکی در شرایط تنش آبی برای افزایش جمعیت میکروبی ریزوسفر است و می‌تواند بهبود وضعیت تغذیه‌ای این علف را به دنبال داشته باشد. بررسی مجموع ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی نشان داد که کربن زیست‌توده میکروبی خاک ریزوسفری در کلیه خاک‌های کشت شده بیش‌تر از خاک شاهد (بدون گیاه) بود. همچنین، در شرایط تنش آبی، کربن زیست‌توده میکروبی خاک ریزوسفری گونه‌های حساس و مقاوم به خشکی تقریباً مشابه بوده اما در شرایط بدون تنش، کربن زیست‌توده میکروبی ریزوسفر ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی بیش‌تر بود.

واژه‌های کلیدی: تنش آبی، کربن زیست‌توده میکروبی، نیتروژن زیست‌توده میکروبی، ژنوتیپ حساس به خشکی، ژنوتیپ مقاوم به خشکی.

مقدمه

گیاهان با جذب دی‌اکسید کربن اتمسفر و تبدیل کربن آن به

۱- گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bkhalili@iut.ac.ir

زیست‌توده گیاهی نقش مهمی در ورود کربن به خاک دارند (۱). بخش عمده ورودی‌های کربن به خاک، بافت‌های گیاهی و ترشحات ریشه هستند (۱۶). ترشحات ریشه مجموعه‌ای از ترکیبات پیچیده و محلول کربن مانند قندها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی و متابولیت‌های ثانویه هستند که بیش از ۱۰ درصد محصول فتوسنتز را به خود اختصاص داده و منبع بسیار پویای ورود کربن به خاک به شمار می‌روند (۸ و ۱۲). بر اساس فرضیات، تکامل گیاهان و جمعیت میکروبی هتروتروفیک ریزوسفر آن به هم وابسته‌اند، زیرا ترشحات ریشه از منابع اصلی تأمین کربن جمعیت میکروبی ریزوسفر و کنترل‌کننده اصلی روابط گیاه با جمعیت میکروبی خاک به شمار می‌روند (۱۸).

گراس‌های علفی در مقایسه با سایر گیاهان گل‌دار سازگاری زیادی به دامنه گسترده‌ای از شرایط محیطی دارند و به همین دلیل از پراکنش وسیعی در مناطق مختلف جهان برخوردارند. علف باغ (*Dactylis glomerata* L.)، علف پشمکی (*Bromus arundinacea* Schreb.) و فسکیوی بلند (*inermis* Leyss.) از مهم‌ترین گراس‌های چند ساله مراتع ایران هستند که به لحاظ تولید علوفه و حفاظت خاک اهمیت زیادی دارند. گیاه علف پشمکی دارای سیستم ریشه‌ای عمیقی است، هر چند که در چند سانتی‌متر بالای سطح خاک نیز ریشه‌های زیادی همراه با ریزوم تولید می‌کند. گیاه علف باغ به‌صورت کپه‌ای رشد می‌کند و شکل رشدی آن به‌صورت افراشته بوده و بدون ریزوم و استولون است. فسکیوی بلند تعداد زیادی ریشه محکم، قوی و بلند تولید می‌کند. این گیاه بدون ساقه خزننده (استولون) است و ریزوم‌های خیلی کوتاه و متنوعی تولید می‌کند (۲۲، ۲۳ و ۲۴).

خشکی یکی از محدودکننده‌ترین تنش‌های محیطی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است و آثار مخرب و زیان‌آوری بر ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و متابولیک گیاهان و جمعیت میکروبی خاک دارد (۸ و ۲۳). بسته به شدت و طول مدت تنش خشکی، کاهش

عملکرد گیاهان تحت شرایط تنش بسیار متداول است (۲۳ و ۲۴). گیاهان معمولاً از طریق تغییرات مختلف مورفولوژیک و فیزیولوژیک نسبت به تنش خشکی عکس‌العمل نشان می‌دهند و این تغییرات به‌عنوان مکانیسم‌های مهم سازگاری گیاهان برای مقاومت به خشکی در نظر گرفته شده‌اند (۱۷)، که این مکانیسم‌ها در گیاه می‌تواند تغییر جوامع میکروبی خاک ریزوسفری را به دنبال داشته باشد (۱۵). بنابراین برخی از پژوهش‌ها، افزایش ته‌نشست‌های ریشه^۱ را در شرایط تنش خشکی علی‌رغم کاهش رشد گیاه و انتقال کربن به اندام‌های زیر زمینی گزارش کرده‌اند (۸ و ۱۲).

خشکی نه تنها بر کمیت ترشحات ریشه تأثیرگذار است بلکه کیفیت ترشحات را نیز تغییر می‌دهد. به‌عنوان مثال، گارگالو-گارینگا و همکاران (۹) دریافتند خشکی سبب افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه در ترشحات ریشه زیتون می‌شود درحالی‌که پس از رفع تنش متابولیت‌های اولیه در ترشحات ریشه غالب می‌شوند. دی-ورس همکاران (۸) با یک روش نوین ترشحات ریشه دو گیاه علفی کاملاً متفاوت از نظر استراتژی رشد و سیستم ریشه‌ای شامل *Holcus lanatus* و *Rumex acetosa* را بررسی کرده و نشان دادند تغییرات کمی و کیفی ترشحات ریشه ناشی از خشکی نقش مهمی در بهبود عملکرد گیاه ایفا می‌کند. به‌عنوان مثال، پس از شروع خشکی، گیاه ترکیب ترشحات ریشه را تغییر می‌دهد تا با افزایش فعالیت میکروبی جمعیت ریزوسفر، رشد گیاه را تسهیل بخشد. علاوه بر این، سرعت تنفس تحریک شده میکروب‌ها (SIR) از ترشحات ریشه در شرایط تنش خشکی بیش‌تر از شرایط طبیعی رطوبتی گزارش شده است که می‌تواند به‌دلیل افزایش ذخایر کربوهیدرات ریشه و در پی آن ازدیاد مقدار قندهای ساده به‌عنوان منابع قابل دسترس کربن در ترشحات ریشه برای فعالیت جمعیت میکروبی باشد (۱۴). از دلایل دیگر این پدیده می‌توان به افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه در ترشحات ریشه در اثر خشکی اشاره کرد که می‌تواند منجر به تغییر

به نوع ژنوتیپ گیاه است.

مواد و روش‌ها

طرح پژوهشی به‌نژادی سه گونه چمنی علف باغ (*Dactylis glomerata* L.)، علف پشمکی (*Bromus inermis* Leyss.) و فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb.) طی سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۶ با هدف افزایش عملکرد در شرایط تنش خشکی این گونه‌ها در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا شده است (۲۲، ۲۳ و ۲۴). این مزرعه در ۴۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان در منطقه لورک شهرستان نجف آباد و در عرض جغرافیایی ۲۲ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۳ دقیقه شرقی واقع شده است. ارتفاع مزرعه از سطح دریا ۱۶۳۰ متر و بر اساس تقسیم‌بندی کوپن، دارای اقلیم نیمه‌خشک و خنک با تابستان‌های خشک است. میانگین بارندگی و دمای سالیانه این منطقه به ترتیب ۱۴۰/۵ میلی‌متر و ۱۴/۵ درجه سلسیوس است. گنجایش مزرعه و نقطه پژمردگی دائم خاک مزرعه به ترتیب ۲۳ و ۱۰ درصد وزنی است. بافت خاک لوم رسی با چگالی ظاهری ۱/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب بوده و میانگین pH آن حدود ۷/۵ است (۲۲ و ۲۳).

در طرح به‌نژادی مذکور، ۳۶ ژنوتیپ از هر گونه *Bromus inermis* و *Dactylis glomerata* بر اساس پژوهش‌های پیشین انتخاب شدند. سپس هر یک از ژنوتیپ‌ها از طریق تقسیم بوته، کلون شده‌اند و در دو طرح مجاور (برای ایجاد دو محیط رطوبتی در قالب تجزیه مرکب)، هر کدام در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۶ تکرار در اسفند ۱۳۹۱ با فاصله بین بوته‌ای ۵۰ سانتی‌متر کشت شده‌اند (۲۲). طی چهار سال (۹۲ تا ۹۵) تیمار بدون تنش و تنش خشکی بر روی ژنوتیپ‌ها اعمال شده است. زمان آبیاری برای دو تیمار رطوبتی متفاوت بود. در تیمارهای نرمال (بدون تنش) و تنش خشکی، به ترتیب پس از ۵۰ و ۹۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده، آبیاری تا رسیدن به حد رطوبتی گنجایش مزرعه

ساختار جمعیت میکروبی ریزوسفر به نفع افزایش فراهمی نیتروژن مورد نیاز گیاه شود (۶). همچنین گیاه در شرایط خشکی ممکن است ترشح اسیدهای آلی را به‌منظور افزایش تحرک فسفر معدنی موجود در خاک افزایش دهد که این اسیدهای آلی در کنار افزایش فراهمی فسفر در ریزوسفر می‌توانند با تحریک فعالیت جمعیت میکروبی افزایش تجزیه مواد آلی خاک را نیز به دنبال داشته باشند (۵).

علاوه بر ترشحات ریشه، ویژگی‌های مورفولوژیک ریشه و به همراه آن گسترش ریزوسفر نیز به تنش خشکی پاسخ نشان می‌دهد، به‌طوری‌که افزایش رشد و نفوذ ریشه به بهبود جذب آب از اعماق خاک و حفظ فعالیت ریشه منجر می‌شود (۱۱). برخی پژوهش‌گران ازدیاد سطح ریشه در شرایط تنش خشکی را یکی از مکانیزم‌های مهم بهبود جذب آب می‌دانند. به‌عنوان مثال، گیاه فسکیوی نقره‌ای با داشتن ریشه عمیق و جذب آب از لایه‌های زیرین خاک می‌تواند کاهش آماس سلول‌های گیاهی ناشی از تنش خشکی را بدون کاهش سطح برگ جبران کند، درحالی‌که گراس‌های چمن خزنده در شرایط تنش خشکی با کاهش سطح برگ و به دنبال آن کاهش تبخیر و ترقق می‌توانند به خشکی مقاوم شوند (۲۸).

با توجه به مطالب ذکر شده، گیاه در شرایط تنش خشکی با تطبیق ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ریشه فراوانی و تنوع جمعیت میکروبی ریزوسفر را شکل می‌دهد که در نتیجه جمعیت میکروبی بر عملکرد گیاه تأثیرگذار خواهد بود و در نهایت مجموعه گیاه-جمعیت میکروبی به تنش خشکی پاسخ نشان می‌دهد. از سوی دیگر نه تنها گونه‌های مختلف گیاهان علفی بلکه ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به خشکی هر گونه می‌توانند پاسخ‌های تکاملی متفاوتی به تنش خشکی نشان دهند که این پاسخ بر جمعیت میکروبی خاک ریزوسفری تأثیرگذار خواهد بود. در این پژوهش فرض شده است که پاسخ فراوانی جمعیت میکروبی و ذخایر میکروبی کربن و نیتروژن خاک ریزوسفری گونه‌های علفی *Bromus inermis*، *Dactylis glomerata* و *Festuca arundinacea* به تنش خشکی وابسته

جدول ۱. ویژگی‌های ژنوتیپ‌های سه گونه مورد بررسی.

Table 1. Information on the orchardgrass genotypes used in the study.

منشأ Origin	درجه تحمل / مقاومت به خشکی Drought tolerant /susceptible	کد ژنوتیپ Genotype Code
اصفهان - بانک ژن فزوه Iran, Isfahan, Fozve	حساس Susceptible	علف پشمکی-اس-۱۵ Bromus-S-15
مجارستان Hungary	حساس Susceptible	علف پشمکی-اس-۲۱ Bromus-S-21
مجارستان Hungary	مقاوم Tolerant	علف پشمکی-تی-۱۳ Bromus-T-13
مجارستان Hungary	مقاوم Tolerant	علف پشمکی-تی-۳۲ Bromus-T-32
اصفهان-سمیرم Iran, Semirom	حساس Susceptible	علف باغ-اس-۱۱ Dactylis-S-11
هلند Netherland	حساس Susceptible	علف باغ-اس-۳۱ Dactylis-S-31
مجارستان Hungary	مقاوم Tolerant	علف باغ-تی-۱۴ Dactylis-T-14
اصفهان - بانک ژن فزوه Iran, Isfahan, Fozve	مقاوم Tolerant	علف باغ-تی-۲۵ Dactylis-T-25
اصفهان - بانک ژن فزوه Iran, Isfahan, Fozve	حساس Susceptible	فسکیوی بلند-اس-۱۷ Festuca-S-17
اصفهان - بانک ژن فزوه Iran, Isfahan, Fozve	مقاوم Tolerant	فسکیوی بلند-تی-۲۲ Festuca-T-22
ایران - یزد آباد Iran, Yazdabad	مقاوم Tolerant	فسکیوی بلند-تی-۱ Festuca-T-1

خشکی انتخاب شدند. درجه حساسیت و مقاومت ژنوتیپ‌ها بر اساس شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش خشکی طی ارزیابی‌های ۴ ساله مشخص شده بود (جدول ۱).

نمونه‌برداری خاک در اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ و از لایه ۱۰-۰ سانتی‌متر خاک ریزوسفری ۱۱ ژنوتیپ انتخاب شده (خاک ریزوسفری شامل خاک چسبیده به ریشه گیاه است که در اثر الک کردن ریشه‌های گیاه به دست می‌آید) از طرح آزمایشی به‌نژادی گراس‌ها و خاک شاهد (قسمت خاک غیرریزوسفری شامل خاک کنار بوته‌های گیاه که به ریشه نچسبیده و از ریشه فاصله دارد) در مزرعه لورک انجام شد. لازم به ذکر است که داده‌های هر تکرار از آزمایش در هر کدام از نواحی خاک

(FC) انجام شده بود. برای اندازه‌گیری میزان آب ورودی به کرت-ها از کتور استفاده شده است. بر اساس محاسبات انجام شده در تیمار بدون تنش دوره آبیاری ۷ تا ۱۰ روز یک بار و در تیمار تنش خشکی ۱۳ تا ۱۸ روز یک بار (بسته به شرایط جوی طی فصل رشد از فروردین تا آذر هر سال) بوده است (۲۲، ۲۳ و ۲۴).

منابع ژنتیکی انتخاب شده برای نمونه‌برداری در این پژوهش، تعداد ۴ ژنوتیپ علف پشمکی (دو ژنوتیپ حساس و دو ژنوتیپ مقاوم)، ۴ ژنوتیپ علف باغ (دو ژنوتیپ حساس و دو ژنوتیپ مقاوم) و ۳ ژنوتیپ فسکیوی بلند (یک ژنوتیپ حساس و دو ژنوتیپ مقاوم) بودند که از بین ۳۶ ژنوتیپ هر گونه، براساس ارزیابی ۴ ساله در شرایط بدون تنش و تنش

ریزوسفری و شاهد، از میانگین سه نمونه خاک حاصل شد. سپس نمونه‌ها برای انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری به شرح زیر اندازه‌گیری شد. بافت خاک پس از اکسیداسیون مواد آلی به روش هیدرومتر تعیین شد (۱۰). pH و رسانایی الکتریکی (EC) خاک در عصاره ۱ به ۵ خاک به آب به ترتیب با دستگاه pH متر مدل CP-501 و دستگاه رسانایی سنج متر اهم مدل ۶۴۴ اندازه‌گیری شد. میزان کربن آلی خاک (OC) به روش والکی-بلک تعیین شد (۲۰). نیتروژن معدنی خاک به روش تقطیر با بخار آب، و درصد نیتروژن کل با استفاده از دستگاه کلدال مدل ۳۲۰۰ به روش کلدال اندازه‌گیری شد (۳).

پیش از اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی خاک‌ها، یک هفته پیش-انکوباسیون در رطوبت ۵۰ درصد گنجایش مزرعه و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. بدین منظور مقدار ۱۰ گرم از نمونه‌های خاک منجمد شده در دمای ۸۰- درجه سلسیوس به ظروف شات ویژه انکوباسیون منتقل شده و رطوبت آن‌ها در ۵۰ درصد گنجایش مزرعه تنظیم شد. درب ظرف‌ها با نایلون سوراخ‌دار بسته شد تا ضمن تهویه در طول دوره انکوباسیون رطوبت خاک‌ها حفظ شود. همچنین در طول انکوباسیون مقدار رطوبت از دست رفته نمونه‌ها با افزودن آب مقطر جبران شد. پس از پایان انکوباسیون بلافاصله آزمایش اندازه‌گیری کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی انجام شد.

کربن زیست‌توده میکروبی به روش تدخین-انکوباسیون^۱ و نیتروژن زیست‌توده میکروبی به روش تدخین-استخراج^۲ اندازه‌گیری شد (۲ و ۴). بدین منظور، نمونه‌ها (۲۰ گرم خاک) به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه تدخین در حضور گاز کلروفرم قرار گرفتند. تیمارهای شاهد نیز در شرایط مشابه اما بدون حضور کلروفرم قرار داده شدند. به منظور جلوگیری از اثر نور بر کلروفرم، با استفاده از نایلون تیره دسیکاتور و دستگاه تدخین

پوشانده شد. پس از پایان ۲۴ ساعت، نمونه‌های تیمار شده با گاز کلروفرم (تدخین‌شده) با ۰/۲ گرم خاک تیمارهای شاهد تلقیح شد و در حضور لوله آزمایش حاوی سود یک مولار به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از ۱۰ روز محتوای لوله آزمایش در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شده و کلرید باریوم یک مولار به آن‌ها افزوده شد. سپس با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالین تیترا شد. به منظور اندازه‌گیری نیتروژن زیست‌توده میکروبی پس از تدخین با کلروفرم، نمونه‌ها توسط کلرید پتاسیم ۲ مولار عصاره‌گیری شده و به روش تقطیر با بخار آب اندازه‌گیری شدند. بر اساس این روش نیتروژن محلول در عصاره نمونه‌ها در حضور دواردا و اکسید منیزیم به گاز آمونیاک تبدیل شده و توسط محلول معرف بروموکروزول گرین، متیل رد و اسید بوریک دوباره به شکل آمونیوم محلول جمع‌آوری شده و سپس با اسید سولفوریک ۰/۰۲۵ نرمال تیترا شد. در نهایت کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی با روابط زیر محاسبه شد:

$$\text{Biomass C} = (\text{Cf} - \text{Cuf}) / \text{kec} \quad (1)$$

که در این رابطه، Cf: کربن به فرم دی‌اکسید کربن تولید شده از خاک تدخین‌شده (mg/kg)، Cuf: کربن به فرم دی‌اکسید کربن تولید شده از تدخین‌نشده (تیمارهای شاهد) (mg/kg)، و kec برابر ۰/۴۵ است.

$$\text{Biomass N} = (\text{Nf} - \text{Nuf}) / \text{ken} \quad (2)$$

که در این رابطه، Nf: نیتروژن اندازه‌گیری شده از خاک تدخین-شده (mg/kg)، Nuf: نیتروژن اندازه‌گیری شده از خاک تدخین-نشده (تیمارهای شاهد) (mg/kg)، و ken برابر ۰/۵۶ است.

تأثیر تنش خشکی و سه گونه گراس علفی بر کربن و نیتروژن آلی و شاخص‌های میکروبی ریزوسفر پس از ۴ سال اعمال تنش خشکی، به صورت تجزیه مرکب دو محیط رطوبتی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بررسی شد. تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام گرفت. همچنین نمودارها با نرم‌افزار MS Excel 2013 رسم شد.

1. Fumigation-incubation
2. Fumigation-extraction

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده در ۱۱ ژنوتیپ از سه گونه گراس تحت شرایط بدون تنش و تنش خشکی.

Table 2. Analysis of variance (mean squares) for measured traits of the 11 genotypes of the three orchardgrass under non-stress and drought stress.

منابع تغییرات Source of variations	درجه آزادی Degree of freedom	کربن زیست‌توده میکروبی Microbial biomass C	نیتروژن زیست‌توده میکروبی Microbial biomass N	کربن آلی Organic carbon	نیتروژن معدنی Inorganic N
تنش خشکی Drought stress	1	7827	7373**	0	*661
خطا Error	4	15804	425	0.065	73
ژنوتیپ در برابر شاهد Genotype vs Control	1	137854**	122	0.253**	2179**
ژنوتیپ Genotype	10	48238**	3751**	0.068**	75
ژنوتیپ × تنش خشکی Genotype × Drought stress	10	13382*	1925**	0.047*	102
خطای کل Total error	40	6731	361	0.023	118

* و ** به ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد است.

*, ** stand for significant effects at 5 and 1% probability levels, respectively.

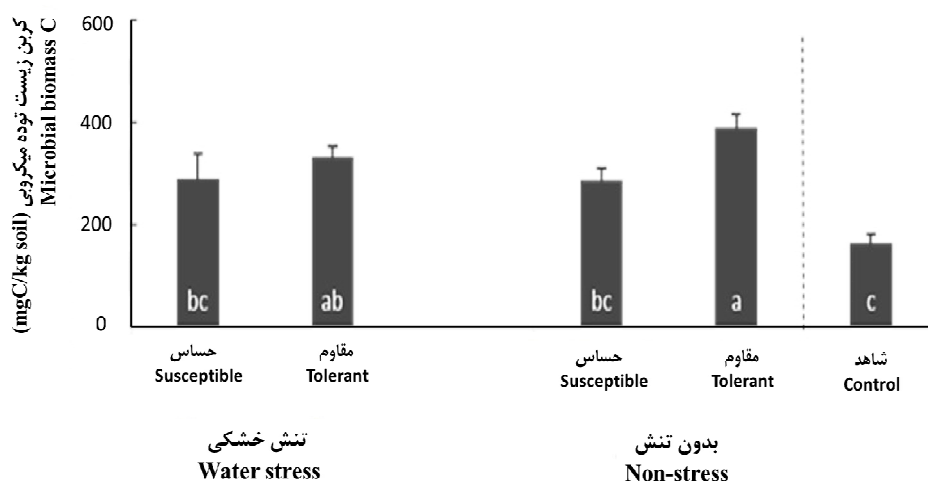
نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثر دو تیمار رطوبتی، ۱۱ ژنوتیپ سه گونه گراس و برهم‌کنش آن‌ها بر کربن زیست‌توده میکروبی، نیتروژن زیست‌توده میکروبی، و کربن آلی خاک ریزوسفری ژنوتیپ‌ها در جدول (۲) ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی تنش خشکی در ۱۱ ژنوتیپ از ۳ گونه گراس بر میزان نیتروژن زیست‌توده میکروبی در سطح احتمال ۱ درصد و بر غلظت نیتروژن معدنی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین تأثیر ژنوتیپ گیاهی بر کربن زیست‌توده میکروبی، نیتروژن زیست‌توده میکروبی و کربن آلی خاک در سطح احتمال ۱ درصد و تأثیر برهم‌کنش ژنوتیپ و رژیم رطوبتی بر نیتروژن زیست‌توده میکروبی در سطح احتمال ۱ درصد و بر کربن آلی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در خاک ریزوسفری کلیه ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به خشکی سه

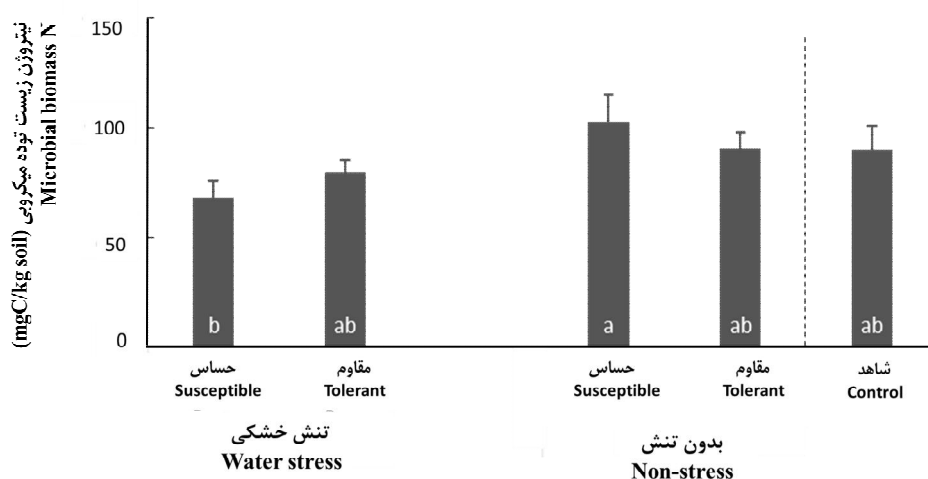
گونه علف پشمکی، علف باغ و فسکیوی بلند در دو محیط رطوبتی تنش خشکی و بدون تنش خشکی در شکل‌های (۱) و (۲) نشان داده شده است. بیش‌ترین مقدار کربن زیست‌توده میکروبی در ارقام مقاوم به خشکی در شرایط بدون تنش خشکی مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری از شاهد و ارقام حساس به خشکی بیش‌تر بود (شکل ۱). بیش‌ترین مقدار نیتروژن زیست‌توده میکروبی در ارقام حساس به خشکی و در شرایط بدون تنش خشکی مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری از ارقام حساس به خشکی در تیمار تنش خشکی بیش‌تر بود (شکل ۲).

در شرایط تنش خشکی و در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی، علف پشمکی بیش‌ترین کربن زیست‌توده میکروبی (۳۹۶ میلی‌گرم کربن بر کیلوگرم خاک) را به خود اختصاص داد که اختلاف آن با ژنوتیپ‌های حساس به خشکی علف باغ (۱۸۷ میلی‌گرم کربن بر کیلوگرم خاک) و شاهد (۱۶۶ میلی‌گرم کربن بر کیلوگرم خاک) معنی‌دار بود (شکل ۳). بیش‌ترین



شکل ۱. اثر برهم‌کنش تیمارهای خشکی با ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم بر کربن زیست‌توده میکروبی خاک؛ داده‌ها به صورت میانگین + خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند؛ ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Fig. 1. An interactive effect of the drought treatments with the susceptible and tolerant genotypes on microbial biomass C (mean + SE); Means with at least one similar letter are not significantly different based on LSD test ($P < 0.05$)

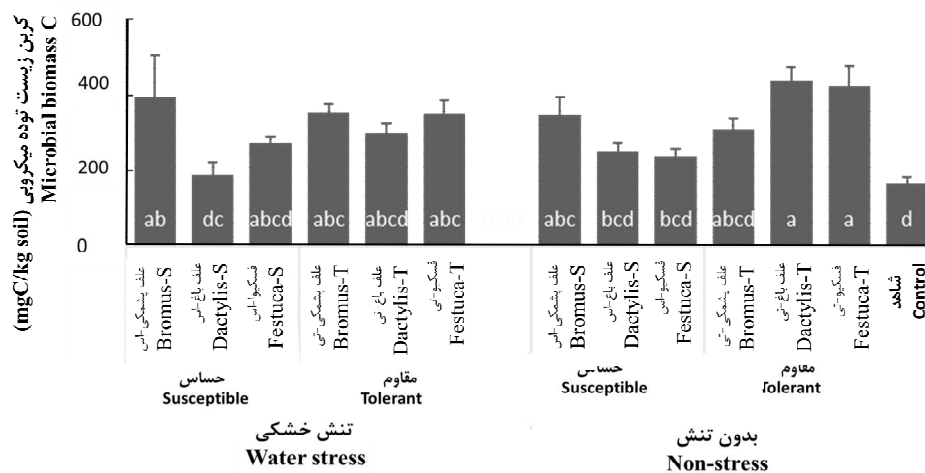


شکل ۲. اثر برهم‌کنش تیمارهای خشکی با ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم بر نیتروژن زیست‌توده میکروبی خاک؛ داده‌ها به صورت میانگین + خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند؛ ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Fig. 2. An interactive effect of the drought treatments with the genotypes in microbial biomass N (mean + SE); Means with at least one similar letter are not significantly different based on LSD test ($P < 0.05$).

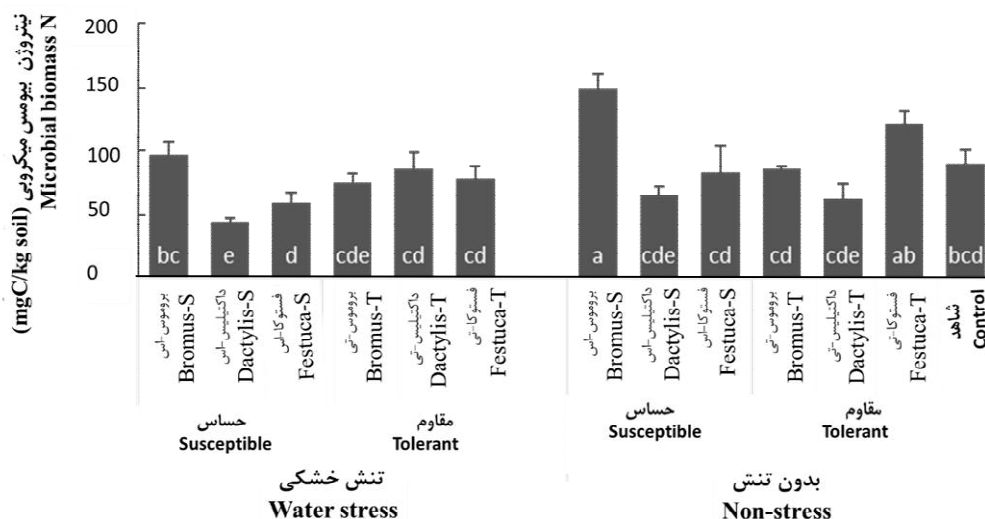
ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس گونه علف باغ مشاهده شد، به طوری که کم‌ترین مقدار نیتروژن زیست‌توده میکروبی مربوط به ژنوتیپ حساس به خشکی گونه علف باغ (۴۴ میلی گرم نیتروژن بر کیلوگرم خاک) بود (شکل ۴).

میانگین نیتروژن زیست‌توده میکروبی در بین ژنوتیپ‌های حساس به خشکی به علف پشمکی (۹۷ میلی گرم نیتروژن بر کیلوگرم خاک) اختصاص داشت (شکل ۴). در شرایط تنش خشکی حداکثر تفاوت در نیتروژن زیست‌توده میکروبی بین



شکل ۳. کربن زیست توده میکروبی در خاک ریزوسفری ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم در تیمارهای خشکی؛ داده‌ها به صورت میانگین + خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند؛ ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Fig. 3. Microbial biomass C (mean + SE) in rhizosphere across the sensitive and tolerate genotypes in the drought treatments; Means with at least one similar letter are not significantly different based on LSD test ($P < 0.05$).

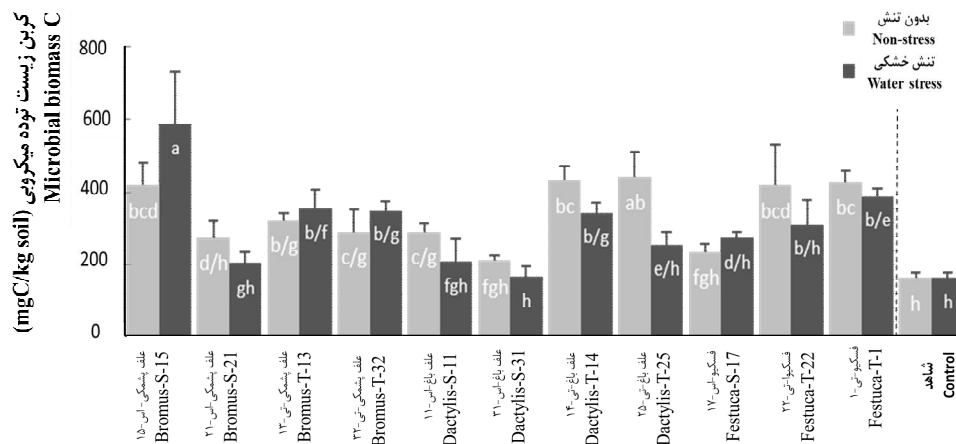


شکل ۴. نیتروژن زیست توده میکروبی در خاک ریزوسفری ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم در تیمارهای خشکی؛ داده‌ها به صورت میانگین + خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند؛ ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Fig. 4. Microbial biomass N (mean + SE) in rhizosphere across the sensitive and tolerate genotypes in the drought treatments; Means with at least one similar letter are not significantly different based on LSD test ($P < 0.05$).

میکروبی (۴۳۶/۸ میلی گرم کربن بر کیلوگرم خاک) را داشت و اختلاف آن‌ها با شاهد معنی دار بود (شکل ۳). بیشترین میانگین نیتروژن زیست توده میکروبی در خاک ریزوسفری ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به خشکی در گونه‌های علف پشمکی (۱۴۹/۶۷ میلی گرم نیتروژن بر کیلوگرم خاک) و فسکیوی بلند

در شرایط بدون تنش خشکی در خاک ریزوسفر ژنوتیپ‌های حساس به خشکی، بیشترین میانگین کربن زیست توده میکروبی به علف پشمکی (۳۴۸ میلی گرم کربن بر کیلوگرم خاک) تعلق داشت، اما در خاک ریزوسفری ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی، علف باغ بیشترین میانگین کربن زیست توده



شکل ۵. کربن زیست‌توده میکروبی در خاک شاهد و ریزوسفری ژنوتیپ‌های متفاوت در تیمارهای خشکی؛ داده‌ها به صورت میانگین + خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند؛ ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Fig. 5. Microbial biomass C (mean + SE) in the control and rhizosphere across the different genotypes in the drought treatments; Means with at least one similar letter are not significantly different based on LSD test ($P < 0.05$).

زودرس-۱۷ روندی مشابه ژنوتیپ‌های علف باغ نشان دادند و کربن زیست‌توده میکروبی در ریزوسفر آن‌ها در شرایط تنش خشکی کاهش یافت (شکل ۵).

تنش خشکی اعمال شده موجب کاهش معنی‌دار نیتروژن زیست‌توده میکروبی ریزوسفر در اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد (جدول ۳). روند تغییرات درصد کربن آلی ریزوسفر در ژنوتیپ‌های مورد بررسی با تیمار خشکی متغیر بود به طوری که بیش‌ترین کاهش معنی‌دار با اعمال تنش خشکی در ژنوتیپ علف پشمکی-اس ۱۵ و بیش‌ترین افزایش معنی‌دار با اعمال تنش خشکی در ژنوتیپ علف پشمکی-اس ۲۱ مشاهده شد (جدول ۳).

در پژوهش‌های اخیر افزایش معنی‌دار کربن زیست‌توده میکروبی در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شرایط بدون تنش در ریزوسفر گیاه فسکیوی بلند گزارش شده است که می‌تواند به علت افزایش ترشحات ریشه برای جذب بیش‌تر عناصر غذایی باشد (۲۵). گیاهان مکانیسم‌هایی مانند افزایش نسبت ریشه به شاخساره (۱۳)، و ترشح هورمون‌ها و متابولیت‌های ثانویه را برای تعدیل اثر تنش خشکی به کار می‌گیرند (۲۱) که این مکانیسم‌ها در گیاه، می‌تواند موجب تغییر در ورودی کربن

(۱۲۱/۹۸ میلی گرم نیتروژن بر کیلوگرم خاک) مشاهده شد (شکل ۴). نایلور و کولمان در (۱۹) اظهار داشتند که پاسخ‌های تکاملی مورفولوژیک و متابولیک گیاهان به تنش خشکی موجب شکل‌دهی ساختار و فعالیت جمعیت میکروبی ریزوسفری می‌شود. تغییر کمیت و کیفیت متابولیت‌های (۱۶۳ نوع متابولیت) ترشح شده از ریشه سویا در شرایط خشکی، محیط ریزوسفر را برای جذب جمعیت میکروبی مفید برای گیاه مساعد می‌سازد که افزایش تنفس و زیست‌توده میکروبی در ریزوسفر را به دنبال خواهد داشت (۱۹ و ۲۶).

ژنوتیپ‌های گیاهی به تنش خشکی واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. در ریزوسفر گیاه علف پشمکی، به جز ژنوتیپ علف پشمکی-اس ۲۱ کربن زیست‌توده میکروبی در شرایط تنش خشکی افزایش یافته است و این افزایش تنها در علف پشمکی-اس ۱۵ معنی‌دار شد (شکل ۵). این درحالی است که ژنوتیپ‌های علف باغ واکنش متفاوتی در برابر تنش خشکی از خود نشان دادند و بر خلاف علف پشمکی در همه ژنوتیپ‌ها کربن زیست‌توده میکروبی در شرایط تنش خشکی کاهش یافت و این کاهش در علف باغ-تی ۲۵ معنی‌دار شد. همچنین ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند نیز بجز ژنوتیپ فسکیو-اس-

جدول ۳. مقایسه میانگین نیتروژن زیست توده میکروبی و کربن آلی خاک ریزوسفری ژنوتیپ‌های مختلف در تیمارهای خشکی.

Table 3. Mean comparisons of microbial biomass N and organic C in the rhizosphere of the different genotypes in drought treatments.

ژنوتیپ		نیتروژن زیست توده میکروبی (mg N/kg soil)		کربن آلی (%)	
Genotype		Microbial biomass N		Organic carbon (%)	
		بدون تنش	تنش خشکی	بدون تنش	تنش خشکی
		Non-stress	Drought stress	Non-stress	Drought stress
علف پشمکی - اس-۱۵ Bromus-S-15		162.9	77.2	1.13	0.85
علف پشمکی - اس-۲۱ Bromus-S-21		136.3	117.0	0.95	1.16
علف پشمکی - تی-۱۳ Bromus-T-13		83.4	90.0	1.15	1.00
علف پشمکی - تی-۳۲ Bromus-T-32		87.7	59.6	1.00	0.97
علف باغ - اس-۱۱ Dactylis-S-11		71.0	40.7	0.99	0.86
علف باغ - اس-۳۱ Dactylis-S-31		59.1	47.6	0.83	1.02
علف باغ - تی-۱۴ Dactylis-T-14		47.5	105.0	0.88	1.11
علف باغ - تی-۲۵ Dactylis-T-25		77.7	67.2	0.89	0.96
فسکیو - اس - زودرس-۱۷ Festuca-S-17		82.7	59.2	0.95	1.08
فسکیو - تی - دیررس-۲۲ Festuca-T-22		113.8	57.2	1.11	0.99
فسکیو - تی - میان‌رس-۱ Festuca-T-1		130.1	99.1	1.38	1.22
شاهد Control		89.8	89.8	0.81	0.81
LSD %5		22.1		0.17	

خاک از طریق ترشحات ریشه و چرخه کربن در خاک ریزوسفری (۷) و به دنبال آن تغییر ساختار جمعیت میکروبی در خاک ریزوسفری گیاه شود (۱۵). همچنین گزارش شده است ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان از نظر تنفس ریشه‌ای، تولید و مصرف کربن در خاک در شرایط متفاوت دما و رطوبت پاسخ متفاوت نشان می‌دهند (۲۷). پژوهش‌ها نشان داده است تحت تنش خشکی، خاک ریزوسفری گیاهان مقاوم به تنش خشکی، فعالیت و زیست توده میکروبی بیش‌تری نسبت به گیاهان حساس به خشکی داشته‌اند. به عنوان مثال گیاه فسکیوی بلند در

شرایط خشکی فعالیت آنزیم‌های درگیر در چرخه کربن در خاک ریزوسفری خود را افزایش داده است (۲۵). دی-ورس و همکاران (۸) نشان دادند در دو گونه گیاهی کاملاً متفاوت از نظر استراتژی رشد و سیستم ریشه‌ای، تغییرات ترشحات ریشه-ای ناشی از تنش خشکی موجب آثار بارز کارکردی در ریزوسفر شده است. به طوری که گیاه در شرایط تنش خشکی کمیت و کیفیت ترشحات ریشه‌ای خود را به گونه‌ای تغییر می‌دهد که فعالیت جمعیت میکروبی ریزوسفر افزایش یابد و به دنبال آن با افزایش فرایندهای معدنی شدن دسترسی به عناصر و

رشد گیاه تسهیل یابد که این پژوهش‌گران این یافته را به استراتژی‌های تکاملی گیاه مربوط دانسته‌اند (۸).

نتیجه‌گیری

بررسی مجموع ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی نشان داد که کربن زیست‌توده میکروبی خاک ریزوسفری در کلیه خاک‌های کشت شده بیش‌تر از خاک شاهد (بدون گیاه) بوده و در شرایط تنش خشکی گونه‌های حساس و مقاوم به خشکی تقریباً مشابه بوده اما در شرایط بدون تنش کربن زیست‌توده میکروبی ریزوسفر ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی افزایش یافته است. بررسی ژنوتیپ‌های هر گونه به‌طور مجزا نشان داد در علف پشمکی، چه در ژنوتیپ‌های حساس و چه در مقاوم در تنش خشکی، کربن زیست‌توده میکروبی افزایش یافته است اما در علف باغ روندی کاملاً برعکس مشاهده شد، به‌طوری‌که در تنش خشکی همه ژنوتیپ‌ها کاهش کربن زیست‌توده میکروبی

ریزوسفر را نشان دادند. در ریزوسفر فسکیوی بلند نیز در تیمار تنش خشکی ژنوتیپ‌های حساس افزایش و ژنوتیپ‌های مقاوم کاهش کربن زیست‌توده میکروبی را نشان دادند. بنابراین نتایج پژوهش حاضر تاییدکننده استراتژی‌های تکاملی علف پشمکی در شرایط تنش خشکی برای افزایش جمعیت میکروبی ریزوسفر این گراس است.

به نظر می‌رسد طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش به حساس و مقاوم به خشکی با در نظر گرفتن کلیه مکانیزم‌های تکاملی این گونه‌ها انجام نشده و احتمالاً تنها بر اساس ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیک و ظاهری این گیاهان بوده است. از این رو پیشنهاد می‌شود که در شناسایی دقیق گونه‌های مقاوم به خشکی ویژگی‌های مربوط به جمعیت میکروبی همراه ریشه نیز در نظر گرفته شود و همچنین این ویژگی‌ها در طول زمان مورد بررسی قرار گیرند.

منابع مورد استفاده

1. Ames, J., 1973. Biochemistry of photosynthesis. *Photochemistry and Photobiology* 17(5): 353–353.
2. Beck, T., Joergensen, R.G., Kandeler, E., Makeschin, F., Nuss, E., Oberholzer, H.R., Scheu, S., 1997. An inter-laboratory comparison of ten different ways of measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 29(7): 1023–1032.
3. Bremner, J.M., Mulvaney, C.S., 1982. Nitrogen-Total. In: Weaver, R.W., Angel, J.S., Bottomley, P.S. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Madison WI, USA, pp. 595–624.
4. Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G., Jenkinson, D.S., 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 17: 837–842.
5. Canarini, A., Kaiser, C., Merchant, A., Richter, A., Wanek, W., 2019. Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli. *Frontiers in Plant Science* 10: 157.
6. Czaban, W., Rasmussen, J., Laursen, B.B., Vidkjæer, N.H., Sapkota, R., Nicolaisen, M., Fomsgaard, I.S., 2018. Multiple effects of secondary metabolites on amino acid cycling in white clover rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 123: 54–63.
7. de Graaff, M.A., Jastrow, J.D., Gillette, S., Johns, A., Wulfschleger, S.D., 2014. Differential priming of soil carbon driven by soil depth and root impacts on carbon availability. *Soil Biology and Biochemistry* 69: 147–156.
8. de Vries, F.T., Williams, A., Stringer, F., Willcocks, R., McEwing, R., Langridge, H., Straathof, A.L., 2019. Changes in root exudate induced respiration reveal a novel mechanism through which drought affects ecosystem carbon cycling. *New Phytologist* 224: 132–145.
9. Gargallo-Garriga, A., Preece, C., Sardans, J., Oravec, M., Urban, O., Penuelas, J., 2018. Root exudate metabolomes change under drought and show limited capacity for recovery. *Scientific Reports* 8: 12696.
10. Gee, G.W., Bauder, J.W., 1986. Particle-size analysis. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. American Society of Agronomy, Madison WI, pp. 383–411.
11. Huang, B., Hongwen, G., 2000. Root physiological characteristics association with drought resistance in tall fescue cultivars. *Crop Science* 40: 196–203.
12. Jones, D.L., Nguyen, C., Finlay, R.D., 2009. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root

interface. *Plant and Soil* 321: 5–33.

13. Karcher, D.E., Richardson, M.D., Hignight, K., Rush, D., 2008. Drought tolerance of tall fescue populations selected for high root/shoot ratios and summer survival. *Crop Science* 48: 771–777.
14. Karlowsky, S., Augusti, A., Ingrisch, J., Akanda, M.K.U., Bahn, M., Gleixner, G., 2018. Drought-induced accumulation of root exudates supports post-drought recovery of microbes in mountain grassland. *Frontiers in Plant Science* 9: 1593.
15. Kuzyakov, Y., Blagodatskaya, E., 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology and Biochemistry* 83: 184–199.
16. Kuzyakov, Y., Domanski, G., 2000. Carbon input by plants in the soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163: 421–431.
17. Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., Yang, R., 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. *Environmental and Experimental Botany* 71: 174–183.
18. Mommer, L., Kirkegaard, J., van Ruijven, J., 2016. Root–root interactions: towards a rhizosphere framework. *Trends in Plant Science* 21: 209–217.
19. Naylor, D., Coleman-Derr, D. 2018. Drought stress and root-associated bacterial communities. *Frontiers in Plant Science* 8: 2223.
20. Nelson, D.W., Sommers, L., 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Weaver, R.W., Angel, J.S. Bottomley, P.S. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Madison WI, USA, pp. 539–579.
21. Philippot, L., Raaijmakers, J.M., Lemanceau, P., Van Der Putten, W.H., 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* 11: 789–799.
22. Saeidnia, F., Majidi, M.M., Mirlohi, A., 2016. Physiological and tolerance indices useful for selection drought tolerance in smooth brome grass. *Crop Science* 57: 282–288.
23. Saeidnia, F., Majidi, M.M., Mirlohi, A., Ahmadi, B., 2018. Physiological responses of drought tolerance in orchardgrass (*Dactylis glomerata*) in association with persistence and summer dormancy. *Crop and Pasture Science* 69: 515–526.
24. Saeidnia, F., Majidi, M.M., Mirlohi, A., Manafi, M., 2017. Productivity, persistence and traits related to drought tolerance in smooth brome grass. *Plant Breeding* 136: 270–278.
25. Sanaullah, M., Blagodatskaya, E., Chabbi, A., Rumpel, C., Kuzyakov, Y., 2011. Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. *Applied Soil Ecology* 48: 38–44.
26. Tripathi, P., Rabara, R.C., Reese, R.N., Miller, M.A., Rohila, J.S., Subramanian, S., Shen, Q.J., Morandi, D., Bücking, H., Shulaev, V., Rushton, P.J., 2016. A toolbox of genes, proteins, metabolites and promoters for improving drought tolerance in soybean includes the metabolite coumestrol and stomatal development genes. *BMC genomics* 17(1): 102.
27. Tyree, M.C., Seiler, J.R., Maier, C.A., 2014. Contrasting genotypes, soil amendments and their interactive effects on short-term total soil CO₂ efflux in a 3-year-old *Pinus taeda* L. plantation. *Soil Biology and Biochemistry* 69: 93–100.
28. Zhenhu, L., Kui Ying, L., Aifeng, Z., 2001. Review on study of drought resistance of turfgrass. *Crop Science* 23: 66–68.



Responses of Rhizosphere Microbial Communities in The Drought-Sensitive and -Tolerant Genotypes of *Bromus inermis*, *Dactylis glomerata* and *Festuca arundinacea* Species to Water Stress

S. Abdi Ardestani¹, B. Khalili¹ and M. M. Majidi²

(Received: 19 February 2021; Accepted: 22 August 2022)

Abstract

Root exudates and morphological root traits play an important role in plant species' response to drought. However, the functional consequences of these drought-induced changes for rhizosphere microbial communities are unknown. We hypothesized that drought-sensitive and -tolerant grass genotypes widely differ in the quality of root exudates, growth strategies, and root systems, which may affect rhizosphere microbial communities. Therefore, we examined microbial biomass carbon and nitrogen in the rhizosphere of drought-sensitive and -tolerant genotypes of *Bromus inermis*, *Dactylis glomerata*, and *Festuca arundinacea* species under four years water stress treatments at Lavark Farm of the Isfahan University of Technology. Responses of the rhizosphere microbial communities to the water stress varied by the plant genotypes. Water stress increased rhizosphere microbial biomass carbon in the drought-sensitive and -tolerant genotypes of *Bromus inermis* species. In contrast, water stress treatment significantly reduced microbial biomass in the rhizosphere of *Dactylis glomerata* genotypes. The effect of water stress on rhizosphere microbial biomass carbon was positive in the drought-sensitive genotypes of *Festuca arundinacea* species, while conversely, this effect was negative in the drought-tolerant genotypes. We found a similar pattern across two drought-sensitive and -tolerant genotypes of *Bromus inermis* species to the water stress, which could be an evolutionary strategy to overcome drought conditions through the stimulation of microbial biomass and activity and the subsequent mineralization of nutrients. Higher microbial biomass carbon in the rhizosphere soils relative to those in the control (bulk soil) were observed, regardless of the moisture treatment. Under the water stress, microbial biomass carbon were almost similar in the rhizosphere of drought-sensitive and -tolerant genotypes but were higher in the drought-tolerant genotypes without the stress.

Keywords: Water stress, Microbial biomass carbon, Microbial biomass nitrogen, Drought-sensitive genotypes, Drought-tolerant genotypes.

Background and Objective: Soil microbiomes drive ecosystem services such as organic matter decomposition and nutrient cycling and storage (3). Plants and heterotrophic soil microbes could have coevolved and root exudates are one of the main nutrient supplies for microbial communities and, hence, play a vital role in plant–microbial interactions (2). Drought-induced changes in the content and composition

1- Department of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

*: Corresponding author, Email: bkhalili@iut.ac.ir

of root exudates could lead to changes in the abundance and composition of soil microbes resulting in altered rates of C and N cycling processes (4). We hypothesized that drought-sensitive and -tolerant grass genotypes may differ widely in their drought-induced changes in the quality of root exudates, growth strategies and root systems which may drive the rhizosphere microbial communities.

Methods: We examined microbial biomass carbon and nitrogen in the rhizosphere of drought-sensitive and -tolerant genotypes of *Bromus inermis*, *Dactylis glomerata*, and *Festuca arundinacea* species under long-term water stress treatments on a Typic Haplargid, silty clay loam soil at Isfahan University of Technology Research Farm, Isfahan, Iran (32°30'N, 51°20'E). The 36 clonally propagated genotypes of orchardgrass were space-planted in the field according to a complete randomized blocks design with 12 replications in March 2012. Two soil moisture environments, well irrigated and water stress, were applied during the growing season. Under the well irrigated treatment, plants were watered after 50% depletion of the total available soil water from the root zone. Under the water stress treatment, irrigation was applied when 90% of the total available soil water was depleted from the root zone. The irrigation intervals were 5–8 and 15–19 days for the well irrigated and water stress treatments, respectively.

Results: Responses of the rhizosphere microbial communities to the water stress varied by the plant genotypes. The genotype was found to have significant ($P < 0.01$) effects on the microbial biomass carbon and nitrogen, while water stress showed significant ($P < 0.01$) effects only on the microbial biomass nitrogen. Microbial biomass carbon in the rhizosphere of drought-sensitive genotypes was affected marginally by the water treatments but reduced in the rhizosphere of drought-tolerant genotypes under water stress treatment. Water stress increased rhizosphere microbial biomass carbon in the drought-sensitive and -tolerant genotypes of *Bromus inermis* species. In contrast, water stress treatment significantly reduced microbial biomass in the rhizosphere of drought-sensitive and -tolerant *Dactylis glomerata* genotypes. The effect of water stress on rhizosphere microbial biomass carbon was positive in the drought-sensitive genotypes of *Festuca arundinacea*, while conversely, this effect was negative in the drought-tolerant genotypes. Higher microbial biomass carbons in the rhizosphere soils relative to those in the control (bulk soil) were observed, regardless of the moisture treatment. Soil water stress is known to influence plant biomass and alter biomass reallocation, which is all driven by plant species and the interval and intensity of the water stress (4). Azarbad et al. (1) revealed that wheat response to water stress is controlled by plant genotype and can also be mediated by the associated soil microbes, opening up new avenues for stimulating wheat tolerance to environmental stresses.

Conclusions: Similar patterns across two drought-sensitive and -tolerant genotypes of *Bromus inermis* species to the water stress could be an evolutionary strategy to overcome drought conditions through the stimulation of microbial biomass and activity and the subsequent mineralization of nutrients. Taken together, although some mechanisms of plant-microbes response to water stress remain unclear, our study supports the emerging viewpoint that predictions of plant and ecosystem response to water stress could be improved by considering the microbial abundance and functional processes in the rhizosphere.

References:

1. Azarbad, H., Constant, P., Giard-Laliberté, C., Bainard, L.D., Yergeau, E., 2018. Water stress history and wheat genotype modulate rhizosphere microbial response to drought. *Soil Biology and Biochemistry* 126: 228–236.
2. de Vries, F.T., Williams, A., Stringer, F., Willcocks, R., McEwing, R., Langridge, H., Straathof, A.L., 2019. Changes in root exudate induced respiration reveal a novel mechanism through which drought affects ecosystem carbon cycling. *New Phytologist* 224: 132–145.
3. Ochoa-Hueso, R., Collins, S.L., Delgado-Baquerizo, M., Hamonts, K., Pockman, W.T., Sinsabaugh, R.L., Smith, M.D., Knapp, A.K., Power, S.A., 2018. Drought consistently alters the composition of soil fungal and bacterial communities in grasslands from two continents. *Global Change Biology* 24(7): 2818–2827.
4. Sanaullah, M., Blagodatskaya, E., Chabbi, A., Rumpel, C., Kuzyakov, Y., 2011. Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. *Applied Soil Ecology* 48: 38–44.