Archive of SID

نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد نهم، شماره اول، ۱۳۹۸
۲۳-۴۳
http://ejsms.gau.ac.ir

تأثیر کاربرد متیل جاسمونات بر کارایی همزیستی *Rhizophagus intraradices* در گیاه یونجه تحت تنش کم‌آبی

***ستاره امانی‌فر[۱]، زینب حاجیلو[۲]، الهه وطن‌خواه[۳] و الهام ملک‌زاده[۴]**

[۱]استادیار گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه زنجان، [۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه زنجان، [۳]استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه زنجان، [۴]استادیار گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۶

چکیده

سابقه و هدف: همزیستی میکوریز آربوسکولار تحمل گیاه به کم‌آبی را افزایش می‌دهد. متیل جاسمونات (MeJA) هورمونی گیاهی مرتبط با فرآیندهای متعدد رشد و توسعه گیاه است که به‌نظر می‌رسد نقش مهمی در برهمکنش میکوریزی ایفا می‌کند. تنظیم هورمونی و رابطه همزیستی مزایایی را برای گیاه جهت غلبه بر شرایط تنشی فراهم می‌آورد. هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر کاربرد MeJA و همزیستی میکوریزی بر برخی ویژگی‌های رشدی و بیوشمیایی گیاه یونجه تحت تنش کم‌آبی بود.

مواد و روش‌ها: آزمایشی فاکتوریل با سه فاکتور شامل (۱) گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریزی *Rhizophagus intraradices* (AM) و یا تلقیح‌نشده (NM)، (۲) تیمار شده با سطوح صفر و ۵۰ میکرومولار MeJA و (۳) سطوح رطوبتی خاک شامل رطوبت ظرفیت زراعی (FC) و ۵۵ درصد FC اجرا شد. نیمی از گیاهان AM و NM، ۳۰ روز پس از رشد توسط اسپری برگی MeJA تیمار شدند و نیمی دیگر به‌عنوان تیمار بدون کاربرد متیل جاسمونات در نظر گرفته شدند. یک هفته پس از اعمال تیمار MeJA تنش کم‌آبی به‌مدت چهار هفته اعمال شد. پس از برداشت درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها، وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه، محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئیدها، قندهای محلول، پرولین، نیتروژن و فسفر در گیاه یونجه مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: کاربرد تیمار MeJA سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل در گیاهان AM و NM به‌ترتیب به‌میزان ۷۶/۶ و ۱۰۶/۶ درصد تحت رطوبت FC گردید ولی تحت تنش کم‌آبی فقط منجر به افزایش معنی‌دار کلروفیل کل در گیاهان NM به‌میزان ۱۱۶/۴ درصد شد. تنش کم‌آبی اثر معنی‌داری بر محتوای کاروتنوئیدها نداشت. نتایج به‌دست آمده بیانگر هم‌افزایی کاربرد هم‌زمان قارچ AM و تیمار MeJA در رطوبت FC بر محتوای کاروتنوئیدها بود. همچنین گیاهان AM تحت تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئیدها بیش‌تری در مقایسه با گیاهان NM نشان دادند. وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌های گیاهان AM تحت هر دو سطح رطوبتی و کاربرد یا عدم کاربرد MeJA به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهان NM بود. همچنین کاربرد MeJA سبب تقویت اثر مثبت کلنیزاسیون

* مسئول مکاتبه: amanifar@znu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

قارچی بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها در هر دو سطح رطوبتی گردید. وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها تحت تنش کم‌آبی و کاربرد هم‌زمان قارچ و MeJA به‌ترتیب ۳/٤ و ۲/۸ برابر نسبت به گیاهان NM افزایش یافت. وابستگی رشدی میکوریزی تحت تنش کم‌آبی در مقایسه با شرایط بدون تنش ۸٦/۹ درصد افزایش یافت ولی کاربرد MeJA تحت تنش کم‌آبی سبب کاهش معنی‌دار این پارامتر گردید. کاربرد MeJA و تنش کم‌آبی اثر معنی‌داری بر درصد کلنیزاسیون ریشه نشان ندادند در حالی‌که سبب افزایش معنی‌دار تولید پرولین و قندهای محلول تحت تنش کم‌آبی گردیدند. تیمار MeJA و تلقیح میکوریزی اثر هم‌افزایی در افزایش تجمع پرولین گیاهان تحت تنش داشت و منجر به افزایش معنی‌دار محتوای پرولین به‌ترتیب به‌میزان ۷۷/۳ و ٦۲/۲ درصد در بخش هوایی و ریشه در مقایسه با گیاهان NM تحت تنش کم‌آبی گردید. همچنین کاربرد MeJA سبب افزایش معنی‌دار جذب عناصر نیتروژن و فسفر و نسبت قندهای محلول ریشه به بخش هوایی به‌ترتیب به‌میزان ۷۷/۸، ٦٤/۳ و ۳۵/۱ درصد در گیاهان AM تحت رطوبت FC شد.

نتیجه‌گیری: کاربرد MeJA موجب تغییر معنی‌دار در تخصیص کربوهیدرات‌ها به ریشه‌ها در گیاهان میکوریزی گردید و همچنین کاربرد این هورمون گیاهی تحت شرایط تنش کم‌آبی وابستگی رشدی میکوریزی گیاهان تلقیح‌شده را کاهش داد. تیمار MeJA و همزیستی میکوریزی پاسخ گیاه یونجه به تنش کم‌آبی را بهبود داد و اثر مثبت تعاملی بین استفاده از فیتوهورمون MeJA و قارچ میکوریزی وجود داشت که موجب کاهش اختلال رشد در شرایط کم‌آبی با تغییر در ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه میزبان گردید.

واژه‌های کلیدی: اسمولیت، پرولین، کاروتنوئید، نیتروژن، هورمون گیاهی

مقدمه

گیاهان در طول زندگی خود ممکن است با طیف وسیعی از شرایط تنش‌زای محیطی از جمله دماهای بالا، خشکی، شوری و سمیت آلاینده‌ها مواجه شوند که این امر می‌تواند گیاهان را از دستیابی به رشد بهینه باز دارد (۳۰). با توجه به چالش‌های زیست‌محیطی بسیاری که در زمینه صنعت کشاورزی وجود دارد، برای کاهش اثر منفی تنش و بهبود عملکرد و رشد، از برخی از استراتژی‌ها مانند استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (به‌عنوان مثال هورمون‌های گیاهی) و یا تلقیح قارچ‌های میکوریز آربوسکولار[1] (AM) استفاده شده است (۲۵). امروزه پژوهش‌های گسترده‌ای برای شناخت ماهیت مقاومت، ترکیبات و عوامل مولکولی دخیل در مسیرهای تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در حال اجرا است.

ریزجانداران خاک‌زی مانند قارچ‌های AM نقش بسیار مهمی در حفاظت از گیاهان در مقابل شرایط تنش مانند خشکی و محدودیت‌های تغذیه‌ای دارند (۷). استقرار موفقیت‌آمیز قارچ در ریشه وضعیت تغذیه هر دو طرف همزیست را بهبود می‌بخشد. قارچ‌ها ترکیبات کربنی تثبیت شده را از گیاه میزبان دریافت می‌کنند، در حالی‌که گیاه به‌دلیل افزایش جذب عناصر غذایی توسط قارچ، از مقاومت بیش‌تری نسبت به تنش‌های زیستی و همچنین مقاومت در برابر بیماری‌ها بهره‌مند می‌گردد (۲۳). قارچ‌های AM با تسهیل جذب مواد معدنی از خاک، به‌ویژه فسفر، از رشد گیاه میزبان حمایت می‌کنند. در

1- Arbuscular Mycorrhiza (AM)

www.SID.ir

Archive of SID

عوض، تخمین زده می‌شود که ۲۰-٤ درصد قندهای تولید شده طی فتوسنتز به ریشه‌ها اختصاص داده می‌شود و بخش قابل‌توجهی به قارچ منتقل می‌شود. در نتیجه سنتز، متابولیسم و انتقال کربوهیدرات‌ها در طی همزیستی به‌عنوان یک سازوکار ضروری برای اطمینان از عرضه بهینه کربوهیدرات‌ها برای حفظ و استقرار قارچ در ریشه‌ها می‌باشد که با افزایش میزان فتوسنتز در اثر کلنیزاسیون میکوریزی حمایت می‌شود (٢٤). به‌طورکلی، همزیستی AM می‌تواند باعث افزایش میزان زیتوده گیاه به‌علت میزان جذب بالاتر مواد مغذی به‌طور ویژه عناصر کم‌تحرک شود (٦). قارچ‌های AM نیز نقش مهمی در بهبود تغذیه و رشد گیاهان تحت شرایط خشکی دارند به‌نحوی‌که آن‌ها را به‌عنوان اصلاح‌کنندگان زیستی خاک‌های خشک می‌نامند (٥٤). قارچ‌های AM به‌عنوان عامل بیولوژیکی مهمی برای رشد گیاهان در شرایط محدودیت آب می‌باشند که نه تنها با افزایش عرضه مواد مغذی بلکه با حمایت گیاهان در شرایط تنش آبی به میزبان یاری می‌رسانند (٤٦). همزیستی AM بر مورفولوژی ریشه و عملکرد آن تأثیر می‌گذارد که اغلب باعث تغییر فیزیولوژیک در گیاه میزبان در هر دو شرایط تنش رطوبتی و بدون تنش می‌شود. این همزیستی می‌تواند مقاومت به خشکی میزبان را افزایش دهد و وضعیت آب گیاه را به‌دلیل تغییرات در روابط آبی از طریق تغییر در سازوکار مربوط به جذب آب و یا تغذیه فسفر بهبود بخشد (١٩). سازوکارهای مطرح شده در ارتباط با نقش مثبت قارچ‌های AM شامل جذب مستقیم آب توسط هیف‌های خارج ریشه‌ای، افزایش جذب مواد مغذی، تنظیم روزنه‌ای و افزایش فتوسنتز، تنظیم اسمزی و افزایش کارایی مسیرهای سمیت‌زدایی سلولی می‌باشد (١٥).

جاسمونات‌ها به‌عنوان یک خانواده جدید از هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تنظیم فرآیند رشد و نمو گیاه دارند. این هورمون در گیاهان عالی، گلدهی و پیری گیاه را تنظیم می‌کند و منجر به راه‌اندازی پاسخ‌های مربوطه در واکنش به تنش‌های زیستی (حمله پاتوژن و حشرات) و تنش‌های غیرزیستی (کم‌آبی و شوری) می‌شوند (٥٢). متیل جاسمونات (MeJA) که متیل استر اسید جاسمونیک می‌باشد یک فیتوهورمون تنظیم‌کننده فرآیندهای توسعه و رشد از جمله تنظیم ژن‌های مرتبط با فتوسنتز و تخصیص کربن در اندام‌های مختلف گیاه می‌باشد و بیش‌تر شواهد که تا به امروز جمع‌آوری شده‌اند نشان می‌دهد که این دسته از هورمون‌ها ممکن است نقش مهمی در همزیستی میکوریزی داشته باشد (٢٤). نتایج تجدا و همکاران (٢٠٠٨) بیانگر آن است که یکی از سازوکارهای احتمالی جاسمونات‌ها برای تنظیم رابطه همزیستی، تنظیم تخصیص کربن در بخش‌های مختلف گیاه است و افزایش کلنیزاسیون قابل‌توجه در گیاهان میکوریزی در اثر کاربرد MeJA را دلیل بر نقش این هورمون به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت همزیستی دانسته‌اند (٤٧). رگوار و همکاران (١٩٩٦) مشاهده کردند که کاربرد برگی MeJA سبب افزایش رشد و همچنین افزایش کلنیزاسیون میکوریزی در گیاه سیر گردید. آن‌ها گزارش کردند که اثر تیمار MeJA و تلقیح قارچ AM بر رشد گیاه افزایشی بود. همچنین رشد ریشه گیاهان تلقیح‌شده هنگامی که MeJA استفاده شد، تسریع گردید و کلنیزاسیون میکوریزی و توسعه آربوسکول‌ها و وزیکول‌ها بر اثر کاربرد این هورمون گیاهی افزایش یافت (٣٥) سانچز- رومرا و همکاران (٢٠١٥) آثار کاربرد برون‌زای متیل جاسمونات بر هدایت هیدرولیکی ریشه گیاه لوبیای میکوریزی را تحت دو رژیم آبی (شرایط طبیعی و کم‌آبی) بررسی کردند. نتایج آن‌ها بیانگر آن بود که همزیستی AM هدایت هیدرولیکی ریشه (L) را تحت شرایط آبیاری طبیعی

www.SID.ir

Archive of SID

کاهش داد، در حالی‌که کاربرد MeJA نتیجه معکوس به دنبال داشت که به کاهش محتوای اکسین در ریشه‌ها نسبت داده شده است. کاربرد MeJA سبب تغییر L در پاسخ به کلنیزاسیون میکوریزی و کم‌آبی گردید که احتمالاً از طریق تغییر در مقادیر اکسین و اسید سالیسیلیک و سطح فسفوریلاسیون آکوپورین‌های غشایی سلول‌های گیاه می‌باشد (٤٢). آسنسیو و همکاران (۲۰۱۲) برهمکنش تنش کم‌آبی و MeJA با همزیستی میکوریزی را در گیاه گوجه‌فرنگی بررسی و مشاهده کردند که تولید ایزوپرونوئیدهای ضروری (یکی از متابولیت‌های گیاهی که در پاسخ دفاعی گیاه به تنش نقش دارد) و محتوای نیتروژن و فسفر در بخش هوایی گیاهان تلقیح‌شده با قارچ AM و تحت تیمار MeJA افزایش معنی‌داری داشت (٤).

معمولاً MeJA و قارچ میکوریزی هر یک به‌طور مستقل در محافظت از گیاه تحت تنش نقش ایفا می‌کنند. در پژوهش حاضر مشارکت MeJA و همزیستی قارچ میکوریزی درحضور عامل تنش‌زای کم‌آبی با استفاده از گیاه میزبان یونجه مورد بررسی قرار گرفت و رشد، میزان کلنیزاسیون میکوریزی، برخی ترکیبات بیوشیمیایی به همراه تغییرات احتمالی در جذب برخی عناصر پرمصرف از خاک ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

جهت اجرای مطالعه حاضر، آزمایشی فاکتوریل با سه فاکتور شامل (۱) گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریزی (AM) *Rhizophagus intraradices* و یا تلقیح‌نشده (NM)، (۲) تیمار شده با سطوح صفر (NT) و ۵۰ میکرومولار MeJA (MeJA) و (۳) سطوح رطوبتی خاک شامل رطوبت ظرفیت زراعی (FC)[1] و ۵۵ درصد FC (۵۵ FC درصد) اجرا شد. به‌منظور ضدعفونی سطحی بذرهای یونجه (*Medicago sativa* L.) از اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ٦۰ ثانیه و به‌دنبال آن از هیپوکلریت سدیم یک درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید (۳۲). جهت تلقیح با قارچ *R. intraradices*، مایه تلقیح قارچ شامل اندام‌های قارچی و قطعات ریشه‌های کلنیزه‌شده و کلنیزه‌نشده به همراه خاک به‌میزان ۵۰ گرم با پتانسیل ۱۷ اسپور در هر گرم مایه تلقیح به‌ازای هر گلدان به خاک بستر اضافه شد. در مورد گیاهان تلقیح‌نشده، همان مقدار مایه تلقیح قارچ با استفاده از اتوکلاو استریل و اضافه گردید. برخی ویژگی‌های مهم خاک مورد نظر بعد از هوا خشک کردن و عبور از الک دو میلی‌متری، شامل بافت (به روش هیدرومتر)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره گل اشباع (ECe)، درصد کربن آلی به روش والکلی- بلک و مقدار فسفر قابل‌جذب (با عصاره‌گیر بی‌کربنات سدیم) تعیین گردید (جدول ۱). همچنین رطوبت وزنی ظرفیت زراعی (FC) (در مکش معادل ۱۰ کیلوپاسکال) تعیین شد (جدول ۱) (۲٦). گلدان‌ها ضدعفونی‌شده و در داخل هر کدام از آن‌ها خاک اتوکلاو شده به مقدار دو کیلوگرم ریخته شد. گلدان‌ها تا پایان آزمایش در شرایط گلخانه نگهداری شدند. گلدان‌ها هر روز وزن شده و در صورت کاهش وزن گلدان به اندازه FC اولیه آبیاری می‌شدند. آبیاری گلدان‌ها تا یک ماه به‌صورت طبیعی و در حد رطوبت ظرفیت زراعی برای همه گلدان‌ها انجام گرفت. ۳۰ روز بعد از کشت، گیاهان برای تیمار با خشکی و MeJA آماده گردیدند. محلول MeJA (Sigma-Aldrich) با غلظت ۵۰ میکرومولار تهیه گردید و برگ‌های گیاه با این محلول‌ها اسپری شدند. برای تهیه محلول MeJA، استوک ۰/۱ مولار از متیل جاسمونات تهیه

1- Field Capacity (FC)

www.SID.ir

Archive of SID

گردید (ابتدا مقدار معین را در اتانول حل کرده و سپس با آب مقطر به حجم مورد نظر رسانده شد). برای تهیه غلظت مورد نظر در آزمایش، حجم موردنظر از استوک را برداشته و با آب مقطر به حجم رسانده شد. گیاهان شاهد با استفاده از آب مقطر حاوی چند قطره اتانول اسپری شدند. محلول‌پاشی برگی گیاهان سه بار و به‌صورت یک روز در میان صورت گرفت. در مجموع هر گلدان تقریباً ۲۱ میلی‌لیتر (تقریباً معادل ۰/۲۳۵ میلی‌گرم MeJA) از محلول MeJA را طی سه مرتبه اسپری برگی دریافت کرد. ٢٤ ساعت پس از آخرین محلول‌پاشی، تیمار رطوبتی در دو سطح ظرفیت زراعی و ۵۵ درصد ظرفیت زراعی اعمال گردید. میزان تخلیه رطوبتی خاک با توزین روزانه گلدان‌ها کنترل و آبیاری انجام شد. عملیات برداشت نیز چهار هفته پس از اعمال تنش انجام شد و پارامترهای زیر در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. جهت تأیید برقراری رابطه همزیستی و تعیین درصد کلنیزاسیون پوست ریشه، حدود یک گرم از ریشه‌های ظریف و ریز از هر گلدان جدا و با استفاده از تریپان بلو در لاکتوگلیسرول رنگ‌آمیزی شدند (۳۳) و درصد کلنیزاسیون با روش تقاطع خطوط شبکه (۲۱) محاسبه شد. پس از برداشت گیاه، زیتوده بخش هوایی و ریشه‌ها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌ها با استفاده از روش لیشتنتالر و بوشمن (۲۰۰۱) انجام شد (۲۸). بدین‌منظور ۰/۲ گرم بافت تر برگ در ۲۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی، صاف گردید و حجم نهایی به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد و جذب محلول‌ها به‌طور جداگانه در طول موج‌های ٦٦٣ نانومتر برای کلروفیل a و ٦٤٥ نانومتر برای کلروفیل b و ٤٧٠ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد و با استفاده از رابطه‌های زیر محتوای کلروفیل a (رابطه ۱)، کلروفیل b (رابطه ۲)، کاروتنوئیدها (رابطه ۳) و کلروفیل کل (رابطه ٤) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد. در این روابط W: وزن تر نمونه بر حسب گرم، A: جذب نور در طول موج‌های موردنظر و V: حجم محلول صاف شده بر حسب میلی‌لیتر می‌باشد.

$$\text{Chl.a (mg/g FW)} = (12.25\ A_{663.2} - 2.79\ A_{646.8})V/1000W \quad (۱)$$

$$\text{Chl. b (mg/g FW)} = (21.50\ A_{646.8} - 5.10\ A_{663})V/1000W \quad (۲)$$

$$\text{Car (mg/g FW)} = (1000\ A_{470} - 1.82\ \text{Chl. a} - 85.02\ \text{Chl. b})\ /198 \quad (۳)$$

$$\text{(mg/g FW)} = \text{Chl. a} + \text{Chl. b Chl. T} \quad (٤)$$

سنجش قندهای محلول با استفاده از معرف آنترون و بر اساس روش روئه (۱۹۵۵) تعیین گردید (٣٦). ابتدا، ۰/۳ گرم از بافت تر برگ و ریشه در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦٠ دقیقه قرار گرفت و کربوهیدرات‌های محلول استخراج شدند. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. برای سنجش قندهای محلول، ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به‌مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ٦٢٥ نانومتر خوانده شد. مقادیر قند محلول نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد گلوکز بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. سنجش مقدار پرولین با استفاده از معرف نین هیدرین و بر اساس روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت (۱۱). در ابتدا، ۰/۰۵ گرم از بافت خشک اندام هوایی و ریشه، در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد سائیده شد و سپس با کاغذ صافی واتمن صاف کرده و ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی حاصل از صاف کردن عصاره با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال مخلوط گردید و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از این مدت جهت قطع انجام همه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام آب سرد قرار داده شدند. سپس ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها به خوبی مخلوط شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به‌مدت ۲۰-۱۵ دقیقه، دو لایه مجزا در آن‌ها تشکیل شد. از فاز صورتی که حاوی تولوئن و پرولین بود برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده گردید. جذب این ماده در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین و مقدار پرولین هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه و ارائه شد. هضم نمونه‌ها به روش هضم تر با استفاده از اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک، آب اکسیژنه و سلنیوم انجام شد. میزان فسفر با روش رنگ‌سنجی وانادات- مولیبدات و مقدار نیتروژن به روش کجلدال اندازه‌گیری شد. وابستگی رشدی میکوریزی[1] (MGD) بر اساس رابطه ۵ محاسبه شد (٤٤):

$$\mathrm{MGD} = \frac{\text{Plant DW(+AM)} - \text{DW of Plant (-AM)}}{\text{Plant DW(+AM)}} \times 100 \qquad (۵)$$

که در آن، DW عبارت است از وزن خشک گیاهان میکوریزی‌شده (AM) و گیاهان بدون همزیست قارچی (AM). تجزیه داده‌ها با استقاده از تحلیل واریانس سه طرفه (تلقیح میکوریزی × تنش کم‌آبی × سطوح MeJA) انجام شد ولی بررسی آماری وابستگی میکوریزی و درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دو طرفه (تنش کم‌آبی × سطوح MeJA) صورت گرفت. آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها و سپس تحلیل واریانس و مقایسه میانگین آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2007 انجام گردید.

نتایج و بحث

ویژگی‌های خاک مورد استفاده: برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

1- Mycorrhizal Growth Dependency

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورداستفاده.

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil used.

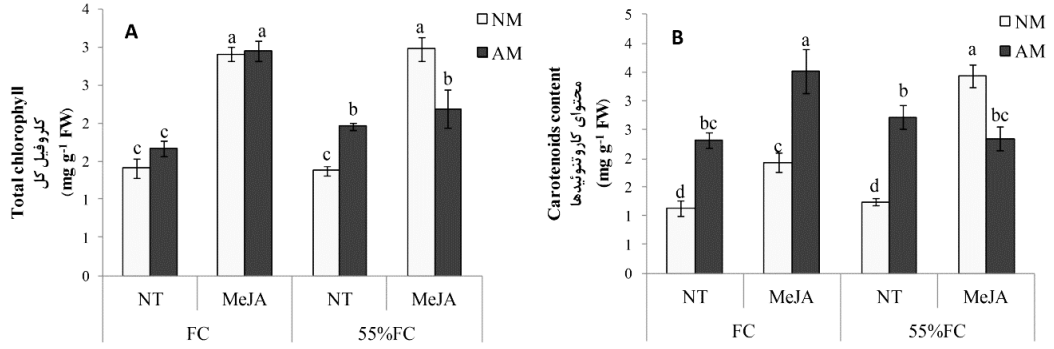
رطوبت ظرفیت زراعی Field Capacity (%)	فسفر قابل‌جذب P ($mg\ Kg^{-1}$)	درصد کربن آلی Organic Carbon (%)	pH	هدایت الکتریکی ECe ($dS\ m^{-1}$)	بافت Texture
14. 5	7.5	0.212	7.6	0.62	Sandy loam

پارامترهای گیاهی: محتوای کلروفیل کل گیاهان AM و NM تحت تیمار FC و هر دو سطح MeJA تفاوت معنی‌داری نداشتند اما در تیمار ۵۵ درصد ظرفیت زراعی گیاهان AM محتوای کلروفیل بالاتری به‌میزان ٤۲/۸ درصد در مقایسه با گیاهان NM نشان دادند ($P<۰/۰۵$). با کاربرد MeJA تحت تنش رطوبتی، گیاهان NM به‌طور معنی‌داری کلروفیل کل بالاتری نسبت به گیاهان AM نشان دادند (شکل ۱-A). حفظ کلروفیل برای انجام فتوسنتز تحت شرایط تنش ضروری است و تداوم فتوسنتز وابسته به حفظ کلروفیل است. به‌نظر می‌رسد در گیاهان NM و بدون کاربرد MeJA تحت تنش رطوبتی تخریب کلروفیل صورت نگرفته (٤۳) و با کاربرد این هورمون احتمالاً مسیر بیوسنتز این رنگدانه‌ها تحریک شده (٤۹) و منجر به افزایش غلظت آن‌ها گردیده است. لووها و همکاران (۲۰۰۸) نتایج مشابه را در گیاهچه‌های انبه گزارش کردند (۲۹). همچنین نقش MeJA بر افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۲) و بالا نگه داشتن محتوای نسبی آب در برگ گیاه که موجب حفاظت از کلروفیل‌ها می‌شود نیز قابل توجیه است. همان‌طور که در شکل ۱-A مشاهده می‌شود در شرایط بدون کاربرد MeJA و تنش کم‌آبی محتوای کلروفیل در گیاهان AM افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد. ماتور و ایاس (۲۰۰۰) گزارش کردند که کلنیزاسیون ریشه با قارچ‌های AM باعث افزایش سنتز کلروفیل می‌شود که با افزایش میزان فتوسنتز و رشد گیاه ارتباط دارد (۳۱). همچنین افزایش تولید کلروفیل تحت تنش کم‌آبی در گیاهان AM می‌تواند در پاسخ به تنش اسمزی و درنتیجه توسعه کلروپلاست باشد (۱۳). سازوکار تحمل تنش کم‌آبی می‌تواند در گیاهان به‌عنوان عملکردی از سطوح سازمانی گیاهان مورد تجزیه و تحلیل قرار بگیرد. پاسخ سلول به تنش اسمزی با تجمع کلروفیل گزارش شده است به‌طوری‌که سازوکارهای حفاظت از کلروپلاست فرصت این افزایش در محتوای کلروفیل را ایجاد می‌کند (۱۸).

گیاهان AM به‌طور معنی‌داری محتوای کاروتنوئید بالاتری تحت رطوبت FC و با کاربرد یا عدم کاربرد MeJA به‌ترتیب به‌میزان ۸۳ و ۱۰۵ درصد نسبت به گیاهان NM نشان دادند (شکل ۱-B). تیمار MeJA محتوای کاروتنوئید گیاهان NM را تحت تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری افزایش داد به‌طوری‌که محتوای کاروتنوئید گیاهان NM به‌میزان ٤٦ درصد بیش از گیاهان AM تیمارشده با MeJA بود و کاربرد این تیمار اثر معنی‌داری بر محتوای کاروتنوئید گیاهان AM نشان نداد (شکل ۱-B). کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو دارند و در حفاظت از کلروفیل نقش داشته و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۵۰). MeJA از طریق القای سازوکار دفاع آنتی‌اکسیدانتی غیرآنزیمی (مانند کاروتنوئیدها) در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نقش ایفا می‌کند (۵۳).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- محتوای کلروفیل کل (A) و کاروتنوئیدها (B) در گیاه یونجه. AM و NM عبارتند از گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *R. intraradices* و گیاهان بدون تلقیح با قارچ. NT و MeJA به‌ترتیب نشان‌دهنده گیاهان تیمارنشده و تیمار شده با متیل جاسمونات (۵۰ میکرومولار) می‌باشند. FC و 55%FC عبارتند از آبیاری تحت رطوبت ظرفیت مزرعه و ۵۵ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه. حروف لاتین غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، P≤۰/۰۵).

Figure 1. Content of total chlorophyll (A) and carotenoids (B) of alfalfa plant. AM and NM are representing *R. intraradices* inoculated and non-inoculated plants. NT and MeJA are representing not-treated and methyl jasmonate treated (50 µM) plants. FC and 55%FC are watering at field capacity and 55% of field capacity. Different letters indicate significant differences according to the Duncan's Multiple Range Test (P<0.05).

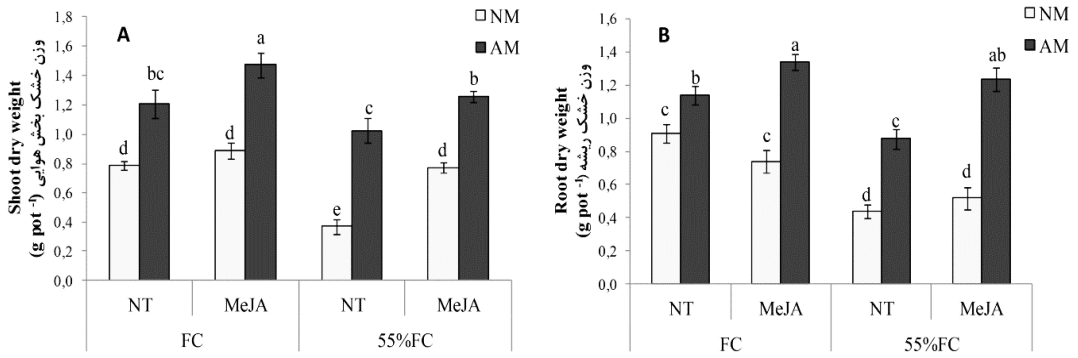
تلقیح با قارچ در هر دو سطح رطوبتی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش کاروتنوئیدها گردید. گونه‌هایی که بتوانند محتوای کاروتنوئید بیش‌تری داشته باشند، در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال، دفاع موفق‌تری داشته و در شرایط تنش کمبود آب تحمل بیش‌تری از خود نشان می‌دهند. تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (کاروتنوئیدها، فنل و آنتوسیانین‌ها) در برگ‌های کاهو تحت همزیستی میکوریزی و تنش کم‌آبی و شرایط بدون تنش گزارش شده است (۱۰). تحت رطوبت FC، تیمار MeJA سبب افزایش قابل‌توجه میزان کاروتنوئیدها در گیاهان میکوریزی گردید با این‌حال تحت شرایط تنش کاربرد این فیتوهورمون سبب بهبود محتوای کاروتنوئیدها نگردید. نتایج مشابه در مورد اثر هم‌افزایی همزیستی AM و کاربرد MeJA بر محتوای کاروتنوئیدها تحت تنش کم‌آبی توسط آسنسیو و همکاران (۲۰۱۲) در گیاه یونجه گزارش شده است (٤).

گیاهان AM تحت هر دو تیمار MeJA و هر دو سطح رطوبتی، وزن خشک بخش هوایی و ریشه بیش‌تری نسبت به گیاهان NM نشان دادند که این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار بودند (شکل ۲-A و ۲-B). کاربرد این فیتوهورمون به‌طور معنی‌داری سبب تقویت اثر مثبت کلنیزاسیون میکوریزی بر زیتوده گردید. همچنین تیمار MeJA در هر دو سطح رطوبتی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه‌ها در گیاهان NM نشان نداد. تیمار MeJA بر وزن خشک بخش هوایی گیاهان NM تحت رطوبت FC نیز معنی‌دار نبود در حالی‌که سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی این گیاهان به‌میزان ۱۰۹ درصد تحت تنش کم‌آبی گردید (شکل ۲-A و ۲-B). MeJA به‌عنوان یک مولکول علامت‌رسان گیاهی در رشد گیاه و پاسخ‌های دفاعی در شرایط تنش مشارکت دارد. اثر مثبت کاربرد این فیتوهورمون تحت تنش خشکی در گیاه سویا توسط انجوم و همکاران (۲۰۱۱) گزارش شده است. نتایج آن‌ها نشان‌دهنده افزایش قابل‌توجهی در عملکرد، فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز)، پرولین، محتوای نسبی آب به همراه کاهش هم‌زمان

www.SID.ir

Archive of SID

پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در اثر کاربرد MeJA در گیاهان تحت تنش کم‌آبی بود (۲). پژوهشگران آثار مثبت MeJA بر افزایش رشد نیشکر را تحت تنش کم‌آبی گزارش و آن را مرتبط با نرخ فتوسنتز بهبود یافته و افزایش کارایی مصرف آب تحت این تیمار دانسته‌اند (۱۷).



شکل ۲- وزن خشک بخش هوایی (A) و وزن خشک ریشه (B) گیاه یونجه. شرح علائم شکل مشابه شکل ۱ می‌باشد.

Figure 2. Shoot dry weight (A) and root dry weight of alfalfa plant. The description of symbols is same as Figure 1.

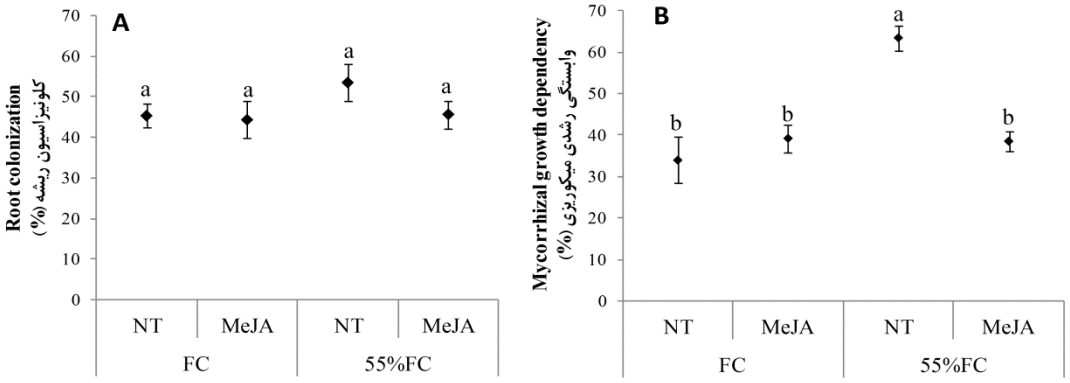
پژوهشگران طی مطالعه‌ای روی گیاه یونجه مشاهده کردند که زیتوده، میزان فتوسنتز، هدایت برگ و میزان تعرق در تمامی گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی تحت تنش رطوبتی کاهش یافت ولی بیش‌ترین کاهش در گیاهان غیرمیکوریزی مشاهده شد (۲۲). به‌طورکلی، همزیستی AM می‌تواند باعث افزایش زیتوده گیاهی به‌علت میزان جذب بالاتر مواد مغذی به‌طور ویژه عناصر کم‌تحرک شود (۳). علاوه بر امکان جذب مستقیم آب توسط هیف‌های خارج ریشه‌ای قارچ، این هیف‌ها می‌توانند اتصال خاک به ریشه را در خاک‌های خشک افزایش دهند (۳). خشکی خاک سبب ایجاد فضاهای خالی بین ریشه و خاک می‌شود که می‌تواند جذب آب را کاهش دهد. ریشه‌های موئین با گسترش در منافذ بسیار کوچک و اتصال مؤثر به ذرات خاک به واسطه ترشحات ریشه‌ای (موسیلاژ) می‌توانند شکاف ایجاد شده بین سطح ریشه و ذرات خاک را کاهش دهند. هیف‌های خارج ریشه‌ای قارچ‌های میکوریزی می‌توانند این عملکرد مشابه را، شاید حتی به‌طور مؤثرتری نسبت به ریشه‌های موئین داشته باشند، زیرا اغلب هیف‌ها می‌توانند بهتر از ریشه‌های موئین به منافذ ریز دسترسی داشته باشند (٦). اثرات هم‌افزایی تیمار MeJA با قارچ AM بر وزن خشک گیاه در هر دو سطح رطوبتی مشهود است (شکل ۲-A و ۲-B). نتایج مشابهی توسط رگوار و همکاران (۱۹۹٦) در ارتباط با برهمکنش مثبت همزیستی میکوریزی و کاربرد MeJA بر زیتوده و ارتفاع گیاه سیر گزارش شده است (۳۵).

همان‌طور که در شکل ۳-A مشاهده می‌شود نتایج مقایسات میانگین نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها تحت کاربرد MeJA و تنش کم‌آبی می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعات کوهلر و همکاران (۲۰۰۹) در کاهو نشان دهنده کاهش درصد کلنیزاسیون در شرایط تنش خشکی بود (۲۷). در صورتی‌که روئیز- سانچز و همکاران (۲۰۱۱) بر روی برنج به یافته‌هایی بر خلاف نتایج فوق دست یافتند و تنش رطوبتی تأثیر معنی‌داری بر درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها نشان نداد

www.SID.ir

Archive of SID

(۳۹). پتانسیل بالای کلنیزاسیون ریشه با یک گونه قارچی بر خلاف تنش آبی نشان‌دهنده سازگاری بهتر آن گونه و یا توانایی کلنیزاسیون تهاجمی این گونه در شرایط کم‌آبی می‌باشد (۳۸). پژوهشگران نتایج متفاوتی از تأثیر کاربرد MeJA بر کلنیزاسیون میکوریزی گزارش کرده‌اند. این نتایج گزارش شده تا حدود زیادی بستگی به زمان، فراوانی کاربرد، غلظت فیتوهورمون، گونه گیاهی و گونه قارچی دارد و همچنین تنوع در روش‌های به‌کار رفته می‌تواند دلیل نتایج متفاوت به‌دست آمده باشد. رگوار و همکاران (۱۹۹٦) و هررا- مدینا و همکاران (۲۰۰۸) افزایش میزان کلنیزاسیون ریشه گیاه را تحت کاربرد MeJA در آغاز رشد رویشی (پیش از تلقیح قارچ AM) گزارش کرده‌اند و بیان نموده‌اند که کلنیزاسیون میکوریزی به‌شدت توسط مسیر علامت‌دهی جاسمونات کنترل می‌شود (۲۳ و ۳۵). نتایج تجدا و همکاران (۲۰۰۸) بیانگر آن است که کاربرد خارجی MeJA ۳۰ روز پس از کلنیزاسیون قارچی تأثیری بر میزان کلنیزاسیون ریشه گوجه‌فرنگی وحشی نشان نداد (٤۷). سانچز- رومرا و همکاران (۲۰۱٦) با کاربرد MeJA پس از استقرار قارچ میکوریزی در ریشه گیاه لوبیا سبز و اعمال تنش خشکی تغییر معنی‌داری در میزان کلنیزاسیون ریشه‌ها مشاهده نکردند که نتایج دو مطالعه اخیر موافق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (٤۲).



شکل ۳- درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها (A) و وابستگی رشدی میکوریزی (B) در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *R. intraradices*. شرح علائم شکل مشابه شکل ۱ می‌باشد.

Figure 3. Root colonization percentage (A) and mycorrhizal growth dependency (B) of *R. intraradices* inoculated plants. The description of symbols is same as Figure 1.

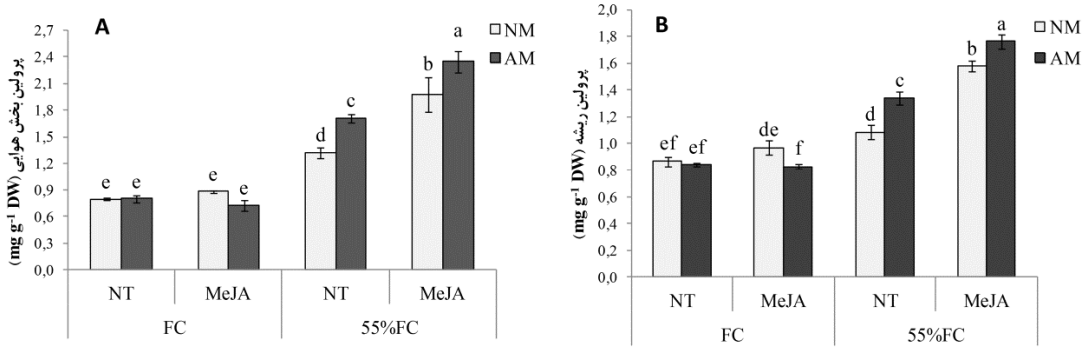
همان‌طور که در شکل ۳-B مشاهده می‌شود تحت تنش کم‌آبی گیاهان AM بیش‌ترین وابستگی را در تیمار بدون کاربرد MeJA نشان دادند و با کاربرد MeJA وابستگی میکوریزی تحت شرایط تنشی به‌طور معنی‌داری به‌میزان ۳۹/۳ درصد کاهش یافت. همچنین تغییرات وابستگی میکوریزی تحت رطوبت FC با کاربرد MeJA از نظر آماری معنی‌داری نبود (شکل ۳-B). از آن‌جا که رابطه مورد استفاده برای محاسبه وابستگی میکوریزی حاصل اختلاف وزن خشک گیاه میکوریزی و غیرمیکوریزی است که به‌صورت درصدی از وزن خشک گیاه میکوریزی بیان می‌شود، کاهش اختلاف وزن خشک منجر به کاهش شاخص محاسبه شده در گیاهان تلقیح‌شده می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد فیتوهورمون تأثیری بر محتوای پرولین گیاهان AM و NM تحت شرایط بدون تنش نداشت ولی کاربرد MeJA تحت تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش پرولین بخش هوایی و ریشه‌ها در گیاهان AM و NM گردید و تفاوت بین گیاهان AM و NM از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0/05$) (شکل ٤-A و ٤-B). گیاهان AM تحت تنش کم‌آبی و کاربرد هر دو سطح MeJA به‌طور معنی‌داری محتوای پرولین بیش‌تری نسبت به گیاهان NM نشان دادند ($P<0/05$) و کاربرد MeJA و تلقیح میکوریزی در افزایش تجمع پرولین در ریشه و بخش هوایی گیاهان تحت تنش اثر هم‌افزایی داشت ($P<0/05$) (شکل ٤-A و ٤-B). تحت شرایط بدون تنش رطوبتی، در ریشه‌ها به‌طور مشابه با بخش هوایی، کلنیزاسیون میکوریزی اثری بر محتوای پرولین ریشه‌ها نداشت. همچنین تحت شرایط بدون تنش، کاربرد MeJA اثر معنی‌داری بر تولید پرولین در ریشه گیاهان AM و NM نشان نداد (شکل ٤-A و ٤-B).

در شرایط طبیعی میزان پرولین در سلول کم است اما وقتی گیاه در محیط دارای پتانسیل آبی پایین قرار می‌گیرد می‌تواند از طریق افزایش غلظت اسمولیت‌هایی مانند پرولین به جذب آب ادامه دهد (٤٠). تنش‌های محیطی، از جمله تنش کم‌آبی، منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در گیاهان می‌شود. بهبود تحمل به تنش اغلب به افزایش محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان مرتبط است. با توجه به سمیت ROS، گیاهان نیاز به سیستم‌های سم‌زدایی مناسب دارند که باعث می‌شود هرچه سریع‌تر این ترکیبات را حذف کنند. پرولین می‌تواند به‌عنوان یک شکارگر رادیکال آزاد نیز عمل کند و پژوهشگران بیان نموده‌اند که این عملکرد پرولین در غلبه بر تنش مهم‌تر از عملکرد آن به‌عنوان یک اسمولیت ساده است (٢٠).



شکل ٤- محتوای پرولین بخش هوایی (A) و ریشه (B) در گیاه یونجه. شرح علائم شکل مشابه شکل ١ می‌باشد.

Figure 4. Shoot proline content (A) and root proline content (B) of alfalfa plant. The description of symbols is same as Figure 1.

افزایش محتوای پرولین بابونه در معرض تنش کم‌آبی با کاربرد پیش‌تیمار MeJA قبل از اعمال تنش گزارش شده است (٤١). یون و همکاران (٢٠٠٩) گزارش کردند کاربرد MeJA قبل از اعمال تنش در گیاهان می‌تواند موجب تغییراتی در سطوح هورمون‌های گیاهی درونزا و محتوای پرولین شود که در نهایت ممکن است به گیاه در کاهش اثرات مضر تنش کمک کند (٥٤). همچنین انجوم و همکاران (٢٠١١) بیان

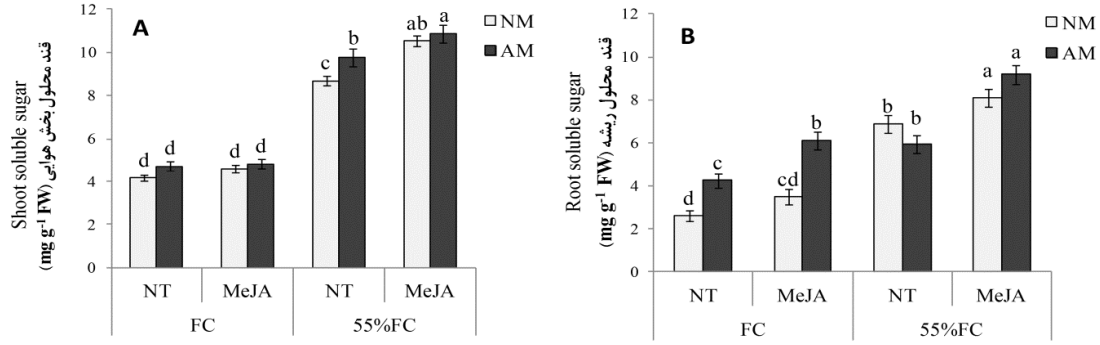
www.SID.ir

Archive of SID

نموده‌اند که کاربرد MeJA مسیر بیوسنتز پرولین در گیاهان تحت تنش کم‌آبی را القا می‌کند که موافق با نتایج این پژوهش می‌باشد (۲).

تا به امروز پژوهش‌ها در زمینه تنظیم اسمزی طی همزیستی میکوریزی محدود و گزارش‌های انتشاریافته تا حدودی متناقض است. سطوح پرولین و سایر ترکیبات نیتروژنی در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی پس از تنش خشکی به‌عنوان معیاری از ظرفیت سازگاری یا آسیب مورد بررسی قرار می‌گیرد (۵). برخی پژوهشگران غلظت‌های پایین‌تر پرولین در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی پس از تنش خشکی را گزارش کرده و آن را مرتبط با مقاومت به خشکی بیش‌تر گیاهان تلقیح شده دانسته‌اند و این به معنای آسیب کم‌تر در این گیاهان می‌باشد (۳۷). از طرف دیگر نتایجی بیانگر غلظت پرولین بالاتر در گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی پس از تنش خشکی گزارش شده است که پژوهشگران آن را به‌دلیل مقاومت بیش‌تر به خشکی در گیاهان تلقیح شده می‌دانند که به‌عنوان مثال در نتیجه تنظیم اسمزی مؤثرتر ایجاد می‌شود (۸). افزایش معنی‌دار پرولین ریشه در گیاهان AM در مقایسه با گیاهان NM تحت تنش کم‌آبی در هر دو سطح MeJA می‌تواند بیانگر مجهز شدن ریشه به سازوکار اسمزی برای فراهم آوردن یک شیب پتانسیل آب مطلوب برای ورود آب به ریشه‌ها باشد، بنابراین آسیب کم‌تری تحت تنش به گیاه وارد می‌شود.

کاربرد MeJA تأثیر معنی‌داری بر محتوای قند محلول بخش هوایی درگیاهان AM و NM تحت رطوبت FC نداشت ولی تحت تنش رطوبتی سبب افزایش معنی‌دار آن به‌میزان ۱۱/۱ و ۲۱ درصد به‌ترتیب در گیاهان AM و NM شد (P<۰/۰۵). تیمار MeJA در حالی‌که سبب افزایش تولید قندهای محلول در ریشه گیاهان NM و AM تحت تنش کم‌آبی شد ولی منجر به افزایش معنی‌دار این اسمولیت تحت رطوبت FC تنها در ریشه گیاهان AM به‌میزان ٤٤/۲ درصد گردید.



شکل ۵- محتوای قند محلول بخش هوایی (A) و قند محلول ریشه (B) گیاه یونجه. شرح علائم شکل مشابه شکل ۱ می‌باشد.

Figure 5. Shoot soluble sugar content (A) and root soluble sugar content (B) of alfalfa plant. The description of symbols is same as Figure 1.

وو و همکاران (۲۰۱۲) عدم تفاوت در تولید قندهای محلول در گیاهچه‌های گل کلم تیمارشده با MeJA تحت شرایط بدون تنش رطوبتی را در مقایسه با شاهد بدون کاربرد این تیمار نشان‌دهنده عدم القاء تنش اسمزی در اثر کاربرد MeJA دانسته‌اند. همچنین آنان افزایش قابل‌توجه تجمع قندهای محلول در گیاهچه‌های تیمارشده با MeJA تحت تنش آبی را گزارش کرده‌اند (۵۳). نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده

www.SID.ir

Archive of SID

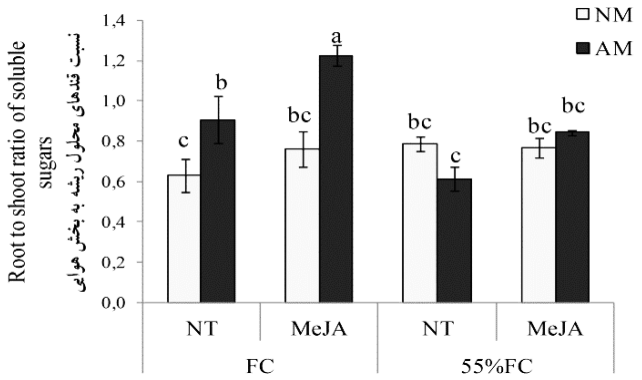
کاهش آسیب ناشی از تنش کم‌آبی با کاربرد MeJA می‌باشد چرا که انباشت قندهای محلول و پرولین موجب کاهش پتانسیل اسمزی سلولی شده و منجر به جذب آب، حفظ فشار تورگر و تعادل اسمزی می‌گردد (۵۳). افزایش غلظت قند می‌تواند در نتیجه تجزیه نشاسته باشد و نشاسته ممکن است نقش مهمی در انباشت قندهای محلول در سلول‌ها ایفا کند. انباشت قندهای محلول با شدت تحمل به خشکی در گیاه ارتباط مستقیم دارد (۱). در شرایط بدون تنش، قندهای محلول در ریشه گیاهان AM بیش‌تر از گیاهان NM بود (شکل ۵-B). تنش خشکی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تجمع قندهای محلول در ریشه گیاهان AM و NM شد ولی تفاوت مشاهده شده بین گیاهان AM و NM معنی‌دار نبود. در بخش هوایی، قندهای محلول در گیاهان AM و NM تحت رطوبت FC مشابه بود. تنش کم‌آبی مقدار قندهای محلول در گیاهان NM و AM را به‌ترتیب ۱۰۹ و ۱۰۶ درصد افزایش داد و گیاهان AM به‌طور معنی‌داری محتوای قند بالاتری نسبت به گیاهان NM نشان دادند. افزایش معنی‌دار قندهای محلول در ریشه گیاهان میکوریزی توسط فنگ و همکاران (۲۰۰۲) در گیاه ذرت گزارش شده است (۱۶). غلظت بالای قندهای محلول در بخش هوایی گیاهان AM تحت تنش کم‌آبی نشان‌دهنده تنظیم اسمزی بهتر در گیاهان تلقیح‌شده در مقایسه با گیاهان NM است. کلنیزاسیون قارچی برای جبران نیاز کربنی قارچ و جلوگیری از کاهش رشد میزبان، فتوسنتز گیاه را تحریک می‌کند. مصرف کربن توسط قارچ AM می‌تواند تا ۲۰ درصد از فرآورده فتوسنتزی گیاه میزبان باشد. بنابراین، هنگامی که همزیست قارچی در ریشه گیاهان استقرار می‌یابد، ریشه به یک بخش مصرف کربوهیدرات تبدیل می‌شود و قارچ میکوریزی بر کل توازن کربن گیاه تأثیر می‌گذارد. در نتیجه، نیاز به کربوهیدرات توسط قارچ AM می‌تواند باعث افزایش تجمع و انباشت قندهای محلول در ریشه‌ها شود (۳۴). این تجمع بالاتر قندهای محلول در ریشه گیاهان AM می‌تواند گیاهان را به تنش اسمزی مقاوم سازد (۱۶). قارچ AM از گلوکز میزبان برای ساخت ترهالوز استفاده می‌کند که برای حفظ رشد قارچی ضروری است. ترهالوز متابولیتی متعلق به قارچ‌های میکوریزی است که نقش آن حفاظت از غشاها و پروتئین‌ها می‌باشد. بنابراین همزیست قارچی به‌شدت برای کربن اختصاص‌یافته به ریشه رقابت می‌کند و منجر به افزایش تخصیص کربوهیدرات‌ها به ریشه‌ها می‌شود (۳۴). همزیستی میکوریزی بر میزان و توزیع کربن بین شکل‌های محلول و نامحلول در ریشه میزبان تأثیر می‌گذارد. نتایج مربوط به مقایسه سطوح قندهای محلول در ریشه‌های میکوریزی و غیرمیکوریزی متناقض است. غلظت قندهای محلول در ریشه‌های میکوریزی در مقایسه با ریشه‌های غیرمیکوریزی ممکن است کم‌تر، بیش‌تر یا برابر باشد (۱۴). پژوهشگرانی که محتوای قند محلول بالاتری در ریشه‌های میکوریزی مشاهده کرده‌اند بیان نموده‌اند که کلنیزاسیون میکوریزی به احتمال زیاد سبب افزایش تقاضای ریشه‌ها برای کربوهیدرات‌ها حتی بیش‌تر از مقدار مورد نیاز برای حمایت از همزیست قارچی می‌شود(۴۸). همچنین افزایش سطح فسفر در ریشه‌ها ممکن است از سنتز نشاسته ممانعت کند. فسفات معدنی از عملکرد آنزیم ADP- گلوکزپیروفسفوریلاز[1] که مرحله مهمی از سنتز نشاسته را کاتالیز می‌کند، ممانعت می‌کند که با سطوح پایین نشاسته و افزایش میزان قندهای محلول در ریشه گیاهان میکوریزی نسبت به غیرمیکوریزی نشان داده شده است و بدون در نظر گرفتن نیاز همزیست قارچی باید مورد توجه قرار گیرد (۱۴). پرسل و لوئیز- روزانو (۲۰۰۴) نیز

1- ADP-Glucose Pyrophosphorylase

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش قندهای محلول در ریشه گیاهان میکوریزی را گزارش کردند و نتایج آن‌ها نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین قندهای محلول بخش هوایی در گیاهان AM و NM تحت شرایط بدون تنش رطوبتی بود (۳٤). همان‌طورکه در شکل B-۵ مشاهده می‌شود تحت تنش کم‌آبی، مقادیر قند در ریشه‌های گیاهان AM و NM مشابه بود و این امر نشان می‌دهد همزیستی میکوریزی تأثیری بر محتوای قندهای محلول ریشه در پاسخ به تنش نداشته است. در مقابل، در بخش هوایی مقدار قند گیاهان AM به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهان NM بود که نشان‌دهنده توانمندی بهتر گیاهان تلقیح‌شده در تولید و تجمع قندهای محلول در شرایط تنشی که رشد و فتوسنتز گیاه دچار اختلال می‌شود، می‌باشد. سوبرامانیان و همکاران (۱۹۹۷) افزایش قندهای محلول در ریشه گیاهان ذرت (رقم مقاوم به خشکی) تلقیح‌شده را تحت شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی گزارش کرده‌اند ولی در بخش هوایی این افزایش فقط تحت شرایط تنش معنی‌دار بود (٤۵).



شکل ٦- نسبت قندهای محلول ریشه به بخش هوایی گیاه یونجه. شرح علائم شکل مشابه شکل ۱ می‌باشد.

Figure 6. Root to shoot ratio of soluble sugars of alfalfa plant. The description of symbols is same as Figure 1.

جاسمونات‌ها می‌توانند باعث تحریک بیوسنتز کربوهیدرات در بخش هوایی و انتقال آن‌ها به ریشه‌ها شوند که این مسأله می‌تواند جذب عناصر غذایی را تسهیل کند و در نهایت مقاومت گیاه را افزایش دهد (۹). واسترناک و هاوس (۲۰۱۳) بیان نمودند که افزایش درونی سطوح اسید جاسمونیک احتمالاً از راه تخصیص تسریع‌شده محصولات فتوسنتزی به ریشه‌ها منجر به افزایش شکل‌گیری همزیستی می‌شود (۵۱). نتایج شکل ٦ بیانگر آن است که کاربرد MeJA سبب افزایش معنی‌دار نسبت قندهای محلول ریشه به بخش هوایی در گیاهان AM تحت رطوبت FC به‌میزان ۳۵/۱ درصد شده است که ممکن است نشان‌دهنده افزایش تخصیص کربوهیدرات‌ها به ریشه‌ها در گیاهان میکوریزی باشد. با این‌حال تحت تنش رطوبتی نتایج متفاوت بود و بر اساس نتایج مقایسات میانگین بین گیاهان AM و NM تفاوت معنی‌داری از این نظر وجود نداشت. همچنین این نسبت در گیاهان AM تحت تنش نسبت به رطوبت FC به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌نظر می‌رسد در شرایط تنشی تخصیص کربوهیدرات از بخش هوایی به ریشه کاهش می‌یابد در نتیجه میزان کربوهیدرات در اندام هوایی افزایش می‌یابد که به مصرف تنظیم اسمزی می‌رسد. اطلاعات چندانی در زمینه کاربرد خارجی MeJA به‌عنوان هورمون گیاهی تنظیم‌کننده همزیستی

www.SID.ir

Archive of SID

میکوریزی و اثر آن بر کربوهیدرات‌ها وجود ندارد و مطالعات تکمیلی در این زمینه مورد نیاز می‌باشد.

تحت رطوبت FC و بدون کاربرد فیتوهورمون کلنیزاسیون میکوریزی سبب افزایش معنی‌دار غلظت نیتروژن بخش هوایی گردید. کاربرد MeJA تحت رطوبت FC اثر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن و فسفر گیاهان AM و NM نشان نداد (جدول ۲). تحت تنش کم‌آبی و بدون کاربرد MeJA نیز گیاهان AM به‌طور معنی‌داری غلظت فسفر بالاتری نسبت به گیاهان NM نشان دادند ولی اثر کلنیزاسیون قارچی تحت تنش کم‌آبی بر غلظت نیتروژن معنی‌دار نبود. کاربرد MeJA اثر معنی‌داری بر غلظت فسفر در هر دو تیمار قارچی و غلظت نیتروژن در گیاهان NM نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسات میانگین جذب عناصر بیانگر افزایش معنی‌دار محتوای نیتروژن و فسفر در گیاهان AM و NM با کاربرد MeJA بود. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، گیاهان AM در تمام تیمارها به‌طور معنی‌داری محتوای نیتروژن و فسفر بالاتری نسبت به گیاهان NM نشان دادند.

جدول ۲- غلظت ($mg\ g^{-1}$) و محتوای ($mg\ pot^{-1}$) نیتروژن و فسفر بخش هوایی گیاه یونجه تلقیح‌نشده (NM) و تلقیح‌شده (AM) با قارچ *R. intraradices* و تیمارشده (MeJA) یا نشده (NT) با متیل جاسمونات تحت رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) و 55%FC.

Table 2. N and P concentration ($mg\ g^{-1}$) and content ($mg\ pot^{-1}$) of alfalfa non-inoculated (NM) or inoculated (AM) with *R. intraradices* and treated with methyl jasmonate (MeJA) or not-treated (NT) under field capacity moisture (FC) and 55% FC.

قارچ Fungi	کم‌آبی Water deficit	متیل جاسمونات Methyl jasmonate	N ($mg\ g^{-1}$)	P ($mg\ g^{-1}$)	N ($mg\ pot^{-1}$)	P ($mg\ pot^{-1}$)
AM	FC	NT	26.2 ± 2.6 ^{ab}	3.08 ± 0.09 ^{ab}	25.42 ± 2.78 ^{c}	2.97 ± 0.22 ^{d}
		MeJA	30.6 ± 3.2 ^{a}	3.31 ± 0.07 ^{a}	45.20 ± 4.85 ^{a}	4.88 ± 0.64 ^{a}
	55% FC	NT	21.2 ± 2 ^{cd}	3.05 ± 0.1 ^{ab}	25.08 ± 1.17 ^{c}	3.62 ± 0.38 ^{c}
		MeJA	27.2 ± 1.6 ^{ab}	3.40 ± 0.08 ^{a}	34.26 ± 1.24 ^{b}	4.28 ± 0.07 ^{b}
NM	FC	NT	20.6 ± 2.8 ^{cd}	2.98 ± 0.14 ^{ab}	11.61 ± 0.67 ^{de}	1.69 ± 0.10 ^{e}
		MeJA	23.7 ± 1.9 ^{bc}	3.24 ± 0.09 ^{ab}	18.01 ± 1.21 ^{d}	2.46 ± 0.25 ^{d}
	55% FC	NT	17.2 ± 2.7 ^{d}	2.46 ± 0.26 ^{c}	6.38 ± 0.72 ^{f}	0.92 ± 0.22 ^{f}
		MeJA	19.3 ± 2.9 ^{cd}	2.75 ± 0.29 ^{bc}	11.18 ± 1.51 ^{e}	1.57 ± 0.30 ^{e}

حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (آزمون دانکن، P<۰/۰۵).

AM، WS و MeJA به‌ترتیب نشان‌دهنده میکوریز، تنش آبی و متیل جاسمونات می‌باشند.

Values labeled with the different letters in each column are significantly different according to the Duncan test (P<0.05).
AM, WS and MeJA are denoted mycorrhiza, water stress and methyl jasmonate.

آبدل گاواد و همکاران (۲۰۱٤) بیان کردند پیش تیمار گیاه ذرت با MeJA منجر به افزایش پتاسیم، فسفر و نیتروژن در شرایط بدون تنش و یا در سطوح متفاوت تنش کم‌آبی شد که مطابق نتایج به‌دست آمده از این پژوهش می‌باشد (۱). نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده ظرفیت بیش‌تر گیاهان AM نسبت به گیاهان NM برای جذب و انتقال نیتروژن با استفاده از تیمار MeJA تحت تنش کم‌آبی است که موافق با نتایج آسنسیو و همکاران (۲۰۱۲) می‌باشد (٤). به‌نظر می‌رسد MeJA با تأثیری که بر فرآیندهای فیزیولوژیکی دارد به‌طور غیرمستقیم جذب عناصر و انتقال آن به اندام هوایی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

بهبود تغذیه گیاهان تلقیح‌شده با قارچ AM نه تنها به جذب مواد غذایی مرتبط می‌باشد بلکه همچنین به اثرات غیرمستقیم تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ریشه‌های تلقیح‌یافته نیز مربوط می‌شود. اندازه یک گیاه می‌تواند روابط آبی گیاه را تحت‌تأثیر قرار دهد و همزیستی میکوریزی اغلب بر اندازه گیاه تأثیر می‌گذارد. گیاهان بزرگ‌تر با سیستم‌های ریشه‌ای بزرگ‌تر ممکن است به ذخایر آب و عناصر غذایی بیش‌تری دسترسی داشته باشند و بنابراین اثرات اندازه گیاه اغلب در شرایط کم‌آبی مشهود است (۵).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه بیانگر آن است که اثر مثبت تعاملی بین استفاده از فیتوهورمون MeJA و قارچ AM موجب کاهش اختلال رشد در شرایط کم‌آبی با تغییر در ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه میزبان شد. همچنین نتایج نشان داد که قندهای محلول و پرولین به‌عنوان علامت‌های کلیدی پاسخ دفاع اسمزی، سبب افزایش رشد در گیاهان دارای همزیست میکوریزی می‌گردد.

منابع

1. Abdelgawad, Z., Khalafaallah, A.A., and Abdallah, M. 2014. Impact of methyl jasmonate on antioxidant activity and some biochemical aspects of maize plant grown under water stress condition. Agricultural Sciences. 5: 12. 1077-1088.
2. Anjum, S., Wang, L., Farooq, M., Khan, I., and Xue, L. 2011. Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defence system and yield in soybean under drought. J. Agron. Crop Sci. 197: 4. 296-301.
3. Armada, E., López-Castillo, O., Roldán, A., and Azcón, R. 2016. Potential of mycorrhizal inocula to improve growth, nutrition and enzymatic activities in *Retama sphaerocarpa* compared with chemical fertilization under drought conditions. J. Soil Sci. Plant Nutr. 16: 2. 380-399.
4. Asensio, D., Rapparini, F., and Peñuelas, J. 2012. AM fungi root colonization increases the production of essential isoprenoids vs. nonessential isoprenoids especially under drought stress conditions or after jasmonic acid application. Phytochemistry. 77: 149-161.
5. Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza. 11: 1. 3-42.
6. Augé, R.M. 2004. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. Can. J. Soil Sci. 84: 4. 373-381.
7. Azcón, R., and Barea, J.M. 2010. Mycorrhizosphere interactions for legume improvement. P 237-271, In: M.S. Khanf, A. Zaidi, and J. Musarrat (eds.), Microbes for legume improvement, Springer, Vienna.
8. Azcón, R., Gomez, M., and Tobar, R. 1996. Physiological and nutritional responses by *Lactuca sativa* L. to nitrogen sources and mycorrhizal fungi under drought conditions. Biology and Fertility of Soils. 22: 1-2. 156-161.
9. Babst, B.A., Ferrieri, R.A., Gray, D.W., Lerdau, M., Schlyer, D.J., Schueller, M., Thorpe, M.R., and Orians, C.M. 2005. Jasmonic acid induces rapid changes in carbon transport and partitioning in Populus. New Phytologist. 167: 1. 63-72.
10. Baslam, M., and Goicoechea, N. 2012. Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves. Mycorrhiza. 22: 5. 347-359.
11. Bates, L., Waldren, R., and Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39: 1. 205-207.
12. Bouché, N., Fait, A., Bouchez, D., Møller, S.G., and Fromm, H. 2003. Mitochondrial succinic-semialdehyde dehydrogenase of the γ-aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences. 100: 11. 6843-6848.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Chang, C.C., Locy, R., Smeda, R., Sahi, S., and Singh, N. 1997. Photoautotrophic tobacco cells adapted to grow at high salinity. Plant Cell Reports. 16: 7. 495-502.
14. Douds, D.D., Pfeffer, P.E., and Shachar-Hill, Y., Carbon partitioning, cost. and metabolism of arbuscular mycorrhizas. P 107-130, In: Y. Kapulnikand and D.D. Douds (eds.), Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
15. Fan, Q.J., and Liu, J.H. 2011. Colonization with arbuscular mycorrhizal fungus affects growth, drought tolerance and expression of stress-responsive genes in *Poncirus trifoliata*. Acta Physiologiae Plantarum. 33: 4. 1533-1542.
16. Feng, G., Zhang, F., Li, X., Tian, C., Tang, C., and Rengel, Z. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza. 12: 4. 185-190.
17. Fugate, K.K., Lafta, A.M., Eide, J.D., Li, G., Lulai, E.C., Olson, L.L., Deckard, E.L., Khan, M.F., and Finger, F.L. 2018. Methyl jasmonate alleviates drought stress in young sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants. J. Agron. Crop Sci. 204: 6. 566-576.
18. García-Valenzuela, X., García-Moya, E., Rascón-Cruz, Q., Herrera-Estrella, L., and Aguado-Santacruz, G.A. 2005. Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyllic cells. J. Plant Physiol. 162: 6. 650-661.
19. García, A.N., Árias, S.d.P.B., Morte, A., and Sánchez-Blanco, M.J. 2011. Effects of nursery preconditioning through mycorrhizal inoculation and drought in *Arbutus unedo* L. plants. Mycorrhiza. 21: 1. 53-64.
20. Gill, S.S., and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 48: 12. 909-930.
21. Giovannetti, M., and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist. 84: 3. 489-500.
22. Goicoechea, N., Antolin, M., and Sánchez-Díaz, M. 1997. Gas exchange is related to the hormone balance in mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa subjected to drought. Physiologia Plantarum. 100: 4. 989-997.
23. Herrera-Medina, M.J., Tamayo, M.I., Vierheilig, H., Ocampo, J.A., and García-Garrido, J.M. 2008. The jasmonic acid signalling pathway restricts the development of the arbuscular mycorrhizal association in tomato. J. Plant Growth Regul. 27: 3. 221-230.
24. Herrera-Medina, M.J., Steinkellner, S., Vierheilig, H., Bote, J.A.O., and Garrido, J.M.G. 2007. Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. New Phytologist. 175: 3. 554-564.
25. Khalloufi, M., Martínez-Andújar, C., Lachaâl, M., Karray-Bouraoui, N., Pérez-Alfocea, F., and Albacete, A. 2017. The interaction between foliar GA3 application and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improves growth in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants by modifying the hormonal balance. J. Plant Physiol. 214: 134-144.
26. Klute, A. 1986. Water retention: Laboratory methods. P 635-686, In: A. Klute (ed.). Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods. 2nd edition. Agronomy Monograph. 9. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
27. Kohler, J., Hernández, J.A., Caravaca, F., and Roldán, A. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Environmental and Experimental Botany. 65: 2-3. 245-252.
28. Lichtenthaler, H.K., and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. P 431-438, In: R.E., Wrolstad, T.E. Acree, H. An, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J.

www.SID.ir

Archive of SID

Schwartz, C.F. Shoemaker and P. Sporns (eds.), Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Chapter F4. Chlorophylls, John Wiley and Sons, New York, NY, USA.

29. Luvaha, E., Netondo, G., and Ouma, G. 2008. Effect of water deficit on the physiological and morphological characteristics of mango (*Mangifera indica*) rootstock seedlings. Amer. J. Plant Physiol. 3: 1. 1-15.
30. Mahajan, S., and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics. 444: 2. 139-158.
31. Mathur, N., and Vyas, A. 2000. Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass production, nutrient uptake and physiological changes in *Ziziphus mauritiana* Lam. under water stress. Journal of Arid Environments. 45: 3. 191-195.
32. Park, S., and Ahn, Y.J. 2016. Multi-walled carbon nanotubes and silver nanoparticles differentially affect seed germination, chlorophyll content and hydrogen peroxide accumulation in carrot (*Daucus carota* L.). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 8: 257-262.
33. Phillips, J.M., and Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society. 55: 1. 158-161.
34. Porcel, R., and Ruiz-Lozano, J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. J. Exp. Bot. 55: 1743-1750.
35. Regvar, M., Gogala, N., and Zalar, P. 1996. Effects of jasmonic acid on mycorrhizal Allium sativum. New Phytologist. 134: 4. 703-707.
36. Roe, J.H. 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. J. Biol. Chem. 212: 335-343.
37. Ruiz-Lozano, J., and Azcón, R. 1997. Effect of calcium application on the tolerance of mycorrhizal Lettuce plants to polyethylene glycol. Symbiosis. 23: 1. 9-22.
38. Ruiz-Lozano, J., Azcón, R., and Gomez, M. 1995. Effects of arbuscular-mycorrhizal glomus species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. Applied and Environmental Microbiology. 61: 2. 456-460.
39. Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., de Salamone, I.E.G., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J.M., and Azcón, R. 2011. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. J. Plant Physiol. 168: 10. 1031-1037.
40. Said-Al Ahl, H., and Omer, E. 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review. Herba Polonica. 57: 1. 72-87.
41. Salimi, F., Shekari, F., and Hamzei, J. 2016. Methyl jasmonate improves salinity resistance in German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) by increasing activity of antioxidant enzymes. Acta Physiologiae Plantarum. 38: 1. 1-14.
42. Sánchez-Romera, B., Ruiz-Lozano, J.M., Zamarreño, Á.M., García-Mina, J.M., and Aroca, R. 2016. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and methyl jasmonate avoid the inhibition of root hydraulic conductivity caused by drought. Mycorrhiza. 26: 2. 111-122.
43. Schütz, M., and Fangmeier, A. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution. 114: 2. 187-194.
44. Smith, S.E., Smith, F.A., and Jakobsen, I. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. J. Plant Physiol. 133: 1. 16-20.
45. Subramanian, K., Charest, C., Dwyer, L., and Hamilton, R. 1997. Effects of arbuscular mycorrhizae on leaf water potential, sugar content and P content during drought and recovery of maize. Can. J. Bot. 75: 9. 1582-1591.

www.SID.ir

Archive of SID

46. Symanczik, S., Lehmann, M.F., Wiemken, A., Boller, T., and Courty, P.E. 2018. Effects of two contrasted arbuscular mycorrhizal fungal isolates on nutrient uptake by *Sorghum bicolor* under drought. Mycorrhiza. 28: 8. 779-785.
47. Tejeda-Sartorius, M., Martínez de la Vega, O., and Délano-Frier, J.P. 2008. Jasmonic acid influences mycorrhizal colonization in tomato plants by modifying the expression of genes involved in carbohydrate partitioning. Physiologia Plantarum. 133: 2. 339-353.
48. Trimble, M.R., and Knowles, N.R. 1995. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth, carbohydrate partitioning and mineral nutrition of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants during establishment. Can. J. Plant Sci. 75: 1. 239-250.
49. Ueda, J., and Saniewski, M. 2006. Methyl jasmonate-induced stimulation of chlorophyll formation in the basal part of tulip bulbs kept under natural light conditions. J. Fruit Ornam. Plant Res. 14: 199-210.
50. Vranová, E., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inzé, D., and Van Camp, W. 2000. Oxidative stress, heat shock and drought differentially affect expression of a tobacco protein phosphatase 2C. J. Exp. Bot. 51: 1763-1764.
51. Wasternack, C., and Hause, B. 2013. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in Annals of Botany. Annals of Botany. 111: 6. 1021-1058.
52. Wasternack, C., and Parthier, B. 1997. Jasmonate-signalled plant gene expression. Trends in Plant Science. 2: 8. 302-307.
53. Wu, H., Wu, X., Li, Z., Duan, L., and Zhang, M. 2012. Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. J. Plant Growth Regul. 31: 1. 113-123.
54. Yoon, J.Y., Hamayun, M., Lee, S.K., and Lee, I.J. 2009. Methyl jasmonate alleviated salinity stress in soybean. J. Crop Sci. Biotechnol. 12: 2. 63-68.

www.SID.ir

Archive of SID

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 9(1), 2019
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

The effect of methyl jasmonate application on *Rhizophagus intraradices* symbiosis efficiency in alfalfa plant under water deficit stress

***S. Amanifar[1], Z. Hajiloo[2], E. Vatankhah[3] and E. Malekzadeh[4]**

[1]Assistant Prof., Dept. of Soil Science Engineering, University of Zanjan, [2]M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science Engineering, University of Zanjan, [3]Assistant Prof., Dept. of Biology, University of Zanjan, [4]Assistant Prof., Dept. of Soil Science Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 11.18.2018; Accepted: 01.06.2019

Abstract

Background and Objectives: The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances plant tolerance to water deficit. Methyl jasmonate (MeJA) is a phytohormone related to multiple developmental and growth processes, which might play an important role in the mycorrhizal interaction. Hormonal regulation and the symbiotic relationship provide benefits for plants to overcome stress conditions. The aim of this study was to evaluate the effects of MeJA application and mycorrhizal symbiosis on some growth and biochemical properties of alfalfa plant under water deficit stress.

Materials and Methods: A combined factorial design was performed with three factors: (1) plants non-inoculated (NM) or inoculated with the mycorrhizal fungus *Rhizophagus intraradices* (AM) (2) untreated plants and plants treated with 50 µm MeJA and (3) soil moisture levels including field soil capacity (FC) and 55% FC. Half of the plants received a MeJA treatment through foliar spray 30 days after growth and the other half of the plants were considered as not- MeJA treated. Water deficit treatment was applied one week after hormone applying for four weeks. After harvest, root colonization percentage, dry weight of shoots and roots, total chlorophyll and carotenoids contents, soluble sugars and proline contents, as well as P and N contents, were assessed.

Results: MeJA application significantly increased total chlorophyll content of AM and NM plants at FC moisture by 76.6% and 106.6%, respectively. MeJA caused a significant increase only in chlorophyll content of NM plants under water deficit stress by 116.4%. Water deficit stress had no significant effect on carotenoids content. Obtained results indicated synergistic effect of the co-treatment of mycorrhiza and MeJA on carotenoids content at FC moisture. In addition, the content of total chlorophyll and carotenoids significantly were higher under water deficit stress in AM plants than NM plants. Dry weights of shoot and root of AM plants under all soil moisture and MeJA treatments were significantly higher than NM plants. Moreover, the application of MeJA augmented the positive effect of mycorrhizal colonization on shoot and root dry weights under both moisture levels. Shoot and root dry weights under water deficit stress and co-treatment of mycorrhiza and MeJA increased 3.4 and 2.8-folds, respectively, compared to NM plants. Mycorrhizal growth dependency (MGD) was increased by 86.9% under water deficit stress condition compared with the non-stressed condition. However, MGD was decreased significantly by MeJA application in stressed-plants. MeJA application and water deficit stress did not exhibit a significant effect on mycorrhizal colonization rate while they increased proline and soluble sugar production. Co-treatment of mycorrhiza and MeJA had a significant synergistic effect on proline accumulation in shoots and roots of stressed plants by 77.3% and 62.2% respectively compared with stressed NM

* Corresponding Author; Email: amanifar@znu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

plants. Furthermore, MeJA application caused a significant increase in N and P contents and root to shoot ratio of soluble sugars of AM plants by 77.8%, 64.3% and 35.1% respectively at FC moisture level.

Conclusion: MeJA application induced a significant change in carbohydrate allocation to roots in mycorrhizal plants and also decreased MGD of stressed plants. MeJA treatment and mycorrhizal symbiosis improved plant response to water deficit stress and there was an interactive positive effect between MeJA and mycorrhizal fungi which alleviated growth impairment under water deficit conditions by modifying the physiological and biochemical properties of the host plant.

Keywords: Carotenoids, Nitrogen, Osmolyte, Phytohormone, Proline

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir