نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰، ص. ۳۳۶-۳۲۸

Journal of Agroecology
Vol. 3, No. 3, Fall 2011, p. 328-336

تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی خصوصیات جو (*Hordeum vulgare* L.) در شرایط تنش خشکی

مهدی قبولی[۱]، فرج ا... شهریاری[۲]، مژگان سپهری[۳] و حسن مرعشی[٤] و قاسم حسینی سالکده[۵*]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۴/۰۳

چکیده

اندوفیت‌های میکروبی که از مهمترین میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در گیاهان میزبان خود، عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه کشت آنها در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنش‌های غیر زیستی و زیستی را فراهم می‌آورند. قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* دارای خاصیت برانگیختگی رشد گیاه و افزایش مقاومت آن به تنش‌های محیطی از جمله خشکی، شوری و نیز بیماری‌های گیاهی می‌باشد. این پژوهش به بررسی توان قارچ اندوفیت *P. indica* در بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) به تنش خشکی می‌پردازد. بدین منظور، در سال ۱۳۸۹، آزمایش گلخانه‌ای در گلخانه پژوهشکده بیوتکنولوژی اصفهان در قالب طرح کاملا تصادفی (آزمایش فاکتوریل) با دو فاکتور شامل دو سطح قارچ (تلقیح و عدم تلقیح) و سه سطح خشکی (ظرفیت زراعی (F.C.)، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) با چهار تکرار انجام گرفت. نتایج حاصله نشان داد که قارچ *P. indica* سبب افزایش زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد بود، بطوریکه وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد به ترتیب ۳۹ و ۴۶ درصد افزایش نشان داد. همچنین در شرایط تنش محتوای نسبی آب گیاهان تلقیح شده بالاتر بود. علاوه بر فعالیت تحریک کنندگی رشد گیاه توسط قارچ نتایج حاکی از نقش موثر این قارچ در بهبود خصوصیات گیاه جو تحت شرایط تنش خشکی خصوصاً در سطح ۲۵F.C. درصد دلالت دارد. با توجه به این نتایج و نیز امکان کشت این قارچ در محیط کشت مصنوعی و بدون حضور میزبان، به نظر می‌رسد که امکان استفاده از این قارچ به عنوان عامل محرک رشد گیاه در تولید کود بیولوژیک برای انواع گیاهان زراعی وجود دارد و این قارچ می‌تواند نقش مهمی در نیل به کشاورزی پایدار ایفاء نماید. همچنین با توجه به شرایط اقلیمی کشور ایران استفاده از این قارچ برای بهبود رشد و عملکرد گیاهانی نظیر جو، گندم و غیره تحت شرایط خشکی می‌تواند سودمند واقع شود.

واژه‌های کلیدی: تلقیح، تنش‌های محیطی، قارچ‌های میکوریزی، کشاورزی پایدار

مقدمه

با توجه به تلاش‌ها و تحقیقات گسترده جهانی محققان در دهه‌های اخیر برای افزایش عملکرد محصولات کشاورزی، تامین غذای بشر هنوز چالش عمده‌ای محسوب می‌شود. عوامل اصلی کاهش عملکرد محصولات، تنش‌های زیستی و غیرزیستی ناشی از شرایط آب و هوایی نامطلوب و آفات و بیماری‌های گیاهی می‌باشد (Waller et al., 2005). خشکی شایع‌ترین تنش محیطی است که به عنوان اصلی‌ترین عامل کاهش عملکرد گیاهان زراعی محسوب می‌شود. بخش وسیعی از زمین‌های تحت کشت محصولات عمده کشاورزی همانند گندم (*Triticum aestivum* L.) و جو (*Hordeum vulgare* L.) در مناطق خشک و نیمه خشک ایران قرار گرفته است و این گیاهان در معرض شرایط نامطلوب محیطی مانند شوری و خشکی قرار دارند. پاسخ گیاهان به تنش خشکی بسیار پیچیده است و شامل تغییرات کشنده و سازگارشونده می‌باشد. در راستای سازگاری گیاه به شرایط آب و هوایی خشک، تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و تجمع متابولیت‌های جدید همزمان با تغییرات ساختاری موجب افزایش کارایی و عملکرد گیاه تحت شرایط تنش‌زا می‌گردد. از اینرو،

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، استادیار گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد و دانشیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج
(*- نویسنده مسئول: E-mail: h_salekdeh@abrii.ac.ir)

Archive of SID
www.SID.ir

درک بهتر روابط محیط و ژنوتیپ گیاه و بررسی خصوصیات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی گیاه در شرایط نامساعد محیطی به خصوص تنش خشکی باعث درک بهتر نحوه سازگاری گیاه و وقایع دخیل در مکانیسم‌های تحمل به خشکی خواهد شد. از اینرو، افزایش توان گیاهان برای تحمل تنش‌های محیطی ناشی از کمبود آب و حضور املاح اضافی در خاک، از نظر افت عملکرد مهم می‌باشد (Sminorff, 1993). روش‌های بیولوژیک مبتنی بر استفاده از پتانسیل ارگانیسم‌های مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، نقش موثری در افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی بر عهده دارند. از بین گروه‌های مختلف میکروبی خاک، باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (دی‌آزوتروف‌ها)، میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات‌های نامحلول، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[1] و قارچ‌های میکوریزا از اجزای اصلی و مهم سیستم پایدار خاک- میکروب- گیاه به شمار می‌آیند (Bohnert & Jensen, 1996).

یکی از مهمترین روابط همزیستی در عالم حیات که در طی دوره تکامل به وجود آمده است، همزیستی میکوریزا می‌باشد که در آن، ریشه گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده فعالیت می‌کنند و از یکدیگر سود می‌برند. قارچ‌های میکوریزا وزیکولار- آربوسکولار[2] از جمله قارچ‌های سودمند محسوب می‌شوند. قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار[3] با فراهم نمودن سطح جذب‌کننده وسیع‌تری برای انتقال عناصر غذایی موجود در خاک به ریشه گیاهان، سبب بهبود رشد گیاه می‌گردند. از دیگر مزایای این ارتباط مفید می‌توان به تولید انواع هورمون‌های محرک رشد گیاه (از جمله اکسین، سیتوکینین و ...)، افزایش عملکرد محصول، افزایش مقاومت گیاه به عوامل بیماریزای ریشه، کمک به کاهش تنش‌های محیطی (حرارت، شوری و آلودگی خاک به سموم یا فلزات سنگین) و از همه مهمتر کاهش مصرف کودهای شیمیایی اشاره نمود (Krich et al., 2000). قارچ‌های میکوریزا AM همزیست اجباری هستند، زیرا روی محیط‌های غذایی متداول به سهولت رشد نمی‌کنند و تولید انبوه مایه تلقیح معمولاً با روش تکثیر این قارچ در مجاورت سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان مناسب انجام می‌شود که این خود سبب ایجاد مشکلات متعددی در زمینه تولید مایه تلقیح شده و چالش عظیمی در علم میکوریزا بوجود آورده است. تاکنون تحقیقات متعدد مولکولی در زمینه شناسایی و برطرف نمودن موانع ژنتیکی عدم رشد قارچهای میکوریزا در محیطهای مصنوعی و امکان تکثیر سریع و تولید انبوه این قارچها به منظور تولید کود بیولوژیک و استفاده از آن در برنامه‌های کشاورزی پایدار به عمل آمده، اما متأسفانه هیچ یک از آنها چندان موفقیت‌آمیز نبوده است. قارچ *P. indica* از قارچهای اندوفیت است که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران (Varma et al., 1998) از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی‌پسند کهور (*Prosopis juliflora* DC.) و کنار (*Zizyphus nummularia* W.) از صحرای تار[4] ایالت راجستان[5] کشور هندوستان جداسازی شد. *P. indica* دارای دامنه وسیعی از گیاهان میزبان است که با کلنیزاسیون ریشه آنها سبب تحریک شدید رشد میزبانهای خود می‌گردد. *P. indica* با تعداد زیادی از گیاهان عالی (تک و دولپه‌ای) رابطه همزیستی برقرار می‌نماید. این گیاهان شامل انواع خشکی‌پسند، بوته‌های یکساله و چندساله و درختان چوبی می‌باشند (Singh et al., 2000). تأثیر تلقیح قارچ *P.indica* در افزایش زیست توده گیاهان دیگری نظیر ذرت (*Zea mays* L.)، تنباکو (*Nicotiana tabaccum* L.)، جعفری (*Petroselinum crispum* L.)، درمنه (*Artemisia annula* L.) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri* L.) توسط وارما و همکاران (Verma et al., 1998) نیز گزارش شده است. نتایج حاصل از مطالعات آنها حاکی از افزایش زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح‌شده با قارچ به میزان دو برابر نسبت به گیاهان شاهد تلقیح نشده بود. اثر تحریک‌کنندگی رشد این قارچ بر گیاهان بقولات شامل نخود (*Cicer arietinum* L.)، نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.) لوبیا (*Phaseolus aereus* L.) و سویا (*Glycine max* L.)، گیاه دارویی *Adhatoda vasica* L. و اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) نیز اثبات شده است (Rai & Varma, 2001; Rai & Varma, 2005; Varma et al., 2004). با تلقیح بعضی از گیاهان متعلق به خانواده شب‌بو شامل کلم (*Brassica oleracea* L.)، اسفناج و خردل (*Brassica juncea* L.) با قارچ *P. indica* افزایش رشد این گیاهان را در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد. نتیجه این تحقیق نشان داد که بر خلاف قارچهای میکوریزی آربوسکولار که قادر به ایجاد همزیستی با گیاهان خانواده شب‌بو نمی‌باشند، قارچ *P. indica* واجد این توانایی است و اثر تحریک‌کنندگی رشد بر اعضای این خانواده را نیز دارد (Kumari et al., 2003). قارچ *P. indica* برخلاف قارچهای میکوریزا آربوسکولار که همزیست اجباری گیاهان میزبان هستند، همزیست اختیاری می‌باشد و به آسانی در محیطهای کشت مصنوعی قادر به رشد است. دامنه میزبانی این قارچ و توان کشت بر روی محیط کشت مصنوعی نقطه روشنی در علم میکوریزا ایجاد کرده و محققان فعال در عرصه میکوریزا را امیدوار به کشت و تکثیر این قارچ میکوریزا بدون نیاز به کشت همراه با گیاه میزبان نموده است (Varma et al., 1998).

اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز

1- Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)
2- Vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM)
3- Arbuscular mycorrhizae (AM)

4- Thar
5- Rajasthan

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و عوامل بیماریزای ریشه و برگ توسط محققین مختلف گزارش شده است (Kumari et al., 2003; Rai et al., 2001; Rai & Varma, 2005; Waller et al., 2005; Sepehri et al., 2009). اثرات مثبت ناشی از برقراری رابطه همزیستی قارچ اندوفیت *P. indica* بر بقا و افزایش رشد گیاهان میزبان در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان که با دو معضل عمده خشکی و شوری روبرو هستند، توجه پژوهشگران را به خود جلب نموده است. جمع‌آوری جدایه‌های مختلف این قارچ از خاک مناطق بیابانی و مراتع و استفاده از آنها به عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی مهم مناطق مذکور در برنامه‌های به‌زراعی، در رأس این پژوهش‌ها قرار دارد و از این راه می‌توان از پتانسیل بالای مراتع و بیابان‌ها نیز در جهت نیل به کشاورزی پایدار استفاده کرد.

بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی توان قارچ اندوفیت *P. indica* در بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه جو به تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه، تشخیص و تکثیر مایه تلقیح قارچ *P. indica*

مایه تلقیح اولیه قارچ از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه گردید (مایه تلقیح ابتدایی از کشور آلمان تهیه شده است). توسط اسکالپل مقداری از قارچ از سطح محیط کشت جدا شده و با استفاده از رنگ‌آمیزی فوشین اجسام کروی و میسیلیوم‌های قارچ در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد. تولید مایه تلقیح قارچ برای آلوده ساختن ریشه گیاه، مستلزم وجود تعداد کافی اسپور قارچ است، لذا با تهیه تعداد کافی پتری‌دیش محتوی محیط کشت پیچیده[1] (حاوی عناصر میکرو، ماکرو و نمک‌ها)، جدایه قارچ مذکور کشت داده شد و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور به مدت چهار هفته نگهداری شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم جهت تولید اسپور، مقدار ۳۰-۲۰ میلی‌لیتر محلول آب-توئین ۲۰ درصد به هر پتری‌دیش افزوده شد و پس از جمع‌آوری اسپورهای قارچی موجود در هر پتری‌دیش، تعداد آنها با استفاده از لام نئوبار شمارش شد.

کشت گیاه و اعمال تیمارها

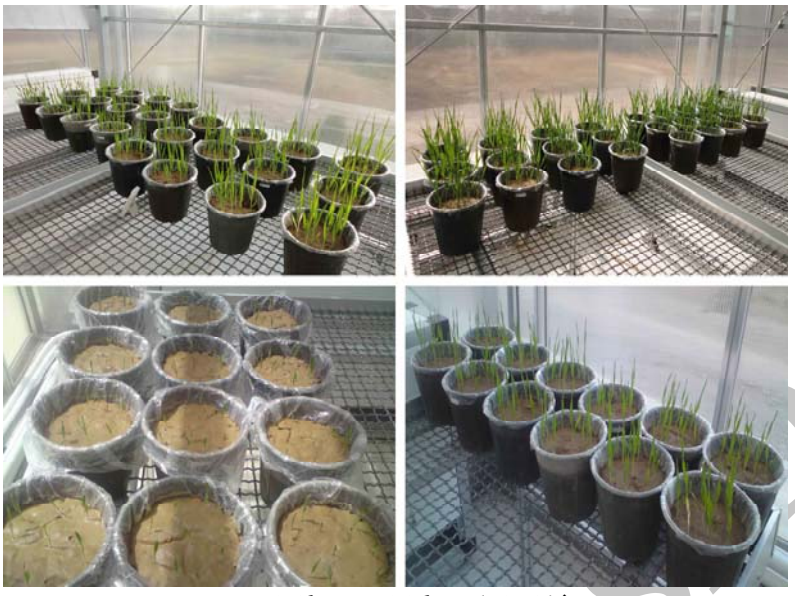
به منظور انجام این پژوهش، آزمایش گلخانه‌ای در گلدان‌های پنج کیلوگرمی با استفاده از خاک طبیعی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. برای جلوگیری از اثرات ناخواسته سایر میکروارگانیسم‌های موجود در خاک، خاک به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو استریل گردید. فاکتورهای آزمایش شامل سه سطح خشکی (ظرفیت زراعی[2] (F.C.)، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و دو سطح تیمار قارچی (تلقیح و عدم تلقیح) بودند. ابتدا بذرهای جوانه‌دار شده جو واریته Golden promise با مقداری مایه تلقیح قارچ حاوی 5×10^5 میلی‌لیتر در لیتر اسپور تلقیح و به مدت چهار ساعت بر روی شیکر با دور آرام قرار داده شدند تا امکان اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه‌چه فراهم شود، سپس نه گیاهچه تلقیح‌شده با قارچ در داخل هر گلدان کاشته شد. لازم به ذکر است که در مورد تیمارهای شاهد، بذرهای جوانه‌دار شده جو بدون تلقیح با اسپورهای قارچ در گلدان‌های حاوی بستر کشت کاشته شدند. گلدان‌ها پس از کشت، به گلخانه با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعته و با بیشینه دمای روزانه ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ درصد به مدت چهار هفته منتقل گردیده و با آب مقطر آبیاری شدند. پس از گذشت یک هفته از کاشت گیاهان، نمونه‌برداری از ریشه گیاهان تلقیح‌شده برای تعیین میزان آلودگی ریشه با قارچ (درصد کلونیزاسیون ریشه: نسبت ریشه‌هایی که در آنها اندام‌های قارچ مشاهده شده نسبت به ریشه‌هایی که در آنها اندام‌های قارچ مشاهده نشد. این نسبت برای گیاهان شاهد برابر با صفر بود.) صورت پذیرفت. برای اعمال تنش خشکی، ظرفیت زراعی خاک مورد نظر در آزمایشگاه خاکشناسی تعیین گردید که برابر با ۲۷/۵ درصد بود. بر این اساس و با توجه به وزن گلدان‌های خالی و خاک خشک (میزان آن در تمام گلدان‌ها ثابت بود)، وزن گلدان و میزان آب مورد نیاز برای هر یک از سطوح تنش مشخص شد. آب مورد نیاز برای رساندن خاک گلدان‌ها به سطوح F.C.، ۵۰F.C. درصد و ۲۵F.C. درصد به ترتیب ۷۸۰، ۳۹۰ و ۱۹۵ میلی‌لیتر و وزن گلدان‌ها به ترتیب ۳۷۰۰، ۳۳۱۰ و ۳۱۱۴ گرم بود. گلدان‌ها تا ۱۴ روز در حد ظرفیت زراعی نگه داشته شدند و اعمال تنش خشکی ۱۴ روز بعد از کاشت گیاهان انجام شد. تنش خشکی با قطع آبیاری و با توزین روزانه گلدان‌ها و تنظیم آنها در حد تنش مورد نظر اعمال شد. لازم به ذکر است که در شرایط کنترل (عدم اعمال تنش خشکی)، آبیاری گیاهان به صورت منظم انجام گرفت و رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی تنظیم شد. پس از گذشت چهار هفته از اعمال تنش و اندازه‌گیری صفاتی همچون ارتفاع اندام هوایی و محتوای نسبی آب، نمونه‌برداری از اندام‌های گیاهی (برگ و ریشه) انجام شد. پس از تعیین وزن تر نمونه‌های گیاهی برداشت‌شده، نمونه‌های مذکور به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک آنها نیز محاسبه گردید. شکل ۱ مراحل رشد گیاهان را در گلخانه تحقیقاتی نشان می‌دهد.

1- Complex medium

2- Field capacity

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- کشت گیاهان جو در گلخانه

Fig. 1- Sowing of seedlings in pot in greenhouse

به منظور مقایسه گیاهان شاهد و گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica*، تجزیه آماری نتایج حاصل از اندازه‌گیری خصوصیاتی نظیر وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و محتوای نسبی آب گیاه با استفاده از نرم افزارهای Minitab، SPSS و SAS 9.1 به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز در سطح احتمال پنج درصد و بر اساس آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی توان آلوده‌سازی ریشه توسط قارچ *P. indica*

نتایج مطالعات میکروسکوپی صورت گرفته بر روی ریشه گیاهان تلقیح‌شده با اسپورهای قارچ، حاکی از توان بالای این قارچ در آلوده نمودن ریشه گیاهان میزبان دارد، بطوری که به وضوح و بطور گسترده انبوهی از ریسه‌های برون ریشه‌ای حاصل از رشد اسپورهای قارچ در سطح خارجی و بخش کورتکس ریشه مشاهده می‌شود. همچنین اندامک‌های کروی قارچ نیز در داخل کورتکس ریشه مشاهده می‌شوند (شکل ۲). درصد کلونیزاسیون قارچ نیز بیش از ۹۰ درصد بود. این نتایج نشان داد که قارچ *P.indica* دارای توان بالایی در اشغال ناحیه کورتکس ریشه گیاه میزبان می‌باشد و جو نیز مانند بسیاری از گیاهان در محدوده میزبانی این قارچ قرار دارد که این مطالب با نتایج محققان دیگر همخوانی دارد. همچنین درصد کلونیزاسیون ریشه‌های گیاه جو (بالاتر از ۹۰ درصد) نشان می‌دهد که این گیاه میزبان خوبی برای قارچ می‌باشد. بالا بودن درصد کلونیزاسیون ریشه از دو نظر اهمیت دارد: نخست، حصول به حداکثر بهره‌وری از توان مفید سیستم‌های همزیستی علاوه بر وجود تعداد کافی از سویه‌های میکروبی فعال در ناحیه ریزوسفر، مستلزم افزایش میزان آلودگی ریشه گیاه توسط همزیست میکروبی است تا بتوان از بیشترین توان و ظرفیت آنها استفاده نمود و بازدهی سیستم را افزایش داد (Singh et al., 2000). در اینجا نیز برای استفاده از ظرفیت این قارچ در کشاورزی پایدار استقرار مناسب قارچ بر روی ریشه‌های گیاه اهمیت زیادی دارد، لذا مشاهده درصد بالای کلونیزاسیون ریشه‌های گیاه جو در این پژوهش، فاکتور بسیار مهم و با ارزشی محسوب می‌شود. دوم، میزان مناسب کلونیزاسیون برای بر هم کنش بین قارچ و گیاه دارای اهمیت است و در بروز اثرات مفید قارچ بر رشد گیاه دارای اهمیت می‌باشد.

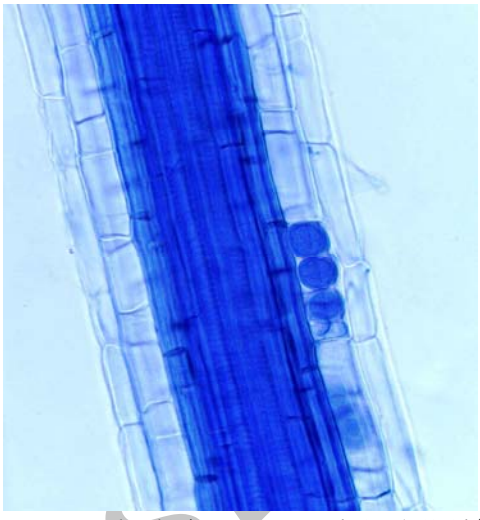
مقایسه صفات گیاهان شاهد و تیمار تحت شرایط تنش خشکی

به منظور مقایسه صفات گیاهان شاهد و تیمار در سطوح مختلف خشکی، اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی (قارچ و خشکی) بر صفات مذکور مطالعه و بررسی گردید. با وجود اثرات ساده کاملا معنی‌دار قارچ و تنش بر روی صفات مذکور، اثرات متقابل تنها بر روی وزن خشک ریشه معنی‌دار بود که دلیل آن تفاوت قابل توجه اثر قارچ بر روی صفات مذکور در شرایط تنش نسبت به شرایط غیرتنش می‌باشد که در ادامه به بررسی و تفسیر آن پرداخته می‌شود. لازم به ذکر است که به دلیل استفاده از خاک طبیعی بجای استفاده از محیط هیدروپونیک نتایج حاصله را با اطمینان بیشتری می‌توان به شرایط

Archive of SID

www.SID.ir

مزرعه نسبت داد.



شکل ۲- اجسام کروی موجود در بافت کورتکس ریشه

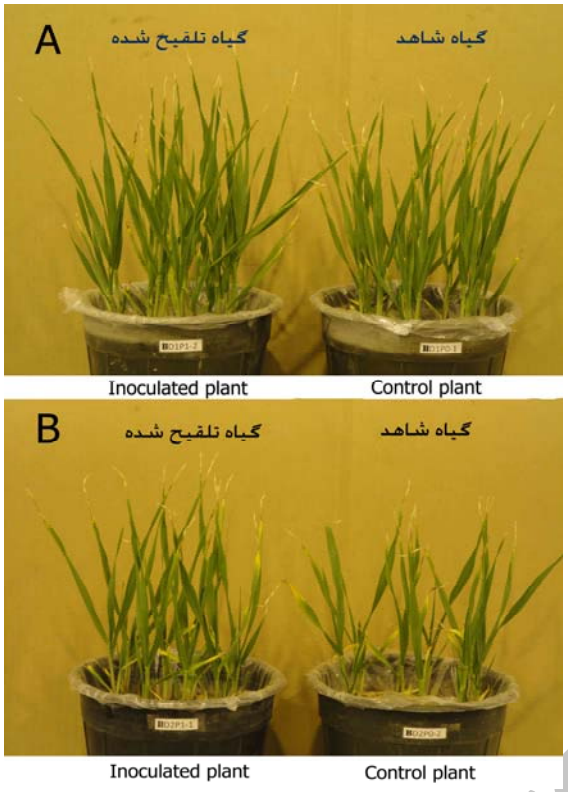
Fig. 2- Spherical bodies in root cortex tissue

وزن خشک اندام هوایی

نتایج بدست آمده نشان داد که با کاهش رطوبت خاک و افزایش شدت تنش خشکی وزن خشک اندام هوایی گیاهان تیمار و شاهد کاهش می‌یابد. بیشترین تفاوت در تیمار خشکی ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده می‌شود و کمترین تفاوت مربوط به تیمار بدون تنش (رطوبت در سطح ظرفیت مزرعه) است. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود اثر تنش خشکی و از طرفی تیمار با قارچ بر روی وزن خشک اندام هوایی کاملا مشهود است بطوری که با افزایش تنش و کاهش رطوبت، مقدار وزن خشک اندام هوایی در هر دو گروه تیمار (تلقیح‌شده با قارچ) و شاهد کاهش می‌یابد اما باید به دو نکته در این نمودار دقت نمود. اول اینکه در سه تیمار خشکی بین گیاهان شاهد و تیمار اختلاف وجود دارد و این اختلاف با افزایش تنش بیشتر مشهود است، بطوریکه در سطح F.C. ۲۵ درصد این اختلاف کاملا معنی‌دار است. دوم اینکه قارچ توانسته افت وزن خشک را در گیاهان شاهد کاهش دهد بطوریکه در گیاهان تیمار، ۳۱ درصد کاهش در وزن خشک مشاهده می‌شود در حالیکه در گیاهان شاهد ۵۵ درصد کاهش وزن خشک مشاهده گردید که این امر بیانگر تأثیر قارچ بر بهبود وزن خشک تحت شرایط تنش می‌باشد. شکل ۳ تفاوت رشد اندام هوایی را در گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ در شرایط تنش نشان می‌دهد.

وزن خشک ریشه

در مورد وزن خشک ریشه نیز نتایج مشابه با وزن خشک اندام هوایی می‌باشد و نتایج حاصله بیانگر روند کاهشی وزن خشک ریشه در اثر کاهش رطوبت خاک می باشد.



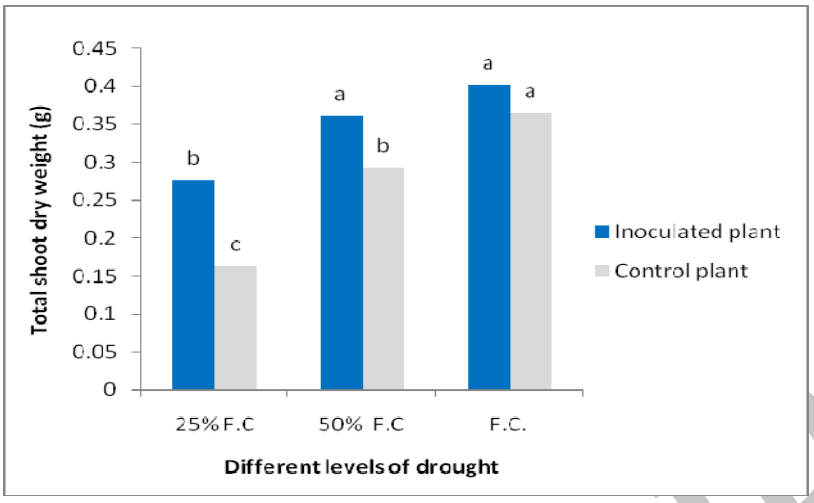
شکل ۳- تفاوت رشدگیاهان تلقیح‌شده نسبت به گیاهان شاهد، ۲۸ روز بعد از تلقیح (الف) F.C. (ظرفیت زراعی) ۵۰ درصد و (ب) تیمار F.C. ۲۵ درصد (سمت چپ) گیاه تلقیح شده با قارچ و سمت راست) گیاه شاهد)

Fig. 3- Differences in plant growth between inoculated plant and control plant, 28 days after inoculation (A) 50% field capacity (F.C.) and (B) 25% F.C. (left) inoculated plant and right) control plant)

همچنین نتایج نشان می‌دهد که اثر متقابل قارچ و خشکی نیز معنی‌دار است. شکل ۵ میزان این کاهش در گیاهان تیمار و شاهد و مقایسه بین آنها را نشان می‌دهد. در اینجا نیز تنش خشکی و کاهش میزان رطوبت خاک باعث کاهش وزن خشک ریشه می‌شود، بطوریکه کمترین مقدار این صفت در بالاترین سطح خشکی مشاهده می‌شود و این مسئله در مورد هر دو گروه گیاهان شاهد و تیمار صادق است. تفاوت این صفت بین گیاهان شاهد و تیمار در هر سه سطح خشکی کاملا مشهود و معنی‌دار است. همچنین نتایج نشان می‌دهد میزان کاهش این صفت در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ کمتر از گیاهان شاهد است، بطوریکه در گیاهان شاهد ۱۹٪ کاهش صفت بین تیمار بدون تنش و تیمار F.C. ۲۵٪ مشهود گردید، در حالیکه میزان این کاهش در گیاهان تلقیح‌شده حدود ۶ درصد بود.

Archive of SID

www.SID.ir

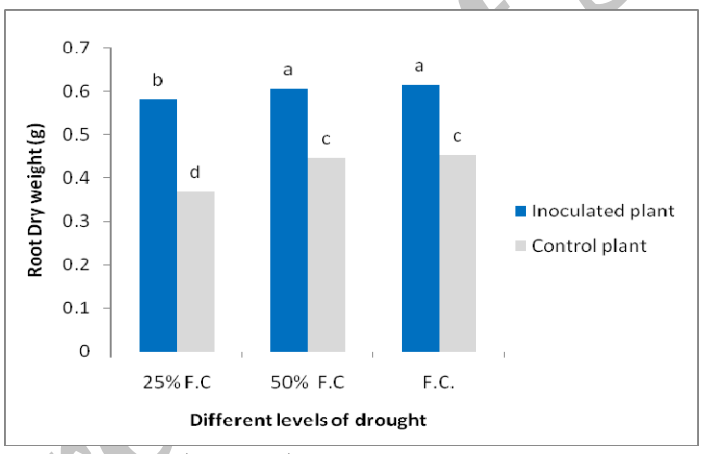


شکل ٤- مقایسه وزن خشک اندام هوایی گیاهان تیمار و شاهد تحت شرایط تنش خشکی

Fig. 4- Compare of total shoot dry weight in inoculated plant and control plant under drought stress.

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with different letters are significantly different based on Duncan's multiple range test (α=0.05).



شکل ٥- مقایسه وزن خشک ریشه گیاهان تیمار و شاهد تحت شرایط تنش خشکی

Fig. 5- Compare of root dry weight in inoculated plant and control plant under drought stress

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with different letters are significantly different based on Duncan's multiple range test (α=0.05).

این نتایج با نتایج مربوط به وزن خشک اندام هوایی به خوبی بیانگر این مطلب است که تلقیح با قارچ باعث بهبود عملکرد گیاه خصوصاً تحت شرایط تنش می‌گردد.

نتایج اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه بیانگر اهمیت ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاه جو در تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد آن است. مقایسه وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان تلقیح‌شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد در شرایط بهینه از نظر خشکی (ظرفیت مزرعه) به خوبی تائید کننده اثر تحریک‌کنندگی رشد گیاه توسط قارچ است، بطوریکه حتی در شرایط بدون تنش هم افزایش صفات اندازه‌گیری‌شده مشهود بود. به نظر می‌رسد که میسیلیوم‌های قارچ با پراکنش در اطراف ریشه‌های گیاه میزبان سطح جذب آب بالاتری را فراهم آورده و باعث می شوند تا در شرایط یکسان گیاهان تلقیح‌شده نسبت به گیاهان شاهد آب بیشتری را در اختیار داشته باشند. از طرف دیگر، اگرچه در این پژوهش میزان جذب عناصر اندازه‌گیری نشد، اما با توجه به نتایج محققان دیگر به نظر می‌رسد که قارچ در فراهمی و متابولیسم عناصر مورد نیاز گیاه تأثیر مهمی داشته و سبب می‌گردد تا میزان این عناصر در گیاهان تلقیح‌شده افزایش یابد. این امر خصوصاً در شرایط تنش

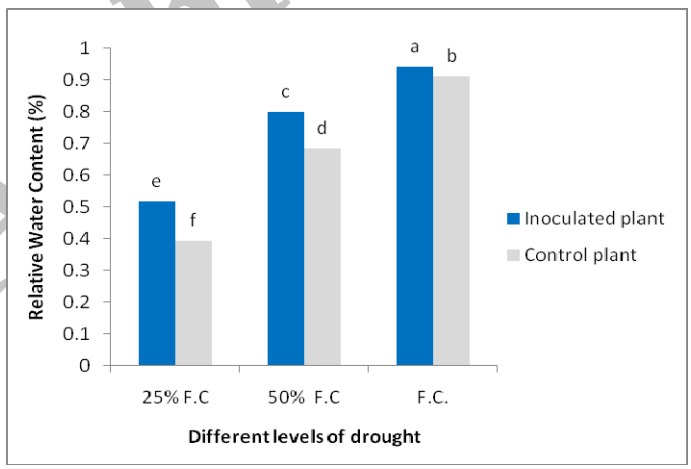
www.SID.ir

برای گیاهان دارای اهمیت زیادی است. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که قارچ *P. indica* بر متابولیسم فسفر، گوگرد و ازت تأثیر مستقیم داشته و همچنین فراهمی فسفر موجود در خاک را افزایش می‌دهد (Malla et al., 2004; Oelmuller et al., 2009).

علاوه بر توان تحریک‌کنندگی رشد گیاه جو توسط قارچ *P. indica*، نتایج حاصل از این تحقیق به خوبی بر نقش موثر این قارچ در بهبود رشد و عملکرد گیاه تحت شرایط تنش خشکی دلالت دارد. نتایج حاصله نشان می‌دهد که تلقیح ریشه گیاه جو با قارچ *P. indica* سبب افزایش مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشه به ترتیب به میزان ۳۹ و ۴۶ درصد نسبت به شرایط بدون تلقیح گردید.

مقایسه محتوای نسبی آب گیاه در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ نسبت به گیاه شاهد

نتایج اندازه‌گیری محتوای نسبی آب گیاهان بیانگر آن است که با افزایش خشکی، محتوای نسبی آب برگ گیاهان تلقیح‌شده و شاهد کاهش می‌یابد، به طوریکه با اعمال خشکی به میزان ۵۰٪ F.C. مقدار کاهش صفت مذکور در گیاهان شاهد و تلقیح‌شده نسبت به شرایط رطوبت زراعی به ترتیب ۲۴ و ۱۵ درصد کاهش می‌یابد، در حالیکه محتوای نسبی آب برگ گیاهان شاهد و تلقیح شده در سطح شدیدتر تنش خشکی (۲۵F.C. درصد) نسبت به شرایط رطوبت ظرفیت مزرعه به ترتیب ۵۷ و ۴۴ درصد کاهش یافته است. بطور کلی با مقایسه گیاهان شاهد و تلقیح شده در شرایط رطوبت مزرعه و نیز در سطوح خشکی اعمال شده، این نتیجه به دست می‌آید که محتوای نسبی آب برگ گیاهان تلقیح شده بیشتر از گیاهان شاهد است و مقایسه رشد گیاهان بعد از اعمال تنش نشان می‌دهد که در یک هفته بعد از اعمال تنش شدید، رشد گیاهان شاهد متوقف شد، اما در گیاهان تلقیح شده رشد با سرعت کم اتفاق افتاد بطوریکه با گذشت زمان تفاوت رشدی بین گیاهان شاهد و تیمار مشهودتر گردید. همانطور که گفته شد، به نظر می‌رسد که یکی از مهمترین دلایل این مسئله امکان جذب بیشتر آب در شرایط تنش است، بطوریکه در اینجا نیز میسیلیوم‌های قارچ با پراکنش بیشتر در اطراف ریشه‌ها سطح جذب بالاتری را ایجاد نموده و لذا گیاه را قادر می‌سازند تا آب بیشتری را جذب نماید. مقایسه محتوای نسبی آب گیاهان به خوبی نشان می‌دهد که گیاهان تلقیح‌شده در شرایط تنش آب بیشتری (۲۳ درصد بیشتر از گیاهان شاهد) در اختیار دارند. این نتایج با نتایج مطالعه‌ای مشابه بر روی تأثیر قارچ بر مقاومت گیاه جو در شرایط تنش شوری مطابقت دارد (Sepehri et al., 2009). از طرف دیگر، به نظر می‌رسد که قارچ بر روی پیام‌رسانی گیاه تأثیر گذاشته و سبب تجمع بیشتر آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه شده که این امر به نوبه خود مقاومت گیاه را افزایش می‌دهد. نکته قابل توجه در نتایج بدست آمده از این تحقیق تأثیر قارچ بر روی خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی گیاه جو در شرایط تنش ۲۵ F.C. درصد است. بطوریکه مقایسه نتایج نشان می‌دهد که با کاهش رطوبت خاک، قارچ تأثیر بهتری بر روی گیاهان تلقیح‌شده دارد. به نظر می‌رسد که با توجه به محل طبیعی حضور این قارچ، که در مناطق بیابانی و خشک است، بتوان نتایج را اینطور تفسیر نمود که قارچ نسبت به شرایط خشک و نامساعد تکامل پیدا کرده است و لذا در شرایطی که گیاه با تنش روبرو شود این قارچ بهتر می‌تواند تأثیرات خود را بر روی رشد گیاه اعمال نماید (Sepehri et al., 2009).



شکل ٦- مقایسه محتوای نسبی آب گیاهان شاهد و تیمار در شرایط تنش خشکی

Fig. 6- Compare of RWC in inoculated plant and control plant under drought stress

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with different letters are significantly different based on Duncan's multiple range test (α=0.05).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده در سطوح مختلف خشکی و قارچ

Table 1- Variance analysis (mean of squares) of measured physiological traits at different levels of drought and fungus

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن کل اندام هوایی Total shoot weight	وزن خشک اندام هوایی Total shoot dry weight	ارتفاع Height	محتوای نسبی آب RWC
خشکی Drought	2	0.008580**	7.7067**	0.055673**	9553.624**	0.33595**
قارچ Fungus	1	0.190104**	0.9700	0.031755**	756.004**	0.03689**
خشکی× قارچ Drought × Fungus	2	0.001838**	0.0764	0.003002	46.186	0.004062*
خطا Error	18	0.000267	0.2257	0.002068	46.91	0.000194

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and ** are significance at 5 and 1% probability levels, respectively.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش و سایر پژوهش‌ها بیانگر امکان استفاده از این قارچ در مناطق خشک و نیمه خشک بوده که مطالعات بیشتر در این زمینه می‌تواند امکان استفاده عملی و گسترده آن را فراهم نماید. همچنین با توجه به اینکه جدایه مورد استفاده در این تحقیق و سایر تحقیقات منتشر شده بومی هندوستان بوده و هنوز جدایه‌ای از این قارچ در ایران شناسایی نشده است، امید است با شناسایی و جمع‌آوری جدایه‌های بومی قارچ *P. indica* به منظور غنی‌تر نمودن بانک میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی ایران و نیز بهره‌گیری از این قارچ در تولید کود بیولوژیک جهت مصرف در مناطق شور، خشک و نیمه‌خشک کشور بتوان از پتانسیل‌های بالقوه قارچ مذکور در زمینه کشاورزی پایدار استفاده نمود. همچنین با تشخیص ژن‌ها، پروتئین‌ها و مکانیسم‌های فیزیولوژیک دخیل در تحمل تنش‌های محیطی توسط قارچ مذکور گامی موثر در جهت اصلاح ژنتیکی گیاهان برای مقاومت به تنش‌های شوری و خشکی برداشت. در این زمینه نویسندگان این مقاله در حال بررسی تغییرات ژن‌ها در شرایط تنش بعد از تلقیح با قارچ با راهکار پروتئومیکس بوده که نتایج آن در آینده انتشار خواهد یافت.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات و تلاش‌های مدیریت و اعضای پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور- اصفهان تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1- Bohnert, H.J., and Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends in Biotechnology 14: 89- 97.

2- Cruz, V. 1990. Tolerancia a la salinidady criterios de selection en lycopersicon mill. PhD Thesis, Universidad de Malaga (Spain) 484 pp.

3- Emami, A. 1996. Analytical methods for plant analysis. Soil and water research institute, Research department, agricultural education and development, Iran. Technical Report 1(982): 147-53. (In Persian)

4- Krich, H. H., Vera, R., Strella, R., Golldack, D., Quigley, F., Michalowski, C.B., Barkla B.J., and Bohnert, H.J. 2000. Expression of water channel proteins in *Mesembryanthemum crystallinum*. Plant Physiology 123: 111-124.

5- Kumari, R., Kishan, H., Bhoon Y.K., and Varma, A. 2003. Colonization of Cruciferous plants by *Piriformospora indica*. Current Science 85: 1672-1674.

6- Malla, R., Prasad, R., Kumari, R., Giang, Ph., Pokharel, U., Olmuller R., and Vama, A. 2004. Phosphorus solubilizing symbiotic fungus: *Piriformospora indica*. Endocytobiosis Cell Research 15(2): 579-600.

7- Oelmuller, R., Sherameti, I., Tripathi S., and Varma, A. 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. Symbiosis 49: 1-12.

8- Paul, E. A., and Clark, F.E. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London 275 pp.

9- Rai, M., Achaya,D., Singh A., and Varma, A. 2001. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. Mycorrhiza 11: 123-128.

Archive of SID

www.SID.ir

10- Rai, M., and Varma, A. 2005. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica*. Electronic Journal of Biotechnology 8: 107-111.
11- Sepehri, M., Saleh Rastin, N., Hosseini Salekdeh, G., and Khayam Nekoe, M. 2009. Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on growth and resistance of *Hordeum vulgare* L. to salinity stress. Journal of Rangeland 3(3): 508-518.
12- Shannon, M.C., and Noble, C.L. 1990. Genetic approaches for developing economics salt-tolerant crops. In: Tanji K.K. (Ed.) Agricultural salinity assessment and management, vol. 71. New York: ASCE. 161-184.
13- Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma A., and Olmuller, R. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulate the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and Arabidopsis roots through a homeodomain transcription factor which binds to a conserved motif in their promoters. Journal of Biological Chemistry 280: 2641-2647.
14- Singh, A., Sharma, J., Rexer K.H., and Varma, A. 2000. Plant productivity determinants beyond Minerals, water and light. *Piriformospora indica*: a revolutionary plant growth promoting fungus. Current Science 79: 101-106.
15- Sminorff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist 125: 27-58.
16- Waller, F., Achatz B., and Baltruschat, H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms Barley to salt-stress tolerance, disease resistance and higher yield. PNAS 102: 13386-13391.
17- Varma, A., Abbott, L., Werner D., and Hampp, R. 2004. Plant Surface microbiology. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 238-265.
18- Varma, A., Sativa, S., Sahay, N., Butehorn B., and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Applied and Environmental Microbiology 65: 2741-2744.
19- Verma, S., Varma, A., Rexer, K.H., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Butehorn, B., and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica* gen. et sp. Nov., A new root-colonizing fungus. Mycologia 95: 896-903.

Archive of SID

www.SID.ir