بررسی اثرات تلقیح قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* و باکتری *Pseudomonas putid* بر رشد و جذب عناصر گندم در شرایط کمبود روی

وحیدالله جهاندیده مهجن‌آبادی[1*]، مژگان سپهری[1]، امیرحسین خوشگفتارمنش[1]، حمیدرضا عشقی‌زاده[2] و داود رحمانی ایرانشاهی[1]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۲)

چکیده

کمبود عنصر روی یکی از مهم‌ترین تنش‌های عناصر غذایی است که به‌طور گسترده‌ای بر تولید غلات و به‌ویژه گندم تأثیر می‌گذارد. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر دو گروه از ریزموجودات مفید و محرک رشد گیاه شامل: دو سطح قارچ اندوفایت ***Piriformospora indica*** (E_0: عدم تلقیح و E_1: تلقیح‌یافته) و دو سطح باکتری ***Pseudomonas putida*** (B_0: عدم تلقیح و B_1: تلقیح‌یافته) در بهبود رشد و وضعیت تغذیه‌ای گیاه گندم رقم نیک‌نژاد در شرایط بدون مصرف روی (Zn_0) و مصرف دو میکرومولار روی (Zn_1) از منبع سولفات روی صورت گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه و با استفاده از بستر کشت مخلوط شن و پرلیت (۲:۱ v/v) در سال ۱۳۹۱ اجرا شد. نتایج نشان داد که تلقیح گیاهان با ***P. putida***، موجب افزایش وزن خشک شاخساره در هر دو سطح روی و وزن خشک ریشه در شرایط عدم کاربرد این عنصر شد. تلقیح باکتری ***P. putida*** با گیاهان در هر دو سطح عنصر روی نسبت به تیمار عدم تلقیح، غلظت آهن را کاهش داد ولی تلقیح قارچ اندوفایت ***P. indica*** با گیاهان در شرایط کاربرد روی، غلظت آهن را افزایش داد و در شرایط عدم کاربرد روی فاقد تأثیر معنی‌داری بر آن بود. گیاهان دارای تلقیح انفرادی ***P. indica***، در هر دو سطح عنصر روی از بیشترین میزان غلظت فسفر و روی و کلروفیل **a** و **b** برخوردار بودند. این در حالی بود که تلقیح انفرادی ***P. putida***، موجب کاهش غلظت فسفر در هر دو سطح عنصر روی و کاهش غلظت روی و میزان کلروفیل **a** و **b** در شرایط کاربرد این عنصر شد. نتایج این تحقیق نشان داد که با وجود اثر منفی باکتری ***P. putida*** بر جذب عناصر، تلقیح باکتری ***P. putida*** و قارچ اندوفایت ***P. indica*** نقش مؤثری در تحریک رشد گیاه گندم در شرایط کمبود عنصر روی ایفا می‌نمایند.

واژه‌های کلیدی: گندم، کمبود روی، کلروفیل، عناصر غذایی، ریزموجودات

۱. گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: vahid.jahandideh67@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در سطح جهانی، کمبود عناصر غذایی کم‌مصرف در اراضی زیر کشت غلات پدیده‌ای متداول است (۳۵)، زیرا، با وجود تخلیه مقدار قابل توجهی از عناصر کم‌مصرف از خاک توسط گیاه، به تأمین این عناصر در خاک توجه کافی مبذول نشده است. کمبود روی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عناصر کم‌مصرف، در اغلب خاک‌ها به‌ویژه خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک، به دلایل متعددی نظیر pH بالا، مقدار زیاد آهک و کمبود مواد آلی شایع می‌باشد (۲). حدود ۵۰ درصد از خاک‌های تحت کشت غلات در جهان کمبود روی دارند (۱). از سوی دیگر گندم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین غلات، از منابع مهم تأمین کننده غذای مورد نیاز انسان می‌باشد که از سطح زیر کشت وسیعی نیز برخوردار است. طبق آمار موجود حدود ۴۰ درصد از اراضی زیر کشت گندم آبی در ایران دارای کمبود روی می‌باشند (۱). کمبود روی در اغلب زمین‌های زیر کشت گندم، نه تنها موجب کاهش عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای محصول تولیدی شده، بلکه به بروز یکسری نارسایی‌های ناشی از کمبود روی در انسان نیز منجر گردیده است (۱۲).

جهت رفع کمبود عنصر روی راه‌حل‌های مختلفی (۷) از جمله کوددهی پیشنهاد شده است، که از روش‌های متداول تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه است، اما در اکثر مواقع، به‌دلیل وجود برخی محدودیت‌های زراعی، محیطی و اقتصادی نظیر پایین بودن قابلیت استفاده عنصر روی، عدم تعادل عناصر غذایی در خاک، کارایی پایین برخی کودهای تولیدی برطرف کننده کمبود روی و هزینه زیاد تولید این کودها به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه نظیر ایران، از کارایی مناسبی جهت رفع کمبود این عنصر برخوردار نمی‌باشند (۱۴). هزینه زیاد تولید کودهای شیمیایی و مشکلات زیست‌محیطی ناشی از استفاده از این کودها، لزوم تجدید نظر در روش‌های افزایش تولید محصولات زراعی را دو چندان نموده است. استفاده از کودهای بیولوژیک (زیستی) جهت بهبود تغذیه غلات به‌عنوان یکی از راه‌حل‌های اساسی و مفید مطرح می‌شود. این کودها با افزایش قابلیت جذب و دسترسی عناصر غذایی گیاهان و افزایش تحمل آنها به کمبود عناصر غذایی، از مؤلفه‌های مهم مدیریت حاصلخیزی خاک در جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار می‌باشند (۴). علاوه بر آن، کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیت‌های حیاتی خاک، بهبود کیفیت و حفظ بهداشت محیط زیست و در مجموع حفظ و حمایت از سرمایه‌های ملی (خاک، آب، منابع انرژی غیر قابل تجدید) از دیگر مزایای این کودها به حساب می‌آیند (۳۸). رایج‌ترین کودهای بیولوژیک از ریزجاندارانی نظیر انواع حل‌کننده فسفات (Phosphate Microorganism Solubilizing)، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)، باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن مولکولی اتمسفر و باکتری‌های سیلیکاتی تهیه می‌شوند (۳۱). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد مانند جنس‌های *Azotobacter*، *Pseudomonas*، *Azospirillum*، *Bacillus* و *Thiobacillus*، با توان انجام فرآیندهای مختلف بیولوژیک مانند تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه، تولید سیدروفر، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن اتمسفر، کمک به آزاد شدن فسفر، پتاسیم و عناصر کم‌مصرف در خاک، ترشح ترکیب‌های دارای خاصیت آنتی‌بیوتیک مانند باکتریوسین‌ها سبب تحریک و افزایش رشد گیاه می‌شوند (۱۵).

سودوموناس‌های فلورسنت (گونه‌های فلورسنس و پوتیدا)، به دلایل متعدد از قبیل بهبود کارایی جذب عناصر غذایی، دامنه انتشار وسیع در اغلب خاک‌ها، تنوع گونه‌ای، توان حذف عوامل بیماری‌زا و ایجاد مقاومت در گیاه نسبت به تنش‌های محیطی از مهم‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند، از این‌رو در تهیه کودهای زیستی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (۲۰ و ۲۴).

قارچ‌های اندوفایت به‌عنوان یکی دیگر از ریزجانداران مفید خاک در تهیه و تولید کودهای بیولوژیک، با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در گیاهان میزبان خود، عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه و کشت آنها را در خاک‌های با شرایط نامساعد محیطی و

Archive of SID

www.SID.ir

تغذیه‌ای فراهم می‌آورند (۲۳). *Piriformospora indica*، قارچ اندوفایت شبه میکوریزی (Mycorrhizal-lik fungi) می‌باشد که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران از ریزوسفر دو گیاه خشکی‌پسند کهور (*Zizyphus nummularia*) و گز (*Prosopis juliflora*) از صحرای تار کشور هندوستان استخراج شد (۳۶). این قارچ برخلاف قارچ‌های آربسکولار میکوریزا (Arbuscular Mycorrhizal Fungus) به راحتی روی محیط‌های کشت مصنوعی رشد می‌کند. به‌طورکلی، قارچ‌های اندوفایت با برقراری روابط همزیستی با طیف وسیعی از گیاهان میزبان و افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه به‌عنوان عوامل رشد گیاه محسوب می‌شوند و موجب تحریک و افزایش رشد گیاهان میزبان خود در شرایط بدون تنش و دارای تنش می‌گردند (۹). اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *Piriformospora indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های مختلف توسط پژوهشگران گزارش شده است (۲۲، ۲۹ و ۳۰).

نتایج تحقیقات تاریک و همکاران (۳۴) نشان داد که تلقیح گیاه برنج با مخلوطی از باکتری‌های *Azospirillum lipoferum* و *Pseudomonas sp.* و *Agrobacterium sp.* در شرایط کمبود روی، جذب عنصر روی، وزن خشک شاخساره و ریشه و دیگر شاخص‌های رشد را بهبود بخشید. همچنین اسوامیناتان و ورما (۳۳) با مطالعه بر روی خاک‌های مختلف با مقدار کم روی قابل دسترس، گزارش کردند که تلقیح قارچ میکوریز با گیاهان گندم و ذرت، موجب افزایش غلظت روی و ماده خشک شد. همچنین آنها بیان داشتند که شاخص‌های مذکور در شرایط کاربرد عنصر روی و تلقیح قارچ میکوریز با گیاهان، نسبت به کاربرد انفرادی این عنصر، افزایش یافت. اگرچه تحقیقات متعددی با استفاده از قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه در شرایط کمبود روی صورت گرفته است ولی در مورد اثر قارچ *Piriformospora indica* و باکتری *Pseudomonas putida* در شرایط کمبود روی مطالعاتی انجام نشده است.

توجه به مطالب مذکور و نقش مهم گندم در تأمین نیازهای تغذیه‌ای بشر، کاهش رشد، عملکرد و کیفیت آن در شرایط کمبود روی، هزینه زیاد و آسیب‌های زیست محیطی ناشی از مصرف زیاد کودهای شیمیایی تأمین کننده روی در خاک‌های دچار کمبود این عنصر، ضرورت دستیابی به روش‌های جایگزین افزایش عملکرد این گیاه را بیش از پیش روشن می‌سازد. لذا این تحقیق با هدف بکارگیری دو گروه از ریزجانداران مفید و محرک رشد گیاه شامل باکتری *P. putida* و قارچ اندوفایت *P. indica* در بهبود رشد، وضعیت تغذیه‌ای و افزایش تحمل گیاه گندم در شرایط کمبود عنصر روی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این تحقیق، آزمایشی در گلخانه‌ی مرکز کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عوامل مورد مطالعه شامل دو سطح قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* (E_0: عدم تلقیح و E_1: تلقیح‌یافته) و دو سطح باکتری *Pseudomonas putida* (B_0: عدم تلقیح و B_1: تلقیح‌یافته) در شرایط بدون مصرف روی (Zn_0) و مصرف دو میکرومولار روی (Zn_1) از منبع سولفات روی بودند.

تکثیر و تولید مایه تلقیح قارچ *P. indica*

کلنیزاسیون ریشه گیاه با مایه تلقیح قارچ اندوفایت *P. indica*، مستلزم وجود تعداد کافی اسپور قارچ است، لذا با تهیه تعداد کافی پتری‌دیش محتوی محیط کشت پیچیده (Complex Medium)، جدایه قارچی مذکور بر روی این محیط، کشت و درون انکوباتور در دمای ۲۴ درجه به‌مدت ۴ هفته نگهداری شدند. پس از سپری شدن این زمان، اقدام به جمع‌آوری اسپورهای قارچی از سطح محیط کشت گردید و پس از انجام مراحل مختلف سانتریفیوژ، شستشو و انحلال طی سه مرتبه،

www.SID.ir

تعداد اسپورها در مایه تلقیح قارچ با استفاده از لام نئوبار شمارش و در حدود ۵×۱۰^{۷} اسپور در هر میلی‌لیتر محلول حاوی آب توئین ۲۰ درصد تنظیم شد.

تهیه مایه تلقیح باکتری *P. putida*

جدایه باکتری *P. putida* استفاده شده در این تحقیق از کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. جهت تهیه مایه تلقیح باکتری، یک لوپ از باکتری رشد یافته در محیط کشت جامد با رعایت کامل شرایط استریل به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت نوترینت بروس (Nutrient Broth) منتقل و بر روی شیکر (به هم زدن دورانی) با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه هوادهی و خوابانده شد. پس از رشد کافی باکتری‌ها درون محیط کشت NB، جمعیت آنها به روش شمارش کلونی تعیین و درحدود ۵×۱۰^{۷} سلول باکتری در هر میلی‌لیتر محیط کشت تنظیم شد.

کشت گیاه و اعمال تیمارها

جهت بررسی تیمارهای آزمایش بر روی صفات مورد نظر در شرایط گلخانه از گلدان‌های سه کیلوگرمی حاوی مخلوط ماسه و پرلیت استریل استفاده شد. بذور گندم رقم نیک‌نژاد با استفاده از الکل ۹۶ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و محلول رقیق (۵ درصد) هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شدند. سپس به‌منظور حذف هیپوکلریت سدیم باقیمانده در سطح بذور، چندین مرتبه با آب مقطر استریل مورد شستشو قرار گرفتند. بذور ضدعفونی شده گندم به‌صورت یکنواخت بر روی کاغذ صافی استریل موجود در پتری‌دیش‌های شیشه‌ای پخش و پس از چند روز خوابانیدن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (درون انکوباتور) جوانه‌دار شدند. جهت اعمال تیمار قارچ و انجام کلنیزاسیون قارچ با ریشه گیاه، بذور جوانه‌دار شده گندم در پتری‌دیش استریل قرار داده و با محلول اسپور قارچ (حاوی ۵×۱۰^{۷} اسپور در هر میلی‌لیتر) تلقیح شدند. لازم به ذکر است که در مورد تیمارهای عدم تلقیح قارچ، ریشه گیاهان تنها با محلول آب توئین ۲۰ درصد فاقد اسپور قارچ تلقیح گردیدند. سپس تعداد چهار گیاهچه در داخل هر گلدان کاشته شده و پس از گذشت سه روز، اعمال تیمار باکتری انجام گرفت. بدین صورت که به ریشه‌چه هر گیاه مقدار ۱ میلی‌لیتر مایه تلقیح باکتری (۵×۱۰^{۷} سلول در هر میلی‌لیتر) اضافه شد. گیاهان در گلخانه به‌مدت ۲ ماه در دمای روزانه ۱۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه حداقل ۱۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۰ درصد، شدت روشنایی ۱۰۰۰۰ لوکس و ۱۱-۱۲ ساعت دوره روشنایی نگهداری شدند. جهت تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه در طی دوره رشد آن از محلول غذایی جانسون استفاده شد. برای اعمال تیمار عنصر روی از محلول غذایی جانسون دارای ۲ میکرومولار سولفات روی (Zn_1) و بدون سولفات روی (Zn_0) استفاده گردید. پس از اتمام آزمایش و قبل از برداشت گیاهان، میزان کلروفیل a و b گیاهان با استفاده از روش آرنون (۸) و از طریق فرمولهای زیر محاسبه شد:

[۱] کلروفیل a = (۱۹/۳ × A۶۶۳ - ۰/۸۶ × A۶۴۵) V/۱۰۰۰W

[۱] کلروفیل b = (۱۹/۳ × A۶۴۵ − ۳/۶ × A۶۶۳) V/۱۰۰۰W

V= حجم محلول صاف شده برحسب میلی‌لیتر (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

پس از پایان دوره کشت دو ماهه، نمونه‌برداری از اندام‌های گیاه (برگ و ریشه) انجام شد. نمونه‌های مذکور به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک آنها تعیین گردید. جهت اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی یک گرم از شاخساره خشک آسیاب شده به‌مدت ۴ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد در کوره خاکستر شدند. پس از سرد شدن کوره، نمونه‌ها از کوره خارج و به آنها ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ نرمال اضافه شد. نمونه‌ها روی گرم‌کن قرار گرفتند تا خاکستر گیاه به‌صورت کامل هضم شد. عصاره حاصل پس از صاف شدن، با استفاده از آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار فسفر شاخساره با استفاده

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر صفات مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	فسفر	آهن	روی	کلروفیل a	کلروفیل b
E(قارچ)	۱	۰/۱۱	۰/۰۰۴	۰/۰۳۹**	۷۳۴**	۵۰/۳۱**	۰/۶۵**	۰/۰۹۳**
B(باکتری)	۱	۱/۳۳**	۰/۰۲۴**	۰/۰۱۶**	۶۰۴۰**	۹/۰۶**	۰/۱۵**	۰/۰۳۲**
Zn(روی)	۱	۰/۲۵*	۰/۰۷۸**	۰/۰۵۳**	۳۴۶**	۱۷**	۰/۳۲**	۰/۰۰۸*
B×E	۱	۰/۹۱**	۰/۰۶۹**	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۴۴	۰/۰۴*	۰/۰۰۲
Zn×E	۱	۰/۰۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲*	۸۸۵**	۰/۵۸	۰/۱۱**	۰/۰۱۰**
Zn×B	۱	۰/۱۵*	۰/۰۳**	۰/۰۰۵*	۲۶۸**	۲/۵	۰/۱۶**	۰/۰۱۶**
Zn×B×E	۱	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۰۲*	۶۹	۳/۹*	۰/۰۴*	۰/۰۰۶*
خطای آزمایشی	۱۴	۰/۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۵	۲۶	۰/۷۷	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰۹
C.V		۵/۴۴	۵/۵۸	۷/۷	۷/۳۲	۵/۹۸	۲/۹۷	۴/۴۱

** معنی‌داری در سطح ۱ درصد و * معنی‌داری در سطح ۵ درصد

از دستگاه طیف‌سنج مدل PD-303 و مقدار عناصر آهن و روی موجود در شاخساره با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل PERKIN ELMER 3030 اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک شاخساره و ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر عامل عنصر روی بر وزن خشک شاخساره و ریشه به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

بررسی جدول مقایسه میانگین حاکی از آن است که در شرایط کمبود روی، وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان، نسبت به تیمار کاربرد این عنصر کاهش یافت، در واقع نتایج بیان‌گر تأثیر مثبت کاربرد روی بر شاخص‌های مذکور می‌باشد. (جدول ۲). روی نقش اساسی را در عملکردهای حیاتی سلول از جمله متابولیسم پروتئین، تنظیم بیان ژن، پایداری عملکردی و ساختاری غشاء، متابولیسم کربن فتوسنتزی و متابولیسم کربوهیدرات ایفا می‌نماید، بنابراین کمبود این عنصر رشد و توسعه گیاه و در نتیجه عملکرد آن را کاهش می‌دهد (۲۵). نتایج نشان داد که برخلاف عامل قارچ اندوفایت *P. indica* که فاقد تأثیر معنی‌دار بر وزن خشک شاخساره و ریشه بود، عامل باکتری *P. putida* تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های مذکور به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد داشت (جدول ۱). تلقیح باکتری *P. putida* با گیاهان گندم، وزن خشک شاخساره و ریشه را نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح باکتری) افزایش داد (جدول ۲).

صالح راستین (۳۱) نشان داد که باکتری‌های متعلق به جنس سودوموناس قادر به تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه از قبیل اکسین، جیبرلین و نیز ویتامین‌ها می‌باشند. بنابراین، می‌توان افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان تلقیح شده با باکتری *P. putida* را به توانایی این باکتری در تولید مواد مذکور نسبت داد. اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* بر وزن خشک شاخساره و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر داده‌ها نشان داد که گیاهان دارای تلقیح انفرادی *P. putida*، از بیشترین

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات اصلی بر صفات اندازه‌گیری شده

تیمار	وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	فسفر	آهن	روی	کلروفیل a	کلروفیل b
	گرم در گلدان		درصد	میلی‌گرم بر کیلوگرم		میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ	
Zn_0	۴/۴۱^{b}	۰/۸۹^{b}	۰/۳۶۳^{a}	۷۴^{a}	۱۳/۸^{b}	۲/۸۷^{b}	۰/۶۷۷^{b}
Zn_1	۴/۶۲^{a}	۱^{a}	۰/۲۶۸^{b}	۶۶^{b}	۱۵/۵^{a}	۳/۰۹^{a}	۰/۷۱۴^{a}
E_0	۴/۵۹^{a}	۰/۹۶^{a}	۰/۲۷۵^{b}	۶۴^{b}	۱۳/۲^{b}	۲/۸۱^{b}	۰/۶۳۳^{b}
E_1	۴/۴۵^{a}	۰/۹۳^{a}	۰/۳۵۶^{a}	۷۵^{a}	۱۶/۱^{a}	۳/۱۴^{a}	۰/۷۵۸^{a}
B_0	۴/۲۸^{b}	۰/۹۱^{b}	۰/۳۴۲^{a}	۸۶^{a}	۱۵/۳^{a}	۳/۰۶^{a}	۰/۷۳۲^{a}
B_1	۴/۷۵^{a}	۰/۹۸^{a}	۰/۲۸۹^{b}	۵۴^{b}	۱۴/۱^{b}	۲/۹ ^{b}	۰/۶۵۹^{b}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف یکسان باشند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

مقدار وزن خشک شاخساره و ریشه برخوردار بودند. تلقیح همزمان قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* با گیاهان، وزن خشک شاخساره را در مقایسه با تیمارهای شاهد (عدم تلقیح قارچ و باکتری) و تلقیح انفرادی باکتری به‌ترتیب افزایش و کاهش داد ولی تلقیح انفرادی قارچ *P. indica*، با وجود افزایش شاخص مذکور، اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد. وزن خشک ریشه گیاهان با تلقیح انفرادی قارچ *P. indica*، نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ولی تلقیح همزمان قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* با وجود افزایش وزن خشک ریشه فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد بود (جدول ۳). نتایج این تحقیق بیانگر تأثیر مثبت بیشتر تلقیح انفرادی باکتری *P. putida* بر وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان می‌باشد که این اثر سودمند در تلقیح همزمان کاهش یافت. با توجه به نقش بارزتر تلقیح انفرادی باکتری در مقایسه با تلقیح انفرادی قارچ در کاهش اثرات مضر تنش کمبود روی بر وزن خشک شاخساره، چنین به نظر می‌رسد که کاهش وزن خشک در تلقیح همزمان قارچ و باکتری، ناشی از رقابت این دو ریزجاندار در استفاده از منابع غذایی موجود در ریزوسفر است که در نتیجه موجب شده است که این ریزجانداران نتوانند تمام توان خود را در ارتباط همزیستی با گیاه استفاده نماید. برخلاف آنچه بیان گردید، منا و همکاران (۲۷) نشان دادند که تلقیح انفرادی *P. indica* و *P. striata* دارای تأثیر منفی بر رشد و عملکرد گیاه نخود بود اما تلقیح توأم این دو ریزجاندار به دلیل اثر هم‌افزایی، تأثیر مثبتی بر رشد و عملکرد گیاه، نسبت به تلقیح انفرادی آنها داشت. به نظر می‌رسد دلیل تفاوت این نتایج با نتایج تحقیق حاضر به‌دلیل جنس باکتری و نوع گیاه مورد مطالعه باشد. اثر برهمکنش باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی بر وزن خشک شاخساره و ریشه به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تلقیح باکتری *P. putida* با گیاهان در هر دو سطح عنصر روی، وزن خشک شاخساره را نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح باکتری) افزایش داد. همچنین تلقیح باکتری در شرایط عدم کاربرد روی، موجب افزایش وزن خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد شد ولی در شرایط کاربرد این عنصر اختلاف معنی‌داری با این تیمار نشان نداد (جدول ۳).

نتایج به‌دست آمده به خوبی بیانگر تأثیر مثبت تلقیح باکتری *P. putida* بر وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان، به‌ویژه در شرایط کمبود عنصر روی است. تاریک و همکاران (۳۴) نیز

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرات برهمکنش دوگانه تیمارهای آزمایشی بر صفات اندازه‌گیری شده

تیمار	وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	فسفر	آهن	روی	کلروفیل a	کلروفیل b
	گرم در گلدان		درصد	میلی‌گرم بر کیلوگرم		میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ	
E_0Zn_0	۴/۴۴^{b}	۰/۹۱^{b}	۰/۳۳۱^{b}	۷۴^{a}	۱۲/۵^{d}	۲/۶۳^{c}	۰/۵۹۴^{c}
E_1Zn_0	۴/۳۹^{b}	۰/۸۶^{b}	۰/۳۹۳^{a}	۷۳^{a}	۱۵^{b}	۳/۱^{ab}	۰/۷۶۱^{a}
E_0Zn_1	۴/۷۳^{a}	۱^{a}	۰/۲۱۷^{c}	۵۴^{b}	۱۴^{c}	۳^{b}	۰/۶۷۲^{b}
E_1Zn_1	۴/۵۱a^{b}	۱^{a}	۰/۳۲^{b}	۷۸^{a}	۱۷^{a}	۳/۱۹^{a}	۰/۷۵۵^{a}
E_0B_0	۴/۱۶^{c}	۰/۸۷^{c}	۰/۲۹۶^{b}	۸۰^{b}	۱۳/۷^{c}	۲/۸۵^{c}	۰/۶۶۱^{c}
E_1B_0	۴/۴b^{c}	۰/۹۵^{b}	۰/۳۸۷^{a}	۹۱^{a}	۱۷^{a}	۳/۲۷^{a}	۰/۸۰۳^{a}
E_0B_1	۵/۰۲^{a}	۱/۰۴^{a}	۰/۲۵۳^{c}	۴۹^{d}	۱۲/۸^{c}	۲/۷۷^{c}	۰/۶۰۶^{d}
E_1B_1	۴/۴۹^{b}	۰/۹۱^{bc}	۰/۳۲۵^{b}	۶۰^{c}	۱۵/۴^{b}	۳/۰۲^{b}	۰/۷۱۳^{b}
B_0Zn_0	۴/۱^{c}	۰/۸۲^{b}	۰/۴۰۴^{a}	۹۳^{a}	۱۴^{b}	۲/۸۶^{b}	۰/۶۸۸^{b}
B_1Zn_0	۴/۷۲a^{b}	۰/۹۶^{a}	۰/۳۲۲^{b}	۵۵^{c}	۱۳^{b}	۲/۸۷^{b}	۰/۶۶۷^{b}
B_0Zn_1	۴/۴۶^{b}	۱^{a}	۰/۲۸^{c}	۷۸^{b}	۱۶/۵^{a}	۳/۲۶^{a}	۰/۷۷۷^{a}
B_1Zn_1	۴/۷۸^{a}	۱^{a}	۰/۲۵^{c}	۵۴^{c}	۱۴/۶^{b}	۲/۹۳^{b}	۰/۶۵۱^{b}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف یکسان باشند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه گیاه برنج تلقیح‌یافته با مخلوطی از باکتری‌های *Azospirillum lipoferum*، *Pseudomonas sp.* و *Agrobacterium sp.* را در شرایط کمبود روی، گزارش کردند. اثر برهمکنش سه گانه قارچ اندوفایت *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی فاقد تأثیر معنی‌دار بر وزن خشک شاخساره و ریشه بود (جدول ۱).

غلظت عناصر معدنی شاخساره

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی نشان داد که اثر عامل‌های قارچ اندوفایت *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی بر غلظت فسفر، روی و آهن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). عدم کاربرد عنصر روی موجب افزایش غلظت فسفر و آهن و کاهش غلظت روی نسبت به شرایط کاربرد این عنصر شد (جدول ۲). محققان نشان دادند که کمبود روی سبب افزایش جذب فسفر به‌وسیله ریشه‌ها و انتقال بیشتر آن به اندام هوایی می‌شود. این تأثیر منحصر به عنصر روی بوده و در مورد دیگر عناصر کم‌مصرف گزارش نشده است (۲۵). کمبود روی سبب افزایش نفوذپذیری غشاء سلول ریشه نسبت به فسفر می‌شود (۳۹). بنابراین یکی از دلایل جذب بیشتر فسفر در شرایط کمبود روی، افزایش نفوذپذیری غیرفعال غشاء سلول ریشه می‌باشد (۲۵). رحیمی و بوسلر (۲۸) طی تحقیق خود بر روی ۹ گونه گیاهی و تغذیه آنها با محلول غذایی به این نتیجه رسیدند که در شرایط کمبود روی، تجمع آهن در برگ گیاهان افزایش می‌یابد. همچنین ککمک و همکاران (۱۱) با تحقیق بر روی ۱۰ ژنوتیپ گندم نشان دادند که، غلظت آهن برگ در شرایط کمبود روی در اوایل آزمایش در مقایسه با شرایط بهینه از نظر مقدار این عنصر، حدوداً دو برابر و با اعمال شدید کمبود روی چهار برابر شد.

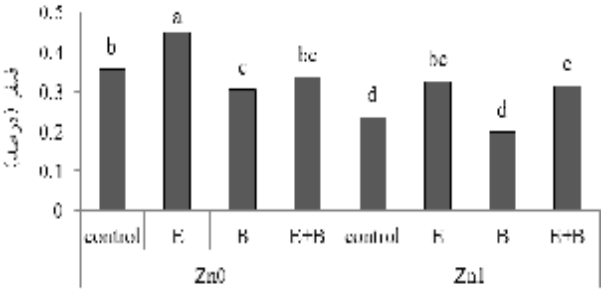
Archive of SID

www.SID.ir

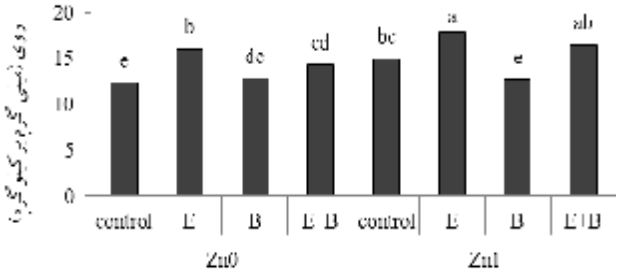
تلقیح قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاهان موجب افزایش غلظت فسفر، روی و آهن نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچ) شد (جدول ۲). این نتیجه با یافته‌های گوسال و همکاران (۱۷) مطابقت دارد، آنها بیان داشتند که تلقیح گیاهچه‌های *Chlorophytum borivilianum* با قارچ *P. indica* میزان جذب فسفر، روی و آهن را افزایش می‌دهد. همچنین آکاتز و همکاران (۵) نشان دادند که تلقیح قارچ *P. indica* با گیاه جو، سبب بهبود تغذیه فسفر می‌شود. نتایج نشان داد که تلقیح باکتری *P. putida* با گیاهان غلظت عناصر مذکور را نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح باکتری) کاهش داد (جدول ۲). اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* فاقد تأثیر معنی‌دار بر غلظت عناصر فسفر، روی و آهن بود، درحالی‌که اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica* و عنصر روی، اگرچه فاقد تأثیر معنی‌دار بر غلظت روی بود ولی بر غلظت فسفر و آهن اثر معنی‌داری به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد داشت (جدول ۱). تلقیح قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاهان در شرایط کاربرد روی، نسبت به تیمار عدم تلقیح، غلظت فسفر و آهن را افزایش داد، همچنین غلظت فسفر گیاهان در شرایط تلقیح با قارچ اندوفایت*P. indica* و بدون کاربرد روی، نسبت به تیمار عدم تلقیح افزایش یافت ولی غلظت آهن در این شرایط تغییری نکرد (جدول ۳). نتایج تحقیقات پژوهشگران بر روی گیاهان گوجه‌فرنگی و نعناع در شرایط مزرعه نشان‌دهنده آن است که گیاهان تلقیح شده با قارچ از جذب بیشتر عناصر غذایی برخوردار هستند (۶ و ۱۸). احتمالاً قارچ اندوفایت *P. indica* به‌دلیل توسعه هیف و در نتیجه افزایش سطح جذب ریشه، توانایی گیاه را در جذب عناصر غذایی افزایش می‌دهد. اثر برهمکنش باکتری *P. putida* و عنصر روی بر غلظت فسفر و آهن به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار بود، ولی بر غلظت روی معنی‌دار نبود (جدول ۱). تلقیح باکتری*P. putida* با گیاهان در هر دو سطح عنصر روی، غلظت فسفر و آهن را نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح باکتری) کاهش داد (جدول ۳). این نتیجه با یافته‌های چن و همکاران (۱۳) که بیان داشتند *P. putida* با تولید سیدروفور سودوباکتین حلالیت آهن و روی و دیگر عناصر غذایی و در نتیجه جذب آنها توسط گیاه را افزایش داد، متفاوت می‌باشد. افزایش یا کاهش غلظت عناصر غذایی در گیاهان تلقیح شده با باکتری، علاوه‌بر نوع گیاه به شرایط آزمایش نیز ارتباط پیدا می‌کند (۱۵). با توجه به این‌که در این آزمایش از بستر شن و پرلیت استفاده شد تولید سیدروفور سودوباکتین توسط باکتری *P. putida* نمی‌تواند نقشی در حلالیت عناصر ایفا کند. از طرف دیگر بسکر و همکاران اثر بازدارنگی سیدروفر سودوباکتین تولیدی توسط باکتری *P. putida* بر جذب آهن توسط گیاه را گزارش کردند. آنها بیان داشتند که توانایی گیاه در استفاده از کمپلکس سیدروفر-آهن نقش مهمی در جذب آهن توسط گیاه ایفا می‌نماید (۱۰).

اثر برهمکنش سه‌گانه قارچ *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی فاقد اثر معنی‌دار بر غلظت آهن بود ولی بر غلظت فسفر و روی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). شکل‌های ۱ و ۲، به‌خوبی نشان می‌دهند که در شرایط عدم کاربرد روی، بیشترین غلظت فسفر و روی متعلق به تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاهان است. این در حالی بود که، در چنین شرایطی، گیاهان تیمار شده با تلقیح انفرادی باکتری *P. putida* نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح باکتری و قارچ) از غلظت فسفر کمتری برخوردار بودند ولی باوجود افزایش جزئی غلظت روی در گیاهان تلقیح‌یافته با باکتری *P. putida* نسبت به گیاهان شاهد، اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نگردید. غلظت فسفر گیاهان با تلقیح همزمان قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* در شرایط عدم کاربرد روی فاقد اختلاف معنی‌داری با شاهد بود، ولی موجب افزایش غلظت روی شد. این در حالی بود که در این شرایط غلظت عناصر فسفر و روی گیاهان در تلقیح همزمان قارچ *P. indica* و باکتری *P. putida* به مراتب کمتر از تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* بود. همچنین بیشترین غلظت فسفر و

www.SID.ir



شکل۱. مقایسه اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی بر درصد فسفر



شکل۲. مقایسه اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی بر غلظت روی

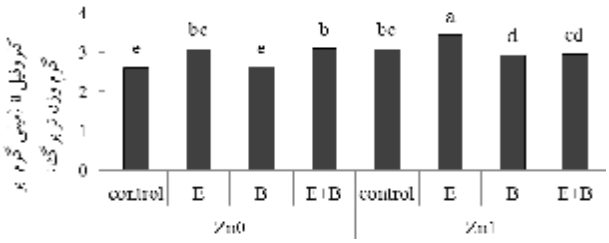
روی در شرایط کاربرد روی نیز متعلق به تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاهان بود. غلظت فسفر گیاهان با تلقیح انفرادی باکتری *P. putida* در این شرایط، فاقد اختلاف معنی‌دار با شاهد (عدم تلقیح قارچ و باکتری) بود، اما اعمال این تیمار موجب کاهش غلظت روی گردید. تلقیح همزمان قارچ *P. indica* و باکتری *P. putida* با گیاهان در شرایط کاربرد عنصر روی، موجب افزایش غلظت فسفر نسبت به شاهد شد ولی فاقد تأثیر معنی‌داری بر غلظت روی بود. هرچند در این شرایط، غلظت عناصر مذکور در تلقیح توأم کمتر از تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* بود ولی اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نگردید. نتایج حاصل از این پژوهش به‌خوبی تأثیر مثبت تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاهان را در هر دو سطح روی بر غلظت روی و فسفر نشان می‌دهد که این تأثیر مثبت در تلقیح همزمان قارچ و باکتری کاهش یافت. گزارش شده است که گونه‌های مختلف سودوموناس‌ها، مانند *P. fluorescence* و *P. putida* و سویه‌های دیگر *Pseudomonas sp.* در محیط کشت بدون گیاه، اثر بازدارندگی بر رشد قارچ *P. indica* دارند. رشد قارچ در حضور *P. fluorescence* به‌طور کامل متوقف می‌شود که دلیل این امر را به تولید آمونیاک، HCN، سیدروفرها، آنتی‌بیوتیک‌ها و آنزیم کیتیناز توسط باکتری مذکور نسبت می‌دهند. اما *P. putida* و گونه‌های دیگر سودوموناس‌ها، دارای اثرات موقت بر رشد قارچ می‌باشند، به‌طوری‌که بعد از گذشت مدت زمان کوتاهی، قارچ بار دیگر رشد خود را از سر می‌گیرد و بر اثرات منفی این باکتری‌ها غلبه می‌کند (۳۶). جوه و همکاران (۱۶) گزارش کردند که تلقیح قارچ‌های میکوریزی آربسکولار با گیاه گندم در شرایط کاربرد مقادیر مختلف روی، منجر به افزایش انتقال فسفر و روی از ریشه به شاخساره شد. اما کوساری و همکاران (۲۱) گزارش نمودند که غلظت روی شاخساره گیاه ذرت تحت تأثیر تلقیح قارچ‌های میکوریزی قرار نگرفت. در حقیقت به‌نظر می‌رسد افزایش ماده خشک شاخساره گیاهان تلقیح یافته با باکتری *P. putida*، از دلایل احتمالی کاهش غلظت عناصر غذایی (اثر رقت) در هر دو سطح روی (به جز غلظت عنصر روی در شرایط عدم کاربرد این عنصر) می‌باشد.

کلروفیل a و b

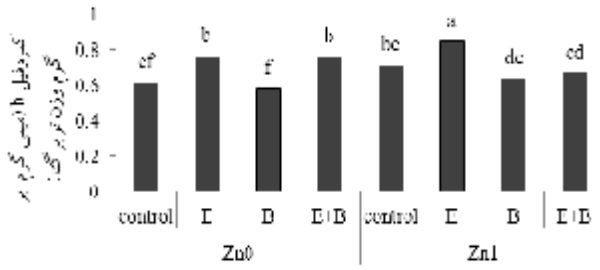
نتایج تجزیه آماری داده‌های مربوط به محتوای کلروفیل برگ نشان‌دهنده آن است که اثر عنصر روی بر میزان کلروفیل a و b به‌ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که میزان کلروفیل a و b گیاهان در شرایط عدم کاربرد روی نسبت به تیمار کاربرد این عنصر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). مطابق با این نتیجه، وانگ و همکاران (۳۷) نیز گزارش کردند که در شرایط کمبود روی، میزان کلروفیل a و b برگ گیاه ذرت کاهش یافت. کاهش محتوای کلروفیل a و b برگ که یکی از عوامل مهم تأثیرگذار در ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد، در شرایط کمبود روی موجب ناکارآمدی برگ‌ها در انجام فتوسنتز و تشدید صدمات تنش می‌شود. محدودیت انتقال CO_2 از طریق

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳. مقایسه اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی کلروفیل a



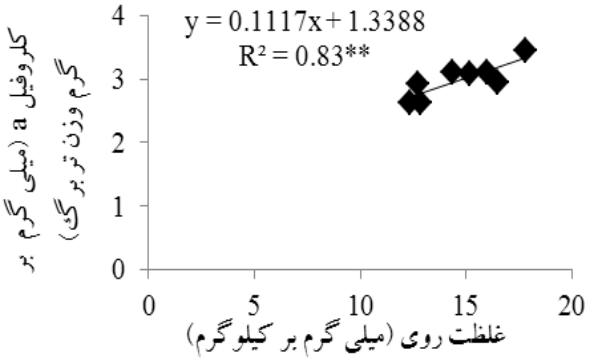
شکل ۴. مقایسه اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی بر کلروفیل b

منافذ برگ، دلیل اصلی کاهش فتوسنتز در گیاهان مبتلا به کمبود روی است (۳۲). همچنین، به‌دلیل نقش روی در بیان ژن‌های مسئول کدگذاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بنابراین سیستم سمیت‌زدایی آنزیمی در شرایط کمبود این عنصر آسیب می‌بیند (۱۱). کاهش غلظت کلروفیل، می‌تواند به‌دلیل افزایش سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش کارایی سیستم سمیت‌زدایی (آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان) در شرایط کمبود روی و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و اکسایش کلروفیل باشد (۲۶). اثر عامل‌های قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* و همچنین برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica* و سطوح عنصر روی و نیز برهمکنش باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی بر میزان کلروفیل a و b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج به‌دست آمده بیان‌گر افزایش میزان کلروفیل a و b گیاهان تلقیح‌یافته با قارچ اندوفایت *P. indica* در مقایسه با گیاهان شاهد (عدم تلقیح قارچ) است (جدول ۲)، که این اثر مثبت قارچ اندوفایت بر شاخص‌های مذکور در هر دو سطح عنصر روی مشاهده گردید (جدول ۳). گوسال و همکاران (۱۷) نیز نشان دادند که تلقیح گیاهچه‌های *Chlorophytum borivilianum* با قارچ اندوفایت *P. indica*، تأثیر مثبتی بر میزان کلروفیل بر جای گذاشت. بر خلاف تلقیح قارچ *P. indica*، تلقیح باکتری *P. putida* با گیاهان موجب کاهش میزان کلروفیل a و b نسبت به گیاهان شاهد (عدم تلقیح باکتری) شد (جدول ۲). اعمال تیمار باکتری در سطوح مختلف روی نتایج متفاوتی به دنبال داشت، بدین‌صورت که اگرچه در شرایط عدم کاربرد روی میزان کلروفیل a و b گیاهان دارای آلودگی باکتریایی اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند ولی اعمال باکتری *P. putida* در شرایط کاربرد روی موجب کاهش میزان کلروفیل a و b گردید (جدول ۳). اثر برهمکنش قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* بر میزان کلروفیل b فاقد اثر معنی‌دار و بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر برهمکنش سه‌گانه قارچ اندوفایت *P. indica*، باکتری *P. putida* و سطوح عنصر روی بر میزان کلروفیل a و b در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. بررسی شکل‌های ۳ و ۴ نشان می‌دهد که بیشترین میزان کلروفیل a و b گیاهان در شرایط عدم کاربرد روی، مربوط به تیمارهای تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* و همزمان قارچ *P. indica* و باکتری *P. putida* است که از لحاظ آماری در یک گروه قرار گرفتند. تلقیح انفرادی باکتری *P. putida* با گیاهان در شرایط مذکور، فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچ و باکتری) بود.

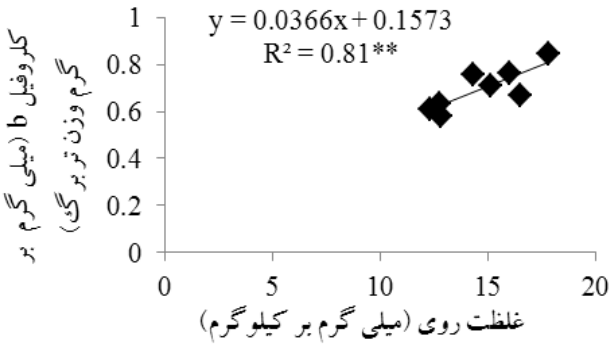
همچنین در شرایط کاربرد روی، گیاهان با تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica*، از بیشترین مقدار کلروفیل a و b برخوردار بودند. اما، تلقیح انفرادی باکتری *P. putida* در چنین شرایطی سبب کاهش مقدار کلروفیل a و b در مقایسه با تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچ و باکتری) شد ولی تلقیح همزمان قارچ *P. indica* و باکتری *P. putida* با وجود کاهش مقدار کلروفیل a و b نسبت به تیمار شاهد، فاقد اختلاف معنی‌دار با این تیمار

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۵. همبستگی میزان کلروفیل a و غلظت روی



شکل ۶. همبستگی میزان کلروفیل b و غلظت روی

بود. نتایج این تحقیق تأیید می‌کند که تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاهان گندم، نه‌تنها اثرات منفی کمبود روی بر میزان کلروفیل a و b را کاهش داد بلکه همچنین توانست میزان کلروفیل a و b را در شرایط کاربرد روی افزایش دهد.

جنت‌اسچکی و همکاران (۱۹) گزارش کردند یکی از دلایل افزایش میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ جذب بیشتر عناصر معدنی می‌باشد. با توجه به همبستگی بالای غلظت عنصر روی با میزان کلروفیل a و b (شکل ۵ و ۶) و افزایش غلظت این عنصر در هر دو سطح عنصر روی با تلقیح انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاهان (شکل ۲)، به‌نظر می‌رسد که یکی از دلایل احتمالی نقش مثبت این قارچ بر مقدار کلروفیل a و b افزایش غلظت عنصر روی باشد. سپهری و همکاران (۳) گزارش کردند که قارچ اندوفایت *P. indica* با تأثیر بر پروتئین‌های مهم درگیر در فرایند فتوسنتز و چرخه کالوین و افزایش بیان آنها، نقش مؤثری در حفظ و پایداری فتوسنتز ایفا می‌نماید. تأثیر باکتری *P. putida* بر میزان کلروفیل a و b در سطوح مختلف روی مشابه با تأثیر آن بر غلظت عنصر روی بود (شکل‌های ۲، ۳ و ۴)، لذا با توجه به همبستگی بالای غلظت روی با میزان کلروفیل a و b (شکل‌های ۵ و ۶)، احتمالاً اثر کاهشی باکتری *P. putida* بر میزان کلروفیل a و b در شرایط کاربرد روی و عدم تأثیر معنی‌دار آن در شرایط عدم کاربرد این عنصر مربوط به کاهش غلظت عناصر غذایی به‌ویژه روی می‌باشد. تلقیح همزمان قارچ اندوفایت *P. indica* و باکتری *P. putida* با گیاهان در شرایط کاربرد روی تأثیری بر میزان کلروفیل a و b نسبت به تیمار شاهد نداشت، ولی موجب کاهش شاخص‌های مذکور نسبت به تیمار تلقیح انفرادی قارچ شد. این در حالی است که در شرایط عدم کاربرد روی تأثیر این تیمار با تیمار انفرادی قارچ اندوفایت *P. indica* مشابه یکدیگر بود. همان‌طور که بیان شد باکتری *P. putida* موجب کاهش غلظت عناصر غذایی و به‌ویژه روی در تلقیح همزمان نسبت به تلقیح انفرادی قارچ شد که این می‌تواند از دلایل اصلی کاهش غلظت کلروفیل a و b در تلقیح همزمان باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه گلخانه‌ای نشان‌دهنده آن است که کاربرد باکتری *P. putida* نقش مؤثری در بهبود وزن خشک شاخساره و ریشه به‌ویژه در شرایط عدم کاربرد روی دارا می‌باشد که این اثر سودمند باکتری در تلقیح همزمان کاهش می‌یابد. قارچ اندوفایت *P. indica* در شرایط کاربرد و عدم کاربرد روی نقش مؤثرتری در بهبود وضعیت تغذیه‌ای و میزان کلروفیل گیاه گندم دارا می‌باشد. به‌طورکلی علاوه‌بر باکتری *P. putida* که به‌عنوان یکی از PGPRهای مهم شناخته می‌شود، قارچ *P. indica* نیز نقش مؤثری در تحریک رشد و افزایش مقاومت گیاه گندم به کمبود عنصر روی ایفا می‌نماید. بنابراین، بهره‌گیری از این قارچ به‌عنوان قارچ محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting

Archive of SID

www.SID.ir

Fungus) در تولید کود بیولوژیک و امکان کاربرد گسترده آن برای انواع گیاهان زراعی، دورنمایی برای نیل به کشاورزی پایدار است.

سپاسگزاری

از مرکز کشت بدون خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، به خاطر در اختیار گذاشتن امکانات گلخانه‌ای و آزمایشگاهی کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

منابع مورد استفاده

۱. بلالی، م. ر.، م. ج. ملکوتی.، ح. مشایخی و ز. خادمی. ۱۳۷۸. اثر عناصر ریزمغذی بر افزایش عملکرد و تعیین حد بحرانی آنها در خاک‌های تحت کشت گندم آبی ایران. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک ۱۲(۶): ۱۱۱-۱۱۹.

۲. خوشگفتارمنش، ا. ح.، م. ر. بلالی و ز. خادمی. ۱۳۸۰. تأثیر مصرف سولفات روی بر رشد و عملکرد گندم در اراضی شور بایر اصلاح شده. هفتمین کنگره علوم خاک، شهرکرد.

۳. سپهری، م. ۱۳۸۸. شناسایی مکانیسم‌های مولکولی مقاومت القاء شده توسط قارچ *Piriformospora indica* به گیاه جو در شرایط تنش شوری و خشکی، پایان‌نامه دکتری مهندسی علوم خاک، گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده مهندسی و فن‌آوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

٤. معز اردلان، م. و غ. ثوابقی فیروزآبادی. ۱۳۸۱. *مدیریت حاصلخیزی خاک برای کشاورزی پایدار* (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران.

5. Achatz, B., S. Ruden, D. Andrade, E. Neumann, J. Pons-Kuhnemann, K.H. Kogel, P. Franken and F. Waller. 2010. Root colonization by piriformospora indica enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. Plant Soil 333: 59-70.
6. Al-karaki, G. N. and R. Hammad. 2001. Mycorrhiza influence on fruit yield and mineral content of tomato grown under salt stress. J. Plant Nut. 24: 1311-1323.
7. Allen, R. D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol. 107: 1049-1054.
8. Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23: 112-121.
9. Artursson, V., R. D. Finlay and J. K. Jansson. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environ. Microbiol. 8: 1-10.
10. Becker, J., R. Hedges and E. Messens. 1985. Inhibitory effect of pseudobactin on the uptake of iron by higher plants. Appl. Environ. Microbiol. 49: 1090-1093.
11. Cakmak, I., N. Sari, H. Marschner, M. Kalayci, A. Yilmaz, S. Eker and K. Gulut. 1996. Dry matter production and distribution of zinc in bread and durum wheat genotypes differing in zinc efficiency. Plant Soil. 180: 173-181.
12. Cakmak, l., H. Ekiz, B. Yilmaze, B. Torun, L. Koleli, A. Gultekin, A. Alkan and S. Ekern. 1997. Differential response of rye, bread and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils. Plant Soil. 188: 1-10.
13. Chen, Y., E. Jurkevitch, E. Bar-Ness and Y. Hadar. 1994. Stability constants of pseudobactin complexes with transition metals. Soil Sci. Soc. Am. J. 58: 390-396.
14. Gallego, S. M., M. P. Benavides and M. L. Tomaro. 1996. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. Plant Sci. 121: 151-159.
15. Glick, B. R. 2012. Plant growth promoting bacteria: mechanisms and applications. Hindawi Publishing Corporation Scientica. Article ID 963401, 15 p.
16. Goh, T. B., M. R. Banerjee, T. Shihua and D. L. Burton. 1997. Vesicular arbuscular mycorrhizae mediated uptake and translocation of P and Zn by wheat in a calcareous soil. Can. J. Plant Sci. 77: 339-346.
17. Gosal, S. K., A. Karlupia, S. S. Gosal, I. M. Chhibba and A. Varma. 2010. Bitization with piriformospora indica and pseudomonas fluorescens improves survival rate, nutrient acquisition, field performance and saponin content of

Archive of SID

www.SID.ir

micropropagated Chlorophytum sp. Indian J. Biotechnol. 9: 289-297.

18. Gupta, M. L., A. Prasad, M. Ram and S. Kumar. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus Glomus fasciculatum on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (Mentha arvensis) under field conditions. Bioresource Technol. 81: 77-79.
19. Jenschke, G., B. Brandes, A. J. Kuhn, W. H. Schoder, J. S. Becker and D. L. Godlbdd. 2000. The mycorrhizal fungus Paxillus in volutes magnesium to Norway spruce seedlings. Evidence from stable isotope labeling. Plant Soil 220: 243-246.
20. Kim, K. K., D. Jordan and G. A. MacDonald. 1989. Entro bacter agglomerans, phosphate solublizing bacterial activity in soil: effect of carbon sources. Soil Biol. 89: 995-1.
21. Kothari, S. K., H. Marschner and V. Romheld. 1991. Contribution of VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. Plant Soil 131: 177–185.
22. Kumari, R., H. Kishan, Y. K. Bhoon and A. Varma. 2003. Colonization of cruciferous plants by Piriformospopra indica. Curr. Sci. India 85: 1672-1674.
23. Lindalh, B. D., K. Ihrmark, J. Boberg, S. E. Trumbore, P. Hogberg, J. Stenlid and R. D. Finlay. 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. New Phytol. 173: 611-620.
24. Loheurte, F and J. Betrthlin. 1988. Effect of a phosphate solublizing bacteria on maize grow and root exudation over four levels of lobile phosphorus. Plant Soil 105: 11-17.
25. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. 2th ed., Harcourt Brace and Company Publishers. 889 p.
26. Marschner, H. and I. Cakmak. 1986. Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotto II Evidence for impaired shoot control of phosphorus uptake and translocation under zinc deficiency. Physiol. Plantarum 68: 491-496
27. Meena, K. K., S. Mesapogu, M. Kumar, M. S. Yandigeri, G. Singh and A. K. Saxena. 2010. Co-inoculation of the endophytic fungus Piriformospora indica with the phosphate-solubilising bacterium Pseudomonas striata affects population dynamics and plant growth in chickpea. Biol. Fertil. Soils 46: 169 –174.
28. Rahimi, A. and W. Bussler. 1979. Die Entwicklung und der Zn, Fe-und P-Gehalt höherer Pflanzen in Abhängigkeit vom Zinkangebot. Zeitschrift für Pflanzenernaehrung und Bodenkunde 142: 15–27.
29. Rai, M. and A. Varma. 2005. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of Piriformospora indica, which promotes the growth of Adhatoda vasica. Electron. J. Biotechn. 8: 107-111.
30. Rai, M., D. Achaya, A. Singh and A. Varma. 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.
31. Saleh-Rastin, N. 2001. Biological fertilizers and their roles on sustainable agriculture.
32. Sharma, P. N., N. Kumar and S. S. Bisht. 1994. Effect of zinc deficiency on chlorophyll content, photosynthesis and water relations of cauliflower plants. Photosynthetica 30: 353–359.
33. Swaminathan, K. 1978. Responses of three crop species to vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on zinc-deficient indian soils. New Phytol. 82: 481-487.
34. Tariq, M., S. Hameed, K. A. Malik and F. Y. Hafeez. 2007. Plant root associated bacteria for zinc mobilization in rice. Pak. J. Bot. 39: 245-253.
35. Treeby, M., H. Marschner and V. Romshlod. 1989. Mobilization of iron and other micronutrient cations from a calcareous soil by plant-borne, microbial and synthetic metal chelators. Plant Soil. 114: 217-226.
36. Varma, A., A. Singh, N. Sudha Sahay, J. Sharma, A. Roy, M. Kumari, D. Rana, S. Thakran, D. Deka, K. Bharti, P. Franken, T. Hurek, O. Blechert, K. H. Rexer, G. Kost, A. Hahn, B. Hock, W. Maier, M. Walter, D. Strack and I. Kranner. 2001. Piriformospora indica: a cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. Mycota IX. Springer Series, Germany. PP. 123-150.
37. Wang, H and J. Y. Jin. 2005. Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency. Photosynthetica 43: 591-596.
38. Welch, R. M. 2002. The impact of mineral nutrients in food crops on global human health. Plant Soil 247: 83-90.
39. Welch, R. M., M. S. Webb and J. F. Loneragan. 1982. Zinc in membrane function and its role in phosphorous toxicity. PP: 710-715. *In*: A. Scaife (Ed.), Proceeding of the Ninth Plant Nutrition Conference. 9th Commonweath Agricultural Bureau, Colloquium, Warwick, England.

Archive of SID

www.SID.ir