Archive of SID

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۳، شماره ۴، صفحه ۶۳۵-۶۲۰ (۱۳۹۶)
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2017.107860.1877

تأثیر قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) تحت تنش خشکی

ایوب مزارعی[۱]، علیرضا سیروس‌مهر[۲*] و زهرا بابایی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران، پست الکترونیک: asirousmehr@uoz.ac.ir

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۵ تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۶

چکیده

تنش کمبود آب به‌طور دائم یا موقت، در رشد و توزیع پوشش طبیعی گیاهان بیشتر از سایر عوامل محیطی محدودکننده است. به‌منظور بررسی تأثیر قارچ‌های آربوسکولار مایکوریزا و تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاه خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.)، آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل در چاه نیمه انجام شد. تنش خشکی در سه سطح (آبیاری براساس ۱۰۰٪ ظرفیت مزرعه به‌عنوان شاهد، ۶۰٪ و ۳۰٪ ظرفیت مزرعه) و سه گونه قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae*، *Glomus versiformis* و *Glomus intraradices* و بدون تلقیح به‌عنوان شاهد بود. نتایج نشان داد که پس از آغاز تیمارهای خشکی، خصوصیات رویشی مانند تعداد کاپیتول، تعداد دانه در کاپیتول، وزن هزاردانه، تعداد و مساحت سطح برگ، طول ریشه، تعداد شاخه‌های فرعی، ارتفاع بوته، وزن خشک برگ، ساقه و ریشه با افزایش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. محتوای نسبی آب برگ در اثر خشکی به شدت تحت تأثیر قرار گرفت و از ۷۷/۳ در شاهد به ۵۷/۰۱ در ۳۰٪ FC کاهش یافت. همچنین با افزایش تنش خشکی میزان فسفر برگ کاهش و مقدار پتاسیم برگ افزایش یافت. در پاسخ به تنش خشکی، فرایندهای تنظیم اسمزی در گیاهان ماریتیغال فعال شد و میزان پرولین در برگ‌ها افزایش (بیشترین مقدار ۰/۱۳ میلی‌گرم بر گرم بافت در آبیاری ۳۰٪ FC) یافت ولی درصد سیلیمارین در آبیاری کامل از ۱۶/۳۵٪ به ۱۰/۲۴٪ در آبیاری ۳۰٪ FC کاهش یافت. تلقیح با قارچ مایکوریزا شاخص‌های رشد رویشی، درصد سیلیمارین (بیشترین میزان در کاربرد *G. mosseae* و کمترین در شاهد)، محتوای نسبی آب گیاه و محتوای فسفر و پتاسیم برگ گیاه خارمریم را در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به‌طور معنی‌داری افزایش داد، ولی میزان پرولین برگ کمتر شد. به‌طور کلی، کاربرد قارچ میکوریزا سبب افزایش مقاومت به تنش خشکی در گیاه خارمریم شد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، سیلیمارین، فسفر، کاپیتول، گیاه دارویی، مایکوریزا.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گیاه دارویی، به گیاهی گفته می‌شود که دارای مواد مؤثر مشخصی است و در درمان بیماری یا پیشگیری از بروز آن مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاهان دارویی براساس قسمت‌های مورد استفاده، عادت رویشی، نیازهای اقلیمی، خواص دارویی و غیره در گروه‌های مجزا دسته‌بندی می‌شوند. در این میان بر اساس دسته‌بندی خاصیت دارویی، ماریتیغال یا همان گیاه خارمریم به‌عنوان گیاه دارویی مؤثر در درمان بیماری‌های کبدی شناخته شده است (Belitz & Sams, 2007). سیلی‌مارین به‌عنوان پیش‌ساز یک آنتی‌اکسیدان در درمان بیماری‌های مختلف کبدی استفاده می‌شود. خواص دیگری ازجمله اثرات ضد سرطانی از آن نیز گزارش شده است (Kumar Kalla *et al*., 2014).

گیاهان در دوران رشد با انواعی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی مواجه می‌شوند. تنش خشکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی به‌شمار می‌رود که سبب کاهش رشد و عملکرد در بسیاری از گیاهان زراعی و دارویی می‌گردد (Reddy *et al*., 2004). در گیاهان تحت تنش با توجه به ماهیت کمبود آب، پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی متنوعی ظاهر می‌شود، به‌عنوان مثال گیاهان در طی تنش خشکی با انباشت یون‌های غیرآلی (مثل پتاسیم، کلسیم و کلر) یا ترکیب‌های غیربردار آلی مثل پرولین و یا کربوهیدرات‌ها سبب کاهش توان اسمزی شده و از این طریق سبب ورود آب از خاک به داخل ریشه می‌شوند (Zabet *et al*., 2003). در پژوهشی که بر روی سه گیاه دارویی شوید، گشنیز و رازیانه انجام شد، صفاتی از قبیل ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته و تعداد شاخه جانبی در بوته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که کاهش میزان آب در خاک از حد ظرفیت زراعی (FC) تأثیر معنی‌دار و متفاوتی بر تمامی صفات مورد مطالعه داشت (Amirideh ahmadi *et al*., 2012).

یکی از راهکارهای اساسی برای مقابله با تنش خشکی در گیاهان همزیستی با میکروارگانیسم‌های خاک برای جذب بهتر آب و مواد غذایی است (Mohammad *et al*., 2003). قارچ‌ها موجوداتی هسته‌دار، اسپوردار، با روش تغذیه جذبی، دارای دیواره سلولی، هتروتروف، غیرمتحرک و بدون سیستم آوندی هستند و واکنش‌های اسیدی را ترجیح می‌دهند. قارچ‌های میکوریزا ازجمله میکروارگانیسم‌های خاک هستند که می‌توانند با ریشه طیف وسیعی از گیاهان همزیست را ایجاد کنند و روی رشد گیاه میزبان اثر بگذارند.

همزیستی که بین اغلب گیاهان آوندی با قارچ‌های میکوریزای موجود در خاک بوجود می‌آید متعلق به سه کلاس Basidiomycetes، Ascomycetes، Zygomycetes (Glomales) هستند (Kristek *et al*., 2005). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که این همزیستی حدود ۹۰٪ گونه‌های گیاهی سطح زمین را درگیر کرده است (Gadkar *et al*., 2001). متعاقب شناسایی رابطه همزیستی میکوریزای، آنها را در سه گروه اکتومیکوریز، اندومیکوریز و اکتواندومیکوریز تقسیم‌بندی کرده‌اند. از این میان، انواع اندومیکوریزا از نظر برقراری همزیستی با گیاهان زراعی اهمیت و کارایی بیشتری دارند که برحسب گیاه میزبان و ساختمان زیست‌شناسی، آلودگی قارچ به سه دسته تقسیم می‌شوند که عبارتنداز: میکوریزای وسیکولار–آربوسکولار، میکوریزای اریکاسه و میکوریزای ارکیداسه که در این میان میکوریزایوسیکولار–آربوسکولار (VAM) مهمتر بوده است (Kothamasi *et al*., 2001).

قارچ‌های مایکوریزای یکی از میکروارگانیسم‌های مهم در ریزوسفر هستند که اثرات این قارچ از طریق ایجاد تغییرات روی برخی از خصوصیات ریشه و جذب عناصر غذایی در گیاهان میزبان در شرایط تنش خشکی اعمال می‌شود (Soltanian & Tadayyon, 2015). مطالعات انجام شده در شرایط تنش خشکی نشان داده است گیاهانی که همزیستی با قارچ مایکوریزا تشکیل می‌دهند، باعث افزایش رشد و عملکرد

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهان و همچنین کمک به افزایش مقاومت محصولات زراعی در برابر شرایط تنش خشکی می‌شوند (Liu *et al.*, 2015). براساس گزارش Panwar (۱۹۹۳) همزیستی با مایکوریزا در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L) باعث تأخیر در کاهش محتوای نسبی آب برگ و باز ماندن روزنه‌ها در طول تنش خشکی می‌شود.

قارچ‌های مایکوریزا وسیکولار–آربوسکولار در سال‌های اخیر برای مقابله با کم آبی و تنش‌های خشکی در بسیاری از گیاهان مانند ذرت، شبدر و کاهو مورد استفاده قرار گرفته است (Song, 2005). میکوریزای آربوسکولی در جذب آب و تعادل آبی گیاهان در شرایط خشک مؤثرند (Giri *et al.*, 2003). گیاهان دارای همزیستی میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی آب را از خاک سریع‌تر و کامل‌تر تخلیه می‌کنند و باعث می‌شوند تا پتانسیل آب خاک کاهش بیشتری پیدا کند، زیرا در گیاهان میکوریزی معمولاً اندام هوایی گیاه توسعه بیشتری پیدا کرده، سطح برگ‌ها افزایش یافته و این خود باعث افزایش نیاز تعرقی گیاهان میکوریزایی می‌شود. قارچ‌های مایکوریزا در گیاهانی که دارای ریشه‌های بدون انشعاب هستند، کارایی بیشتری داشته و از طرف دیگر سیستم ریشه‌ای آنها توسعه بیشتری در خاک دارد (Maggio *et al*, 2001). برخی محققان چنین نتیجه گرفته‌اند که میکوریزا به‌طور مستقیم در افزایش فتوسنتز گیاه میزبان نقش ندارد، بلکه از طریق بهبود جذب آب و تغییر روابط هورمونی، سطح فتوسنتز گیاه میزبان را نسبت به گیاه شاهد بالاتر نگه می‌دارد (Auge, 2000).

با توجه به وجود نوسانهای منفی شدید در بارش‌های مناطق مختلف کشور، وقوع خشکسالی‌های خفیف تا شدید در کشور امری اجتناب‌ناپذیر محسوب می‌شود که اثر بسیار زیانباری را در بخش‌های کشاورزی تحمیل می‌کنند. از این‌رو با استفاده از تکنیک‌های میکوریزایی کردن گیاهان در مناطق مختلف، به طور قابل ملاحظه‌ای می‌توان تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی (خشکی و شوری) را افزایش داد. میکوریزا این عمل را از طریق مقاوم‌سازی بیشتر آنها به عوامل نامساعد و با تسریع در رشد و نمو گیاهان انجام می‌دهد. تنوع قارچ‌های میکوریزایی موجب تنوع زیستی در گیاهان می‌گردد که از نظر اکولوژیکی فوق‌العاده ارزشمند است. علاوه‌بر این استفاده از قارچ های همزیست میکوریزا می تواند جایگزین عوامل شیمیایی شود و از این طریق صدمات ناشی از مصرف مواد شیمیایی توسط انسان و همچنین آلودگی محیط‌زیست را کاهش دهند (Ortus, 1996). بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و عملکرد ماریتیغال (خارمریم) در شرایط تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل واقع در چاه نیمه به صورت گلدانی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تلقیح با سه گونه قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae*، *Glomus versiformis* و *Glomus intraradices* و بدون تلقیح به‌عنوان شاهد و سطوح مختلف تنش خشکی شامل آبیاری در دو سطح ۳۰٪ و ۶۰٪ ظرفیت زراعی و آبیاری کامل (نگهداری رطوبت در حد ظرفیت زراعی) به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. خصوصیات خاک مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

آماده‌سازی قارچ مایکوریزا

گونه‌های مایکوریزای بکار رفته در این پژوهش از شرکت زیست‌فناور توران سمنان تهیه شد. این قارچ‌ها به‌صورت خالص نبوده بلکه همراه خاک به بازار مصرف عرضه می‌شوند. خاک حاوی ریشه‌های گیاهان مایکوریزایی شده و ریسه‌های قارچ مایکوریزا (۲۰ تا ۵۰ متر در هر گرم خاک) می‌باشد، همچنین تعداد تقریبی اسپور قارچ در هر گرم خاک بین ۵۰ تا ۱۵۰ اسپور است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تجزیه بستر خاکی مورد استفاده در کشت گلدانی خارمریم

بافت Texture	شن Sand	رس Clay	لای Lome	منگنز Mn	روی Zn	آهن Fe	پتاسیم K	فسفر P	نیتروژن N	اسیدیته pH
	(٪)			$mg.kg^{-1}$						
لومی شنی Sandy lome	۴۱	۲۸	۳۱	۲/۹	۳/۸	۲/۴۱	۱۲/۵	۹/۲	۳/۳	۷/۷

بذرهای مورد نظر از مؤسسه پاکان بذر اصفهان تهیه و قوه نامیه آن سنجیده شد. قبل از کاشت بذرها به‌وسیله هیپوکلریت سدیم ۲٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و بعد به‌وسیله آب مقطر در سه مرحله متوالی شستشو و آب‌کشی گردید. برای سنجش قوه نامیه از پتری‌دیش‌هایی با قطر ۱۰ سانتی‌متر و کاغذهای صافی واتمن شماره ۱ استفاده شد. پس از استریل کردن پتری‌دیش‌ها و کاغذهای صافی، در کف هر پتری‌دیش یک عدد کاغذ صافی قرار داده شد. سپس بر روی کاغذهای صافی ۵۰ عدد بذر ضدعفونی شده (توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ به مدت یک دقیقه) قرار گرفت. برای آبیاری بذرها از آب مقطر به مقدار ۶-۴ میلی‌لیتر استفاده شد. پتری‌دیش‌ها در انکوباتوری با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بذرهایی جوانه زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آنها ۲ میلی‌متر و بیشتر بود. این عمل تا زمانی (۱۰ روز) که تمامی بذرها جوانه زده و یا قادر به جوانه‌زنی نبودند ادامه یافت (Perry, 1991).

تلقیح خاک

بستر خاک مورد استفاده (جدول ۱) شامل نسبت ۱: ۲ خاک به ماسه با بافت لومی رسی بود. ابتدا خاک مورد استفاده به‌منظور ضدعفونی به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو گردید. سپس برای مایه‌کوبی هر کیلوگرم از خاک، مقدار ۲۰ گرم از هرگونه قارچ میکوریزا اضافه شد. ۱۰ کیلوگرم از این خاک داخل هر یک از گلدان‌ها ریخته شد.

در هر گلدان ۲۰ عدد بذر کاشته شد و در مرحله ۴ برگی عمل تنک کردن بر روی گلدان‌ها انجام شد و درنهایت تعداد ۶ بوته درون هر گلدان باقی ماند. ۱/۵ ماه بعد از کشت (مرحله شش برگی شدن) برای دستیابی به سطوح مختلف تنش از روش پرهیز از آبیاری استفاده شد. بدین صورت که گلدان‌ها پس از انجام آبیاری و رسیدن مقدار رطوبت خاک به سطح ظرفیت مزرعه، دیگر آبیاری نمی‌شدند. سپس، میزان رطوبت خاک چند بار اندازه‌گیری و پس از رسیدن رطوبت خاک به سطح رطوبتی تیمار مورد نظر، میزان آب لازم برای رسیدن رطوبت خاک گلدان از رابطه V=PZA(FC-PWP)/100 محاسبه گردید. در این رابطه V حجم آب آبیاری، P وزن مخصوص خاک، Z عمق توسعه ریشه، A مساحت واحد آزمایشی و PWP رطوبت خاک در نقطه پژمردگی دائم می‌باشد. برای اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک و تعیین زمان آبیاری از دستگاه TDR (مدل TRYME، شرکت IMCO، ساخت آلمان) استفاده شد (Topp & Davies, 1985).

تیمارهای خشکی در سه سطح بدون تنش، ۶۰٪ (تنش خشکی ملایم) و ۳۰٪ (تنش خشکی شدید) ظرفیت مزرعه اعمال گردید. در مرحله گلدهی کامل، پارامترهای رویشی شامل وزن خشک ساقه و ریشه، تعداد شاخه فرعی، تعداد

www.SID.ir

Archive of SID

برگ، طول ریشه، ارتفاع بوته و سطح برگ اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفته و بعد با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن گردید. مساحت سطح برگ (در پایان دوره رشد و پس از جدا کردن برگ‌ها از ساقه) با دستگاه سنجش سطح برگ تعیین گردید و مقدار کلروفیل کل به‌وسیله دستگاه کلروفیل‌سنج دستی مدل SPAD502plus اندازه‌گیری شد.

تنظیم‌کننده‌های اسمزی

برای تعیین غلظت عناصر غذایی فسفر و پتاسیم موجود در بخش هوایی، از هر گلدان یک نمونه گیاهی به‌طور تصادفی تهیه گردید. آنگاه نمونه‌های فراهم شده را پس از خشک کردن در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت به‌وسیله آسیاب در تاریکی پودر کرده و در نهایت، به روش هضم توسط اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک، آب اکسیژنه و سلنیم عصاره آنها تهیه شد. پتاسیم کل به روش نورسنجی شعله با دستگاه فیلم‌فتومتر و فسفر کل به روش رنگ‌سنجی با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Jenway6405 UV/Visible ساخت انگلستان اندازه‌گیری شد (Emami, 1996).

پرولین

اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از روش Prochazka و همکاران (۱۹۹۸) به‌شرح زیر انجام شد. ۰/۱ گرم از نمونه برگ را به همراه ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ در هاون کوبیده و از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد. به ۲ میلی‌لیتر از این محلول، ۲ میلی‌لیتر اسید گلاسیال استیک و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. ۶CC تولوئن به نمونه‌ها اضافه و در نهایت میزان نور جذبی در ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. میزان پرولین استخراجی براساس میکرومول بر گرم وزن تر از جدول استاندارد بدست آمد.

محتوای نسبی آب برگ

برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ از هر بوته دو برگ جوان توسعه یافته و در موقعیتی یکسان جدا گردید. در آزمایشگاه بعد از تمیز کردن سطح برگ‌ها وزن تازه آنها تعیین شد. نمونه‌ها به مدت چهار ساعت در ظروف حاوی آب مقطر در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شناور شدند. بعد از آبگیری، برگ‌ها دوباره توزین تا وزن آماس تعیین شود. در ادامه وزن خشک برگ‌ها با قرارگیری در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد آون برای ۴۸ ساعت با ترازویی به دقت ۰/۰۰۰۱ وزن شد. محتوای نسبی آب برگ در نهایت به‌وسیله رابطه ۱ محاسبه گردید (Levitt, 1980).

$$RWC= (LWF-LWD)/(LWT-LWD)$$ رابطه ۱

که در این رابطه، RWC: محتوای نسبی آب برگ، LWF: وزن تر، LWT: وزن آماس و LWD: وزن خشک برگ‌هاست.

استخراج سیلیمارین از بذر

برای استخراج سیلیمارین از الکل اتانول استفاده شد. به ۱ گرم بذر خشک شده درون ارلن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه شد و در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. پس از ۳۰ دقیقه، اتانول بالن که با حل شدن سیلیمارین در آن به رنگ زرد درآمده بود تخلیه و در یک ارلن جمع‌آوری شد. بازیابی اتانول توسط دستگاه تبخیر در خلأ انجام شد. در این مرحله اتانول تا رسیدن حجم نمونه به کمتر از ۵ میلی‌لیتر تحت عمل تبخیر قرار

www.SID.ir

Archive of SID

گرفت. پس از صاف کردن محلول حاصل، نمونه برای استحصال سیلیمارین آماده شد (Karimzadeh *et al.*, 2001). پس از رسیدن حجم نمونه به کمتر از ۵ میلی‌لیتر، نمونه‌ها در یک ظرف لبه‌دار آلومینیومی ساخته شده از فویل ضخیم ریخته شد. به‌منظور حذف کامل اتانول، نمونه به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از این مدت برای اطمینان از عدم وجود اتانول، نمونه چند بار به فاصله یک ساعت توزین و در صورت عدم مشاهده تغییر وزن، مرحله بعدی کار آغاز شد. در پایان این مرحله، عصاره حاصل به‌صورت رگه‌های زرد رنگ بر روی فویل قابل مشاهده است. وزن سیلیمارین موجود در نمونه (میلی‌گرم) از اختلاف وزن فویل حاوی نمونه و وزن فویل خالی محاسبه شد. برای تهیه هر نمونه حدود ۵ میلی‌لیتر اتانول داخل فویل حاوی سیلیمارین ریخته و سیلیمارین با دقت تراشیده شد تا کاملاً در اتانول حل شود. سپس محلول حاصل در یک لوله آزمایش ۵ میلی‌لیتری ریخته شد.

داده‌های مربوط به آزمایش‌های مختلف در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ver 9.1 تجزیه شده و مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

نتایج

خصوصیات رویشی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که برخی از ویژگی‌های رشدی در این آزمایش از قبیل تعداد برگ، تعداد شاخه فرعی، ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه، وزن خشک برگ و ساقه، طول ریشه، سطح برگ، تعداد کاپیتول، تعداد دانه در کاپیتول و وزن هزاردانه تحت تأثیر تنش خشکی و تلقیح با قارچ مایکوریزا قرار گرفتند و اختلاف از نظر آماری در سطح ۱٪ معنی‌دار گردید ولی اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح با قارچ مایکوریزا برای این صفات معنی‌دار نبود (جدول ۲).

مقایسه میانگین جدول ۳ نشان داد که بیشترین مقدار صفات رویشی مورد بررسی در این پژوهش از قبیل تعداد کاپیتول، تعداد دانه در کاپیتول، وزن هزاردانه، تعداد برگ، مساحت سطح و وزن خشک برگ، ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، وزن خشک ساقه، طول و وزن خشک ریشه با کاربرد قارچ میکوریزا، از تلقیح با قارچ *Glomus mosseae* بدست آمد و کمترین مقدار برای این صفات در تیمار شاهد (بدون قارچ مایکوریزا) حاصل شد. از طرفی با افزایش شدت تنش خشکی تمام شاخص‌های رشدی گیاه خارمریم در پژوهش کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین مقادیر برای تمامی این صفات در تیمار آبیاری کامل حاصل شد و کمترین مقادیر نیز در شرایط تنش آبی شدید (۳۰٪ رطوبت ظرفیت مزرعه) بدست آمد.

میزان سیلیمارین (٪)

با توجه به نتایج تجزیه واریانس بدست آمده (جدول ۴) مشاهده گردید که تأثیر تنش خشکی و تلقیح با قارچ مایکوریزا بر میزان سیلیمارین در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح با قارچ مایکوریزا برای این صفت معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح خشکی نشان داد که با افزایش تنش میزان سیلیمارین کاهش یافت، به طوری که بیشترین مقدار آن در آبیاری کامل و کمترین مقدار آن در ۳۰٪ ظرفیت زراعی حاصل گردید. همچنین مقایسه میانگین کاربرد قارچ مایکوریزا نشان داد که بیشترین مقدار سیلیمارین در اثر تلقیح با قارچ *Glomus mosseae* و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (بدون قارچ میکوریزا) مشاهده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

محتوی نسبی آب برگ

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) اثرات مایکوریزا و خشکی بر محتوای نسبی آب برگ در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح با قارچ مایکوریزا برای این صفت معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که با افزایش تنش خشکی محتوی نسبی آب گیاه کاهش یافت، به‌طوری که تنش خشکی باعث کاهش ۲۶/۲۴ درصدی محتوی نسبی برگ در مقایسه با گیاهان شاهد شد. از طرفی تلقیح با سه گونه قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae*، *Glomus versiformis* و *Glomus intraradices* باعث افزایش محتوی نسبی آب در گیاه خارمریم نسبت به تیمار بدون قارچ شد ولی بیشترین مقدار محتوی نسبی از تلقیح با قارچ*Glomus intraradices* حاصل شد (جدول ۵).

میزان پرولین (میلی‌گرم بر گرم)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش خشکی و قارچ میکوریزا بر میزان پرولین در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل مایکوریزا و خشکی بر پرولین برگ معنی‌دار نبود (جدول ۴). مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح خشکی نشان داد که با افزایش تنش میزان پرولین افزایش یافت، به‌طوری که بیشترین مقدار آن در ۳۰٪ ظرفیت زراعی و کمترین مقدار آن از تیمار شاهد (عدم تنش) حاصل گردید. همچنین مقایسه میانگین تلقیح با قارچ مایکوریزا نشان داد که بیشترین مقدار پرولین در تیمار شاهد (بدون قارچ میکوریزا) مشاهده شد.

محتوی فسفر و پتاسیم برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تلقیح با قارچ مایکوریزا و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر مقدار پتاسیم و فسفر برگ داشتند ولی اثر متقابل آنها برای این صفات معنی‌دار نبود (جدول ۴). از طرفی نتایج مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که افزایش تنش خشکی باعث افزایش ۱۹/۴۸ درصدی پتاسیم و کاهش ۱۱/۶۷ درصدی فسفر نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش) شد (جدول ۵).

محتوی کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی و تلقیح با قارچ مایکوریزا بر میزان کلروفیل در سطح ۱٪ معنی‌دار بود ولی اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح با قارچ مایکوریزا برای این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۴). مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح تنش خشکی و کاربرد قارچ مایکوریزا نشان داد که افزایش تنش خشکی سبب کاهش ۲۴/۸۱ درصدی میزان کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد شد و از طرفی تلقیح با قارچ مایکوریزا آربوسکولار باعث افزایش مقدار کلروفیل برگ‌ها در مقایسه با شاهد شد. به‌طوری که بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل به‌ترتیب در تیمار با قارچ *Glomus mosseae* و تیمار بدون قارچ بدست آمد (جدول ۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات مورفولوژیک خارمریم تلقیح شده با مایکوریزا در تنش خشکی

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی	تعداد برگ	سطح برگ	وزن خشک برگ	ارتفاع بوته	تعداد شاخه فرعی	وزن خشک	طول ریشه	وزن خشک ریشه	تعداد کاپیتول	تعداد دانه در کاپیتول	وزن هزاردانه
خشکی	۲	۱۸۰۲/۶۵ **	۳۸۵۶/۰۵ **	۱/۰۵ **	۴۲۱/۱۲ **	۱۲۳/۹۶ **	۵/۴ **	۲۴۹/۵۹ **	۰/۶۲ **	۳/۲۵ **	۱۳۰/۲۸ **	۱/۶۴ **
قارچ مایکوریزا	۳	۱۷۱۶/۵۳ **	۹۲۵۱/۱۲ *	۰/۱۷ *	۹۱/۰۶ **	۵۷/۶۱ **	۱/۲۹*	۳۶/۲۳ **	۰/۳۵ **	۶/۱۷ **	۲۵۵/۶۱ **	۲/۹۸ **
خشکی× قارچ مایکوریزا	۶	۱۳۴۵ ns	۱۵۴۱/۳۲ ns	۰/۰۷ ns	۱۱/۹۸ ns	۸/۳۳ ns	۰/۲۶ ns	۳۷/۵۸ ns	۰/۰۲ ns	۱/۰۱ ns	۱۲۰/۲۱ ns	۴ ns
اشتباه (Error)	۳۳	۱۵/۴۱	۱۲۶۵/۳۴	۰/۰۳	۱۰/۱۴	۳/۱۶۷	۰/۳۵۴	۳/۶۴۲	۰/۰۲۳۶	۰/۲۷	۸۹/۳۸	۰/۳۷
ضریب تغییرات (%CV)		۱۳/۹	۱۲/۴	۴/۷۱	۷/۸	۱۱/۲	۶/۳۲	۹/۴۳	۴/۳۱	۶/۱۱	۴/۱۵	۲/۵۳

ns، * و **: به‌ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵٪ و ۱٪

جدول ۳- مقایسه میانگین برخی صفات مورفولوژیک خارمریم تلقیح شده با مایکوریزا در شرایط خشکی

تیمارها	تعداد برگ	سطح برگ	وزن خشک برگ (gr)	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه فرعی	وزن خشک ساقه (gr)	طول ریشه (cm)	وزن خشک ریشه (gr)	تعداد کاپیتول	تعداد دانه در کاپیتول	وزن هزاردانه (gr)	وزن هزاردانه (gr)
تنش خشکی (Drought stress)												
۱۰۰	۳۲۷/۵۷ a	۳۴۰/۱۵ a	۱/۴ a	۶۱/۲۵ a	۱۶/۲۱ a	۴۵/۶۴ a	۲۵/۱۵ a	۰/۷۸ a	۴/۵۲ a	۸۳ a	۲۵/۰۴ a	۲۵/۰۴ a
۶۰	۲۹۲/۲۱ b	۳۰۱/۰۲ b	۱/۱ b	۴۹/۲۵ b	۱۴ b	۴۰/۳۵ b	۲۱/۱۴ b	۰/۶۳ b	۲/۹۸ b	۶۴/۲۴ b	۱۹/۵۴ b	۱۹/۵۴ b
۳۰	۲۲۱/۲۱ c	۲۴۵/۱۵ c	۰/۸۶ c	۳۵/۴۹ c	۱۱/۳۲ c	۳۴/۲۵ c	۱۶/۴۱ c	۰/۳۷ c	۱/۹۹ c	۵۴/۰۳ c	۱۵/۳۴ c	۱۵/۳۴ c
مایکوریزا (Mycorrhiza)												
Non Mycorrhiza	۲۴۰/۲۱ b	۲۶۷/۶۲ b	۰/۹۱ c	۶۱/۰۵ c	۱۲/۲۴ c	۳۶/۴۸ c	۱۷/۳۱ c	۰/۵۱ c	۵/۷۹ d	۸۶/۶۱ d	۲۳/۴۷ c	۲۳/۴۷ c
G. mosseae	۲۹۷/۲۳ a	۲۹۸/۴۵ a	۱/۴ a	۷۸/۵۳ a	۱۵/۹۸ a	۴۴/۲۴ a	۲۲/۱۵ a	۰/۷۰ a	۹/۴۷ a	۱۱۰/۶۷ a	۲۶/۳۷ a	۲۶/۳۷ a
G. versiformis	۲۹۴/۳۵ a	۲۹۴/۳۲ a	۱/۲۹ b	۷۵/۶۳ a	۱۴/۱۰ b	۴۲/۲۵ b	۲۱/۴۶ b	۰/۶۷ b	۷/۰۸ c	۹۴/۲۳ c	۲۵/۰۱ b	۲۵/۰۱ b
G. intraradices	۲۹۰/۳۳ a	۲۹۶/۱۶ a	۱/۲۴ b	۶۷/۰۷ b	۱۳/۵۹ b	۴۲/۱۰ b	۲۱/۴۱ b	۰/۶۹ a	۸/۳۵ b	۹۷/۲۲ b	۲۵/۷۷ b	۲۵/۷۷ b

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آنهاست.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات فیزیولوژیک خارمریم تلقیح شده با مایکوریزا تحت تنش خشکی

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	فسفر	پتاسیم	کلروفیل	محتوی نسبی آب	پرولین	درصد سیلیمارین
تنش خشکی	۲	۰/۰۰۹ **	۳۱۵/۹۸ **	۴۵۴/۱۹ **	۰/۰۴۶ **	۰/۰۰۴۹ **	۰/۰۹ **
قارچ مایکوریزا	۳	۰/۰۰۲۹ *	۱۱۱/۵۳ *	۹۱/۶۴ *	۰/۰۳۳۱ **	۰/۰۰۰۴ **	۲/۳۱ **
خشکی× قارچ مایکوریزا	۶	۰/۰۰۹ ns	۳۶/۲۴ ns	۱۴/۶۹ ns	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۲۴ ns	۰/۶۴ ns
اشتباه آزمایش (Error)	۳۳	۰/۰۰۰۷	۲۷/۶۴۸	۱۰/۵۱۹	۰/۰۰۴۱	۰/۰۰۰۲	۰/۱۴
ضریب تغییرات CV (٪)		۱۹/۴۱	۹/۹۷	۸/۷۴	۸/۴۵	۱۶/۲۱	۲/۲۳

ns، * و **: به‌ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵٪ و ۱٪

جدول ۵- مقایسه میانگین برخی صفات مورفولوژیک خارمریم تلقیح شده با مایکوریزا در شرایط خشکی

تیمارها	فسفر ($mg.g^{-1}$)	پتاسیم ($mg.g^{-1}$)	کلروفیل	محتوی نسبی آب (٪)	پرولین ($mg.g^{-1}$)	درصد سیلیمارین (٪)
تنش خشکی						
۱۰۰	۰/۱۳۷ a	۴۲/۳۶ c	۱۶/۳۵ a	۰/۰۵۵ b	۷۷/۳ a	۴۲/۰۷ a
۶۰	۰/۱۳۴ b	۴۸/۹۸ b	۱۲/۳۰b	۰/۰۷۳ b	۷۱/۰۸ b	۳۶/۶۷ b
۳۰	۰/۱۲۱ c	۵۲/۶۱ a	۱۰/۲۴ c	۰/۱۳ a	۵۷/۰۱ c	۳۱/۶۳ c
مایکوریزا						
Non Mycorrhiza	۰/۱۱۴ c	۴۶/۰۱ c	۱۶/۱۴ c	۰/۹۰a	۶۹/۰۱ b	۳۶/۲۲ b
G. mosseae	۰/۱۳۵ b	۴۹/۰۶ b	۱۸/۶۵ a	۰/۶۹ b	۷۴/۵۶ a	۳۹/۱۶ a
G. versiformis	۰/۱۴۵ a	۵۱/۹۵ a	۱۶/۶۷ b	۰/۷۸ b	۷۵/۳۹ a	۳۹/۱۰a
G. intraradices	۰/۱۳۷ b	۴۸/۹۷ b	۱۶/۸۳ b	۰/۷۴ b	۷۹/۴۶ a	۳۹/۰۱ a

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آنهاست.

بحث

خصوصیات رویشی

ارتباط مستقیمی بین افزایش میزان تنش خشکی و هر یک از شاخص‌های رشد وجود دارد. وجود هر نوع تنشی از قبیل خشکی با توجه به اینکه در چه مرحله یا مراحلی از رشد اتفاق می‌افتد، موجب صدمه به یک یا تعدادی از اجزای عملکرد و در نتیجه عملکرد نهایی خواهد شد (Paknezhad, 2005). اثرات تنش خشکی بر رشد، مقدار و کیفیت گیاه بسیار وسیع بوده و مهمترین فرایند تنش خشکی کاهش سرعت نمو، کاهش رشد طولی ساقه و کاهش رشد برگ‌هاست. علت این پدیده اثر منفی تنش خشکی بر فرایندهای فتوسنتز، تغذیه، روابط هورمونی و آبی گیاه می‌باشد (Chabak, 1996).

www.SID.ir

Archive of SID

Lebaschi و Shariphi-Ashorabadi (۲۰۰۴) و Hasani (۲۰۰۶) کاهش وزن خشک ریشه، ساقه و برگ و ارتفاع بوته اسفرزه، بومادران و بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) را در شرایط تنش خشکی گزارش کردند، که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. نتایج حاصل با نتایج Ahmed و همکاران (۲۰۰۲) که گزارش کردند با کاهش آب مصرفی ارتفاع بوته‌ها کاهش یافت، مطابقت دارد. آنان علت کاهش ارتفاع ساقه را در اثر تنش خشکی در ارتباط با کاهش تعداد گره و طول میان‌گره دانستند. کاهش تعداد و سطح برگ در شرایط تنش خشکی، سبب کاهش ناحیه سطحی تعرق، افزایش جذب آب از خاک و در نهایت مقاومت گیاه در برابر تنش می‌شود. البته کاهش سطح برگ می‌تواند ناشی از کاهش تقسیم سلولی و همچنین ریزش و پیری برگ باشد (Lobato *et al.*, 2008).

قارچ‌های مایکوریزایی بر رشد و نمو گیاهان اثر قابل توجهی دارند. از برجسته‌ترین پیامدهای همزیستی مایکوریزا بر گیاهان افزایش عملکرد گیاهان به‌ویژه در خاک‌هایی با حاصلخیزی کم می‌باشد. یکی از عمده‌ترین علل افزایش عملکرد افزایش سطح ریشه‌ها از طریق نفوذ میسیلیوم قارچ در خاک و به‌تبع دسترسی گیاه به حجم بیشتری از خاک و مواد معدنی می‌باشد (Soltanian & Tadayyon, 2015).

سازوکارهای مختلفی در ارتباط با تأثیر میکوریزا بر رشد رویشی گیاهان ذکر شده است. پژوهشگران معتقدند که قارچ‌های مایکوریزا با افزایش جذب مواد غذایی مانند نیتروژن (Diedderichs, 1990)، فسفر (Shirani *et al.*, 2000)، عناصر کم مصرف (Bryla & Duniway, 1998)، افزایش جذب آب موجب رشد رویشی گیاهان می‌شود. از طرفی گیاهان مایکوریزایی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزایی از جذب بالاتر مواد غذایی برخوردار می‌باشند، زیرا آنها دارای یک شبکه هیفی گسترده (Rilling) می‌باشند که هیف رابطه بین خاک و ریشه بوده و دارای سطح وسیعی است که به‌عنوان انشعاب ریشه‌ای مواد غذایی را جذب می‌کند (Maggio & Reddy, 2001).

میزان سیلیمارین

گزارش‌هایی مبنی بر افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه در اثر القای تنش خشکی در گیاهان وجود دارد. گزارش شده است که بیوسنتز این متابولیت‌ها تنها تحت تأثیر ژنتیک گیاه نیست بلکه با توجه به الگوهای محیطی نیز تغییر می‌کند (Aliabadi Farahani *et al.*, 2009). Turtola و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که به‌دلیل کاهش رشد در اثر القای تنش خشکی، تثبیت کربن در طی فتوسنتز صرف تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود و بیشتر متابولیت‌ها یا تولیدات در گیاهان تحت تنش در جهت جلوگیری از اکسیداسیون سلولی است. در گزارشی بیان شد که تنش شدید خشکی سبب افزایش معنی‌دار ترکیب‌های فنلی در برگ‌های سویا رقم گرگان ۳ شد (Ghorbanli & Niakan, 2005). Pirzad و همکاران (۲۰۰۶)، Shi و همکاران (۲۰۰۷) و Belitz و Sams (۲۰۰۷) بیان کردند که تنش خشکی سبب افزایش درصد اسانس آویشن و میزان رزمارینیک اسید در گیاه *Salvia miltorhiza* و افزایش میزان فلاوولیگنان‌های گیاه ماریتیغال می‌شود که با یافته‌های این تحقیق همخوانی دارد.

میزان پرولین

زمانی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها و آمیدها تسریع می‌شود. یکی از این آمینواسیدها پرولین است (Barker *et al.*, 1993). افزایش تجمع پرولین در زمان تنش می‌تواند به‌دلیل تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش بارگیری آن از طریق آوند آبکشی، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش و تخریب و اختلال در گیاهان در طول تنشهای رطوبتی، برای انجام فرآیند سنتز پروتئین‌ها باشد (Lutts *et al.*, 1996).

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج این پژوهش با نتایج Munne-Bosch و Alegre (۲۰۰۴) که اثر خشکی را بر مقدار پرولین در گیاه جو بررسی کردند، مطابقت دارد. نتایج Babaie و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی اثر سطوح تنش خشکی بر روی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان پرولین افزایش می‌یابد، مشابه با آن در مطالعه Bandurska و Jozwiak (۲۰۱۰) در جنس *Lolium* و گونه‌ای از جنس *Festuca* با کاهش محتوی نسبی آب تجمع پرولین گزارش شده است.

پرولین در شرایط تنش علاوه‌بر حفظ تعادل اسمزی گیاه به‌عنوان پایدارکننده پروتئین‌ها، کلات‌کننده فلزی، مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی و حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد شناخته می‌شود (Mishra & Dubey, 2006). Porcel و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که میزان پرولین ریشه در گیاه سویای آمیخته شده با قارچ مایکوریزا در مقایسه با گیاهان بدون قارچ تحت شرایط تنش خشکی از سطح بالایی برخوردار است. معمولاً گیاهان مایکوریزا با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان بدون میکوریزا، قادرند از شرایط تنش خشکی به‌طور موقت فرار کنند و کمتر دچار آسیب شوند، در نتیجه میزان پرولین و قندهای محلول نسبت به گیاهان بدون مایکوریزا افزایش کمتری نشان می‌دهد (Ruiz-Lozano, 2003).

محتوای فسفر و پتاسیم برگ

پتاسیم از مهمترین عناصر غیرآلی محلول در گیاه است که برای بقاء در شرایط مختلف به‌ویژه شرایط شور ضروری می‌باشد. پتاسیم به کاهش توان اسمزی آوندی کمک می‌کند که لازمه آن حفظ فشار تورگر و انتقال مواد در آوند چوبی و تعادل در آب گیاه می‌باشد (Nuolaeny *et al.*, 1996). از طرفی فسفر از عناصر ضروری و پرمصرف و محدودکننده‌ترین عنصر بعد از نیتروژن برای گیاه می‌باشد ولی مقدار این عنصر در خاک اندک می‌باشد (در حد میکرومولار و حتی کمتر)؛ دلایل این امر را می‌توان پیوند شدید یون‌های فسفات غیر آلی با کلوئیدهای خاک و تثبیت آن به فرم فسفات آهن و یا فسفات آلومینیوم که در هر حال باعث عدم تحرک این عنصر می‌گردد، دانست (Kochaki *et al.*, 1995).

مطالعات گذشته نشان داده است که همزیستی میکوریزایی اثرات متفاوتی در جذب عناصر توسط گیاه میزبان دارد. نوع گیاه میزبان و ویژگی‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی آن باعث می‌شود که جذب هر عنصر در آن، با گیاه دیگر متفاوت باشد (Kucey & Janzen, 1987). مدارکی مستند دال بر تأثیر میکوریزا بر جذب پتاسیم توسط گیاهان وجود دارد. نکته حائز اهمیت در این موضوع، این است که pH خاک در موجودیت عناصر معدنی خاک برای گیاهان مهم است و شرایط شدید pH استرس مواد معدنی را ایجاد می‌کند و قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار به‌طور مؤثری تحت استرس مواد معدنی عمل کرده و احتمالاً کسب مواد معدنی در گیاهان رشد کرده بر روی خاک‌های تحت استرس مواد معدنی را افزایش می‌دهد (Blumwald *et al.*, 2000).

مقدار پتاسیم دانه‌های ذرت در شرایط تنش رطوبتی در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ مایکوریزا افزایش یافت (Subramanian & Charest, 1997). تیمار با قارچ مایکوریزا آربوسکولار در افزایش جذب فسفر و پتاسیم تحت شرایط تنش خشکی مؤثر بود؛ به‌طوری که بیشترین مقدار برای این دو عنصر معدنی در تیمار تلقیح با قارچ *Glomus versiformis* بدست آمد. Possingham و Groot Obbink (۱۹۷۱) گزارش کردند که گیاهان میکوریزایی رشد کرده بر روی محلول هوگلند در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزایی دارای غلظت‌های پتاسیم بالاتری در ساقه‌ها بودند.

در بیشتر اوقات گیاهان میکوریزایی با سازوکار فراوانی مانند افزایش سطح جذب، کاهش pH در سطح ریشه و فعالیت زیاد آنزیم فسفاتاز در سطح مسیلیوم‌های قارچ باعث جذب

www.SID.ir

Archive of SID

راحت‌تر فسفر و عملکرد بهتر می‌شوند (Khaladbarin & Eslam-zade, 2001). سورگوم تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا نیز بدون توجه به درجه حرارت کشت داده شده در آن، نسبت به شاهد فسفر بیشتری جذب کرده است (Raju *et al.*, 1990).

گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریزا استفاده بیشتری از فسفر غیرمتحرک خاک می‌برند. این نشان می‌دهد که تولید ریسه‌های برون ریشه‌ای توسط قارچ از یک‌سو و افزایش طول ریشه‌های گیاه از سوی دیگر می‌تواند در جذب فسفر از خاک‌هایی که حتی با کمبود نقش بسزایی داشته و اثرات کمبود را نه تنها کاهش دهد بلکه به کلی از بین ببرد (Bolan, 1991).

محتوی کلروفیل برگ

نتایج برخی از تحقیقات حکایت از تأثیر عوامل تنش‌زا بر مقدار کلروفیل و سبزینگی برگ در شرایط تنش دارد. کلروفیل برگ یکی از مهمترین شاخص‌های نشان‌دهنده فشارهای محیطی است. تنش خشکی سبب هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی و کاهش مقدار کلروفیل a و b، تخریب رنگدانه‌ها و تشکیلات فتوسنتزی می‌گردد (Niakan & Ghorbanli, 2007). در ارزیابی واکنش گندم (Ahmadi & Siuise marde, 2004) و بابونه (Arazmjo *et al.*, 2010) به کمبود آب نیز این روند گزارش شد. از آنجایی که کلروفیل و پرولین هر دو از پیش‌ماده گلوتامات بوجود می‌آیند، در شرایط خشکی میزان پرولین برگ افزایش پیدا می‌کند و شاید یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل، افزایش سنتز پرولین باشد (Rabeie, 2003). Selvaraj و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که محتوای کلروفیل a و b در گیاهان *Pogostemon patchouli* آمیخته شده با قارچ مایکوریزا نسبت به شاهد بالاتر بود. البته بالاتر بودن سطح کلروفیل در گیاهان مایکوریزایی را می‌توان به بالا بودن جذب فسفر به‌عنوان یک حامل انرژی طی فرایند فتوسنتز نسبت داد.

محتوای نسبی آب برگ

شاخصی برای نشان دادن آسیب‌های ناشی از تنش خشکی معرفی شده است. کاهش محتوای رطوبت نسبی (RWC) برگ‌ها از بارزترین علائم فیزیولوژیک کمبود رطوبت خاک می‌باشد (Piotrowska *et al.*, 2009).

کاهش میزان محتوای آب نسبی در شرایط تنش در بسیاری از گیاهان گزارش شده است. در گیاهان رزماری و بادرنجبویه، تنش خشکی، محتوای رطوبت نسبی رزماری را تا ۴۰٪ و بادرنجبویه را تا ۳۰٪ کاهش داد (Parra-Lobato *et al.*, 2009). کاربرد قارچ میکوریزا موجب افزایش محتوای نسبی آب نسبت به تیمار عدم کاربرد قارچ میکوریزا شد. Gong و همکاران (۲۰۰۰) معتقدند که مایکوریزا با تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه گیاه و افزایش سطح تماس ریشه‌ها با خاک، محتوای نسبی آب برگ گیاهان میزبان را بهبود می‌دهند.

به‌طور کلی براساس نتایج بدست‌آمده در این پژوهش، با افزایش شدت تنش خشکی از سطح مطلوب آبیاری تا تنش شدید خشکی، رشد رویشی کاهش یافت. در این پژوهش استفاده از هر سه گونه *G.intraradices* L. ،*G. versiformis* L. و *G. mosseaea* L. نسبت به شاهد (بدون قارچ) مثبت ارزیابی شد، هر چند گونه *G. mosseaea* از عملکرد بهتری برخوردار بود. تجمع یون‌ها یا مولکول‌های آلی در واکوئل سلول‌های برگ تحت تنش خشکی در گیاهان مایکوریزا بیشتر انجام می‌شود و باعث کاهش توان اسمزی سلول‌های برگ می‌گردد. به عبارتی دیگر قارچ مایکوریزا از طریق افزایش طول مؤثر ریشه سبب افزایش جذب عناصر غذایی می‌شود و با تأمین آب و عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم

www.SID.ir

Archive of SID

تحرک فسفر، روی و مس موجب رشد بهتر گیاه می‌شود. تمام این تغییرات موجب تغییر نسبت آب در گیاهان مایکوریزای می‌شود.

سپاسگزاری

لازم می‌دانیم از همکاری صمیمانه همکاران آزمایشگاه تحقیقات گروه زراعت دانشگاه زابل تشکر و قدردانی کنیم.

منابع مورد استفاده

- Ahmadi, A. and Siuise marde, S., 2004. Effects of water stress on soluble carbohydrates, chlorophyll and proline in wheat cultivars adapted to different climatic conditions of Iran. Iran Agricultural Sciences, 35(3): 753-763.
- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y. and Sakuratani, T., 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mung bean subjected to water logging. Journal Plant Science, 163: 117-123.
- Aliabadi Farahani, H., Valadabadi, S.A., Daneshian, J. and Khalvati, M.A., 2009. Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. Journal of Medicinal Plant Research, 3: 329-333.
- Amirideh ahmadi, S., Rezvani moghadam, P. and Ahyaei, H., 2012. Effects of drought stress on some morphological traits and yield of three medicinal plants (*Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare* and *Anethum graveolens*) in a greenhouse. Iranian Journal of Field Crop Research, 10: 126-116.
- Arazmjo, A., Hedari, M., Ghanbari, A., Siasar, B. and Ahmadian, A., 2010. The effect of three types of fertilizers on essential oil, chamomile under drought stress on photosynthetic pigments and osmotic adjustment. Environmental Stresses in Crop Sciences, 3(1): 23-33.
- Auge, R.M., 2000. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plant: 201-237. In: Kapulnik, Y. and Douds, D.D., (Eds.). Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 365p.
- Babaie, K., Amini, A., Modares Sanavi, A. and Gabari, R., 2010. Effect of drought stress on morphological characteristics, amount proline and percent thymol (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251.
- Bandurska, H. and Jozwiak, W., 2010. A comparison of the effects of drought on proline accumulation and peroxidases activity in leaves of *Festuca rubra* L. and *Lolium perenn*e L. Department of Plant Physiology, 79(2): 111-116.
- Barker, D.J., Sulivan, C.Y. and Moser, R.C., 1993. Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity, and proline in five forage grasses. Agronomy Journal, 85: 270-275.
- Belitz, A.R. and Sams, C.E., 2007. The effect ofpopulation density on growth, yield, & flavonolignan content in milk thistle (*Silybum marianum*). Acta Horticulture, 756: 251-257.
- Blumwald, E., Aharon, G.S. and Apse. M.P., 2000. Sodium transport in plant cells. Biochemical and Biophysica Acta, 1465: 140-151
- Bolan, N.S., 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant and Soil, 134: 189-207.
- Bryla, D.R. and Duniway, J.M., 1997. The influence of the mycorrhiza Glomus etunicatum on drought acclimation in safflower and wheat. Plant and Soil, 104: 87-96.
- Chabak, B., 1996. Assess the physiological indexes of drought resistance in white peas. Master's thesis, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Karaj.
- Diedderichs, C., 1990. Improved growth of (*Cajanus cajan*) millps. In anusterile tropical soil by three mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 123: 261-266.
- Emami, A., 1996. Analytical methods for plant analyses. Soil & Water Research Institute, Research Department, Agricultural Education & Development, Iran, Technical Report, 1: 147-153.
- Gadkar, V., David-Schwartz, R., Kunik, T. and Kapulnik, Y., 2001. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition. Plant Physiology, 127: 1493-1499.
- Giri, M.L. Prasad, A., Ram, M. and Kumar, S., 2003. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus Glomus fasiculatum 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 Technology, 81: 77-79.
- Ghorbanli, M. and Niakan, M., 2005. Effects of water stress on soluble sugars, protein, proline, phenolic

www.SID.ir

Archive of SID

- Lobato, A.K.S., Oliveira Neto, C.F., Santos Filho, B.G., Costa, R.C.L., Cruz, F.J.R., Neves, H.K.B. and Lopes, M.J.S., 2008. Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max* cv. *sambaiba*) plants under water deficit. Australian Journal Crop Science, 2: 25-32.
- Lutts, S.J., Kint, M. and Bouharmont, J., 1996. Effect of various salts and mannitol onion and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice callus cultures. Journal of Plant Physiology, 149: 186-195.
- Maggio, A.M., Christopher, J., Voil, P. and Hammer, G.L., 2001. The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited environments. Functional Plant Biology, 33: 823–837.
- Mishra, S. and Dubey, R.S., 2006. Heavy metal uptake and detoxification mechanisms in plants. International Journal of Agricultural Research, 1(2): 122-141.
- Mohammad, M.J. Malkawi, H.I. and Shibli, R., 2003. Effect of arbuscular mycorrhiza fungi and phosphorus fertilization on growth and nutrient uptake of barely grown on soils with different levels of salt. Journal of plant nutrition, 26(1): 125-137
- Munne-Bosch, S. and Alegre, L., 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plants survival under drought stress. Functional Plant Biology, 31(3): 203-216.
- Niakan, M. and Ghorbanli, M., 2007. Effects of water stress on growth indices, factors in photosynthesis, protein and ion content in aerial and underground parts of two soybean cultivars. Rostaniha, 8: 17-29.
- Nuolaeny, N., Marschner, H. and George, E., 1996. Effects of liming and Mycorrhizal colonization on soil phosphate depletion and phosphate uptake by maize (*Zea mays*) and soybean (clycine max) grow in two trapical acid soil. Plant and Soil, 181: 275-285.
- Ortus, I. and Harris, P.J., 1996. Enhancment uptak of phosphorus by mycorrhizal sorgohum plant as in fluenced by forms of nitrogen. Plant and Soil, 184: 225-264
- Paknezhad, F., 2005. Effects of water stress on indices, physiological function and yield components of wheat cultivars. Thesis Ph.D., Islamic Azad University, Science and Research.
- Panwar, J.D.S., 1993. Response of VAM & azospirillum inoculation to water status & grain yield in wheat under water stress conditions. Indian Journal of Plant Physiology, 36: 41-43.
compounds & nitrate reductase activity of soybean Gorgan 3. Journal of Science (Kharazmi University), 2: 537-550.
- Gong, Q., Xu, D., Zhong, C. and Dale, R., 2000. Study on biodiversity of mycorrhiza and its application. Chinese Forest Press, Beijing, 14-49.
- Hasani, A., 2006. The effect of water stress on growth, yield and essential oil of Badrashbu. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(3): 256-261.
- Karimzadeh, G., Omidbaigi, R. and Bakhshi, D., 2001. Influence of irrigation & row spacing on the growth, seed yield & active substances of milk thistle (*Silybum marianum*). International Journal of Horticultural Science, 7: 78-81.
- Khaladbarin, B. and Eslam-zade, T., 2001. Mineral Nutrition of Higher Plants (Translation). Shiraz University Press, 432p.
- Kochaki, A., Rashed, M.H., Nasiri, M. and Sadr Abadi, R., 1995. Principles of Physiological Growth and Development of Crops (Translation). Imam Reza University Press, Mashhad, 404p.
- Kothamasi, D., Chander kuhad, R. and Babu, C.R., 2001. Arbuscular mycorrhiza in plant survival strategies. Tropical Ecology, 42(1): 1-13.
- Kristek, S., Kristek, A. and Pavlovic, H., 2005. The influence of mycorrhizal fungi (*Glomus* sp.) on field pea plant survival and growth in drought caused stress conditions. Plant, Soil and Environment, 51: 385-389.
- Kucey, R.M.N. and Janzen, H.H., 1987. Effects of VAM and reduced nutrient availability on growth and phosphorus and micronutrient uptake of wheat and field beans under greenhouse conditions. Plant and Soil, 104: 71-78.
- Kumar Kalla, P., Chitti, S., Aghamirzaei, S.T., Senthilkumar, R. and Arjunan, S., 2014. Anti-cancer activity of silymarin on MCF-7 & NCIH-23 cell lines. Advance in Biological Research, 8: 57-61.
- Lebaschi, M.H. and Shariphi-Ashorabadi, A., 2004. Indexes Growth of some species of medicinal plants in various conditions of water stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 20(3): 249-261.
- Levitt, J., 1980. Response of Plants to Environmental Stresses (Vol. 2): Water, Radiation, Salt and Other Stresses. Academic Press, New York, 650p.
- Liu, T., Sheng, M., Wang, C.Y., Chen, H., Li, Z. and Tang, M., 2015. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, water status, and photosynthesis of hybrid poplar under drought stress and recovery. Photosynthetica, 53(2): 250-258.

www.SID.ir

Archive of SID

- Selvaraj, T., Mathan, C. and Rajeshkumar, N.C., 2009. Effect of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi on some growth parameters and phytochemical constituents of *Pogostemon patchouli* Pellet. Maejo International Journal Science Technology, 3(10): 222-234.
- Shi, M., Kwok, K.W. and Wu, J.Y., 2007. Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* Bunge (red or Chinese sage) hairyroot culture by hyperosmotic stress & yeast elicitor. Biotechnology and Applied Biochemistry, 46: 191-196.
- Shirani, F.J., De Ander, E.F., Tenorio, J.L. and Ayerbe, L., 2000. Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum*) subjected to water stress. Field Crops Research, 86: 81-90.
- Soltanian, M. and Tadayyon, A., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on some agronomiccharacteristics of linseed (*Linum ussitatissimum* L.) under droughtstress in Shahrekord region. Journal of Plant Production Research, 5(15): 147-156.
- Song, H., 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress & its Mechanisms. Electronic Journal of Biology, 1(3): 44-48.
- Subramanian, K.S. and Charest, C., 1997. Nutritional, growth & reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during & after drought stress at tasselling. Mycorrhiza, 7: 25-32.
- Topp, G.G. and Davies, J.L., 1985. Time domain reflectometry (TDR) & its application to irrigationscheduling. Advances in Irrigation, 3: 107-127.
- Turtola, S., Manninen, A., Rikala, R. and Kainulainen, P., 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in scots pine & Norway spruce seedling. Journal of Chemical Ecology, 29: 1981-1995.
- Zabet, M., Hosein zade, A.H., Ahmadi, A. and Khialparast, F., 2003. Effect of water stress on different traits and determination of the best water stress index in mung bean (*Vigna radiata*). Iranian Journal Agriculture Science, 34: 889-898.
- Parra-Lobato, M.C., Fernandez-Garcia, N., Olmos, E., Alvares-Tinaut, M. and GomezJimenez, C., 2009. Methyl jasmonate-induced antioxidant defence in root apoplast from sunflower seedlings. Environmental and Experimental Botany, 66: 9-17.
- Perry, D.A., 1991. Methodology and Application of Vigour Tests. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland, 275p.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., GodlewskaZylkiewicz, B. and Czerpak, R., 2009. Jasmonic acid modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). Environmental and Experimental Botany, 66: 507-513.
- Pirzad, A., Alyari, H., Shakiba, M.R., Zehtab Salmasi, S. and Mohammadi, A., 2006. Essential oil content & composition of German chamomile (*Matriciria chamomilla* L.) at different irrigation regimes. Agronomy Journal, 5: 451-455.
- Porcel, R., Barea, J.M. and Ruiz-Lozano, J.M., 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, & oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. Journal of Experimental Botany, 55: 1743-1750.
- Possingham, J.V. and Groot Obbink, J., 1971. Endotrophic mycorrhiza and the nutrition of grape vines. Vitis 10: 120-130.
- Prochazka, S., Machaackova, I., Kreekule, J. and Sebanek, J., 1998. Plant Physiology. Academia, Praha, 484p.
- Rabeie, V., 2003. Responses physiological and morphological some grape varieties to drought stress. Ph.D Thesis Horticultural.
- Raju P.S., Clark, R.B., Ellis, J.R. and Maranville, J.W., 1990. Effects of species of VAmycorrhizal fungi on growth and mineral uptake of sorghum at different temperatures. Plant and Soil, 121: 165-170.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161(11): 1189-1202.
- Ruiz-Lozano, J.M., 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis & alleviation of osmotic stress, new perspectives for molecular studies. Mycorrhiza, 13: 309-317.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of mycorrhizal fungi on some morphological & physiological charactristics of Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) under drought stress

A. Mazaraie[1], A.R. Sirousmehr[2*] and Z. Babaei[1]

1- MSc. student, Department of Agronomy, Zabol University, Zabol, Iran
2*- Corresponding author, Department of Agronomy, Zabol University, Zabol, Iran, E-mail: asirousmehr@uoz.ac.ir

Received: November 2016 Revised: July 2017 Accepted: July 2017

Abstract

Drought stress, temporally or permanently, is a more limiting factor in growth and distribution of vegetation cover than other environmental factors. In order to study the effects of vesicular arbuscular mycorrhizal and drought stress on growth and yield of Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), a pot experiment was performed as factorial based on completely randomized design in three replications in the research greenhouse of Chahnimeh at the University of Zabol. Drought stress consisted of two levels including %60 and %30 of field capacity and full irrigation as control treatment. Three mycorrhizal fungi including *Glomus mosseae*, *Glomus versiformis*, and *Glomus intraradices* were investigated. The results showed that after starting of drought stress, vegetative characteristics such as number of capituls, number of seeds in capitul, 1000 seeds weight, leaf number and area, root length, number of minor branches, plant height, and dry weight of leaf, stem and root, significantly decreased with increasing drought stress. RWC of leaf was intensely affected by drought and decreased from 77.3 in control treatment to 57.01 in 30% of field capacity irrigation treatment. In addition, with increasing drought stress, the amount of phosphorus in leaves decreased and the amount of potassium increased. Osmotic adjustment in Milk thistle was increased in response to drought stress and leaf proline content increased (the highest 0.13 mg/g tissue in 30% of field capacity treatment); however, silimarin content decreased from 16.35 in full irrigation to 10.24 in 30% of field capacity treatment. Inoculation with VAM significantly increased vegetative indices, silimarin content (the highest in *G. mosseae* application and the lowest in control), plant RWC, and leaf content of P and K under drought stress conditions compared to uninoculated plants; however, the leaf proline content was low. In general, application of mycorrhizae fungi increased drought stress resistance in Milk thistle.

Keywords: Proline, silimarin, phosphorus, capitul, herbal plant, mycorrhiza.

www.SID.ir