تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۶
۳۱۹-۳۲۹
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2017.587

تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* جهت کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاه ذرت (*Zea mays* L.)

محمد آقابابایان نجف‌آبادی[1]، مژگان سپهری[2*]

۱. فارغ‌التحصیل مهندسی علوم خاک (کارشناسی ارشد)، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. استادیار بخش مهندسی علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۳/۰۱

چکیده

شوری از تنش‌های محیطی است که تولید موفقیت‌آمیز محصولات زراعی را به‌خصوص در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک کره زمین به مخاطره انداخته است. قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* دارای خاصیت شدید تحریک‌کنندگی رشد گیاه و افزایش مقاومت آن به تنش‌های محیطی ازجمله شوری می‌باشد. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر قارچ *P. indica* بر کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاه ذرت انجام پذیرفت. بدین منظور آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل دو فاکتور، یکی شوری در سه سطح (۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و دیگری تلقیح قارچی در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) در بستر حاوی مخلوط شن و پرلیت استریل (نسبت حجمی شن به پرلیت :۲/۱) انجام شد. نتایج بیانگر آن بود که در شرایط تنش شدید شوری (۳۰۰mM NaCl)، وزن خشک اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* حدود ۹۰٪ بیشتر از گیاهان شاهد فاقد آلودگی قارچی بود. مقدار فسفر اندام هوایی گیاهان دارای رابطه همزیستی با قارچ در سطوح ۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، به ترتیب ۹٪ و ۱۲٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود. همچنین، بیشترین مقدار فسفر ریشه متعلق به گیاهان تلقیح شده و رشد یافته در شرایط تنش شدید شوری مشاهده شد. مقدار سدیم موجود در برگ گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* که توانایی بیشتری در تحمل شوری نشان دادند، نسبت به گیاهان شاهد کمتر بود. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار سدیم ریشه حاکی از افزایش مقدار این یون در ریشه گیاهان تلقیح‌شده نسبت به گیاهان شاهد بود. افزایش شوری برخلاف غلظت پتاسیم در ریشه گیاهان شد. محاسبه نسبت K^+/Na^+ نشان‌دهنده کاهش این نسبت در تمام تیمارها به‌جز در اندام هوایی گیاهان تلقیح یافته با قارچ بود. نسبت بالای K^+/Na^+ در اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان شاهد فاقد تلقیح قارچی در سطوح مختلف تنش، تأییدکننده متحمل بودن برگ‌های این گیاهان نسبت به شوری است.

***واژه‌های کلیدی*: شوری، شاخص‌های فیزیولوژیک گیاهی، *Piriformospora indica*.**

مقدمه

شوری ازجمله شایع‌ترین تنش‌های محیطی است که تولید محصولات زراعی را با مشکل مواجه می‌سازد. طبق آمار موجود از ۸/۱ میلیون هکتار از اراضی قابل‌کشت ایران، حدود ۴/۰۵ میلیون هکتار از آن‌ها به درجات مختلف به شوری مبتلا هستند (Afyuni et al., 2002). شوری به دلیل اثر کاهشی بر طول مدت حیات برگ‌ها، از عوامل مهم محدودکننده رشد و عملکرد گیاه به شمار می‌آید (Hasegawa et al., 2000). تجمع یون سدیم حاصل از تنش شوری علاوه بر ایجاد نکروز در برگ‌های مسن، دارای اثر بازدارندگی بر جذب سایر عناصر غذایی (ازجمله فسفر، آهن و روی) است که منجر به بروز دامنه‌ای از مشکلات اسمزی و متابولیک برای گیاه می‌شود (Munns et al., 2008). تنش شوری موجب بروز تنش

* نگارنده پاسخگو: مژگان سپهری. پست الکترونیک: m.sepehri@shirazu.ac.ir.

اکسیداتیو و درنتیجه تجمع گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن[1] در گیاه و درنتیجه آسیب به ساختار سلول، اسیدهای نوکلئیک، چربی‌ها و پروتئین‌ها می‌شود (Valko et al., 2006).

ذرت به‌عنوان یکی از غلات مهم در تغذیه انسان، پس از گندم و برنج بیشترین سطح زیرکشت را در بین غلات به خود اختصاص داده است (Khodabandeh, 2003). این گیاه نسبت به سایر گیاهان زراعی حساسیت زیادی به تنش‌های محیطی ازجمله شوری، خشکی و شرایط غرقابی خاک دارد و ازنظر حساسیت به شوری، ذرت جزء گیاهان نسبتاً حساس به شوری است (Mass, 1986). پژوهش‌های زیادی در زمینه اثرات سوء تنش شوری بر گیاهان مختلف زراعی ازجمله ذرت انجام شده است (Blanco et al., 2007, Hussein et al., 2007, Summer et al., 2004). منصور و همکاران (Mansour et al., 2005) اثر شوری بر شاخص‌های رشد گیاه و غلظت عناصر غذایی، گلیسین بتائین و پرولین اندام هوایی دو رقم ذرت حساس و مقام به شوری را در محیط کشت محلول ارزیابی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که شوری موجب کاهش وزن تر، سرعت رشد نسبی اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و غلظت عناصر پتاسیم و کلسیم ولی افزایش تجمع گلیسین بتائین و پرولین در هر دو رقم ذرت شد. آن‌ها همچنین گزارش نمودند که میزان کاهش و یا افزایش هر یک از این صفات در رقم حساس تقریباً دو برابر رقم مقاوم بود.

گیاهان از طریق مکانیسم‌های متعدد شامل کاهش فشار اسمزی ناشی از متعادل کردن غلظت یون‌ها، تغییر یون‌های مضر به ترکیبات سازگار یا بی‌اثر، تولید آنزیم‌های آنتی-اکسیدان، تولید هورمون‌های گیاهی و تغییر در مسیر فتوسنتز در برابر اثرات نامطلوب شوری از خود مقاومت نشان می‌دهند (Parida et al., 2005) . تأثیر ریزجانداران ریزوسفری شامل باکتری‌ها و قارچ‌ها در بهبود تغذیه گیاه و کنترل عوامل تنش-زای محیطی بسیار موردتوجه محققان گرفته است (Mayak, 2004, Rodriguez et al., 2009). نتایج مطالعات متعدد به نقش مؤثر قارچ‌های اندوفیت مانند قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار در افزایش سازگاری گیاهان میزبان مختلف به تنش‌های محیطی غیرزیستی (خشکی، شوری، فلزات سنگین، گرما و ...) و زیستی (آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی) اشاره نموده‌اند. محققان زیادی تأثیر قارچ آربسکولار میکوریزا (AM)[2] در افزایش رشد و عملکرد گیاهان مختلف در شرایط تنش شوری را گزارش کرده‌اند (Al-Karaki, 2000; Giri et al., 2004; Kumari et al., 2003; Singh et al., 2000; Waller, 2005).

قارچ *Piriformospora indica* از قارچ‌های مهم اندوفیت است که توسط وارما و همکاران (Varma et al., 2001) از ریشه دو گیاه خشکی‌دوست گز (*Prosopis juliflora*) و کنار (*Zizyphus numularia*) کشف شد. این قارچ که برخلاف قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM) همزیست اختیاری است و بر روی محیط‌های کشت مصنوعی قادر به رشد است، متعلق به رده بازیدیومیست‌ها و راسته هایمنومیست (Hymenomycete) است. قارچ *P. indica* نیز مانند قارچ‌های AM از دامنه میزبانی وسیعی برخوردار است و نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاهان میزبان مختلف به تنش‌های محیطی مختلف ازجمله شوری دارد. سپهری و همکاران (Sepehri et al., 2009) افزایش مقاومت سیستماتیک گیاه جو تلقیح شده با *P. indica* به تنش شوری را نسبت به گیاه شاهد فاقد آلودگی قارچی را گزارش کردند. زارعا و همکاران (Zarea et al., 2013) با مطالعه‌ای در گیاه گندم تلقیح یافته با قارچ *P. indica* در شرایط تنش شوری به این نتیجه دست یافتند که قارچ مذکور با افزایش محتوای آب نسبی برگ‌ها در اثر تجمع ترکیبات اسمزی سازگار آلی و افزایش محتوای کلروفیل برگ، موجب افزایش وزن زیتوده گندم در چنین شرایطی شد. والر و همکاران (Waller et al., 2005) افزایش رشد و مقاومت گیاه جو به تنش‌های شوری و بیماری فوزاریوم را در اثر تلقیح گیاه با *P. indica* گزارش نمودند.

مشاهده تأثیر ریزجانداران مفید خاکزی از جمله قارچ-های اندوفیت در افزایش رشد و عملکرد گیاه در شرایط نامساعد محیطی ازجمله شوری از یک طرف و وجود بحران تنش شوری در بخش وسیعی از اراضی زیرکشت محصولات زراعی مهم از قبیل ذرت، گندم و جو از طرف دیگر سبب گردید تا در این پژوهش، توان قارچ اندوفیت *P. indica* در افزایش مقاومت گیاه ذرت به تنش شوری مورد ارزیابی قرار گیرد.

[1]. Reactive Oxygen Species (ROS)

[1]. Arbuscular Mycorrhiza

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه پژوهشی مرکز تحقیقات کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل انجام گرفت. فاکتورهای مورد آزمایش شامل ۲ سطح قارچ (تلقیح و عدم تلقیح) و ۳ سطح شوری (۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بودند.

کشت و تهیه مایه تلقیح قارچ P. indica

جدایه قارچ *P. indica* در تعداد کافی پتری دیش محتوی محیط کشت پیچیده[1] کشت و به مدت چهار هفته در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور نگهداری شد. پس از اتمام این مدت، اسپورهای قارچی با استفاده از محلول آب-توئین (۲۰/lμ) و با کمک پاروی پلاستیکی جمع‌آوری شدند و پس از انجام مراحل سانتریفوژ و انحلال طی سه مرتبه، تعداد آن‌ها با استفاده از لام نئوبار در حدود ۵×۱۰^{۶} در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح تنظیم شد.

کشت گیاه، اعمال تنش شوری و برداشت گیاه

ابتدا بذرهای ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ پس از ضدعفونی با الکل ۹۵٪ (۳۰ ثانیه) و هیپوکلریت سدیم ۷٪ (۵-۳ دقیقه) در پتری دیش‌های حاوی آب-آگار (۲٪) جوانه‌دار شدند. بذرهای ذرت پس از جوانه‌دار شدن به مدت ۳ ساعت به‌صورت غوطه‌ور در مایه تلقیح قارچ بر روی به هم زن دورانی (شیکر) تکان داده شدند. همچنین به منظور یکنواخت بودن شرایط آزمایش، بذرهای جوانه‌دار شده بدون تلقیح قارچ نیز به مدت ۳ ساعت درون محلول آب-توئین استریل (۲۰/lμ) تکان داده شدند (Pham et al., 2004). سپس بذرها درون گلدان‌های ۷ کیلوگرمی حاوی بستر ماسه رودخانه‌ای و پرلیت استریل به نسبت ۲:۱ کشت شدند و در طی دوره کشت با محلول غذایی جانسون آبیاری شدند. اعمال تنش شوری با استفاده از محلول ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و پس از ۱۰ روز از کاشت گیاهان انجام گرفت، بدین‌صورت که جهت جلوگیری از شوک ناگهانی ناشی از اثرات اسمزی مربوط به شوری، اعمال تنش به‌صورت تدریجی و در طی یک هفته صورت پذیرفت.

برداشت گیاهان پس از گذشت حدود ۸ هفته از اعمال تنش شوری انجام شد. بدین‌صورت که اندام هوایی از محل طوقه قطع و وزن تر آن محاسبه گردید. همچنین نمونه‌برداری از ریشه گیاه انجام شد و وزن خشک نمونه‌های ریشه و اندام هوایی گیاهان پس از قرار گرفتن در آون (دمای ۶۵ تا ۸۰ درجه‌سانتیگراد) به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. پس از آسیاب نمودن و عصاره‌گیری از نمونه‌های برداشت‌شده، غلظت فسفر گیاه با دستگاه طیف‌سنج مدل PD-303 و میزان سدیم و پتاسیم اندام هوایی و ریشه با دستگاه فلیم‌فتومتر مدل Corning-410 تعیین شد. تجزیه تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار Statistix 8 صورت پذیرفت. مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها نیز از طریق آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

تعیین میزان کلونیزاسیون قارچ P. indica

جهت رنگ‌آمیزی و بررسی کلونیزاسیون ریشه از روش کورمانیک و مک‌گرو (Kormanik and McGraw, 1982) استفاده شد. ریشه‌های نازک موجود در هر نمونه پس از شستشو با آب، در محلول KOH ۱۰٪ به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس، ۵-۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو و به مدت حداقل ۱۵ دقیقه در محلول HCL ۲٪ قرار داده شدند. قطعات ریشه اسیدی شده بدون شستشو با آب، در محلول رنگی شامل اسید فوشین و مخلوط اسیدلاکتیک-گلیسرول-آب (به نسبت ۱:۱:۱۴) به نسبت ۱:۱ به مدت ۶-۱۲ ساعت رنگ‌آمیزی شدند. سپس تعدادی از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری موردمطالعه قرار گرفتند و بر اساس فرمول زیر درصد کلونیزاسیون محاسبه گردید:

$$\text{درصد کلونیزاسیون} = \frac{\text{تعداد قطعات ریشه آلوده شده به قارچ}}{\text{تعداد کل قطعات ریشه مطالعه شده}} \times ۱۰۰$$

نتایج و بحث

بررسی کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ Piriformospora indica

مطالعات میکروسکوپی صورت گرفته بر روی ریشه گیاهان تلقیح شده با اسپورهای قارچ *P. indica* حاکی از توان بالای این قارچ در کلونیزاسیون ریشه گیاهان میزبان

[1]. Complex medium

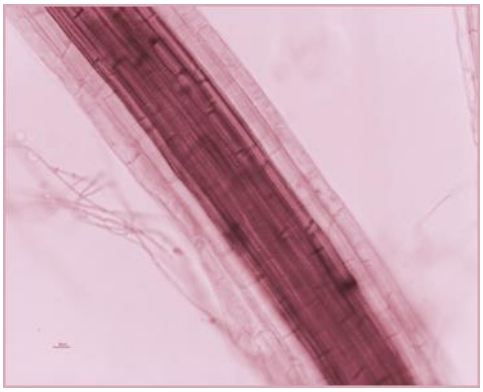
مورد آزمایش بود، به‌طوری‌که انبوهی از هیف‌های برون ریشه‌ای حاصل از تندش اسپورهای قارچ در سطح خارجی و بخش کورتکس ریشه‌ها مشاهده گردید (شکل ۱).

بررسی اثر تلقیح ذرت با قارچ *Piriformospora indica* در شرایط تنش شوری

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای مورد آزمایش شامل قارچ و شوری بر تمام صفات موردراندازه‌گیری معنی‌دار بود. اثر متقابل این تیمارها تنها بر میزان پتاسیم اندام هوایی معنی‌دار نبود (جدول ۱).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

تلقیح گیاه ذرت با قارچ در شرایط رشدی بهینه ازنظر شوری (شرایط نرمال)، موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه به ترتیب به میزان ۱۵/۶٪ و ۱۵٪ نسبت به گیاهان شاهد فاقد آلودگی قارچی شد (شکل ۲ و ۳). نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که در سطوح شوری ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، وزن خشک اندام هوایی گیاهان موردمطالعه (تلقیح شده با قارچ و شاهد) اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. تلقیح قارچ *P. indica* سبب شد تا در شرایط اعمال تنش شدید شوری (۳۰۰mM NaCl)، وزن خشک اندام هوایی ۹۰٪ بیشتر از گیاهان شاهد فاقد آلودگی قارچی گردد؛ اما در چنین شرایطی، وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* به میزان ۳۶٪ کمتر از گیاهان شاهد بود (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۱. هیف‌های قارچی موجود در سطح خارجی ریشه و فضاهای برون سلولی کورتکس ریشه.

Fig. 1. Fungal hyphae over the surface of the root and extracellular spaces of the root cortex.

جدول ۱. تجزیه واریانس ویژگی‌های بخش هوایی گیاه ذرت.

Table 1. Analysis of variance (ANOVA) for characteristics of shoot part of corn plant.

منابع تغییرات Sources of variation		درجه آزادی Degree of Freedom	وزن خشک Dry Weight	فسفر Phosphorus	پتاسیم Potassium	سدیم Sodium	نسبت پتاسیم به سدیم K^+/Na^+ Ratio
قارچ	(Fungus)	1	0.67^{**}	0.18^{**}	72.07^{**}	172.52^{**}	0.32^{**}
شوری	(Salinity)	4	21.38^{**}	1.94^{**}	325.43^{**}	750.88^{**}	2.76^{**}
قارچ×شوری	(S*F)	4	0.90^{**}	0.34^{**}	$2.84^{n.s}$	175.54^{**}	0.37^{**}
خطای آزمایش	Error	30	0.05	0.02	1.161	0.21	0.0003
ضریب تغییرات	C.V.		5.49	4.34	3.87	4.3	3.47

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد وn.s: غیر معنی‌دار.

**, *: Significant at the 0.01 and 0.05 levels, respectively and n.s: not significant.

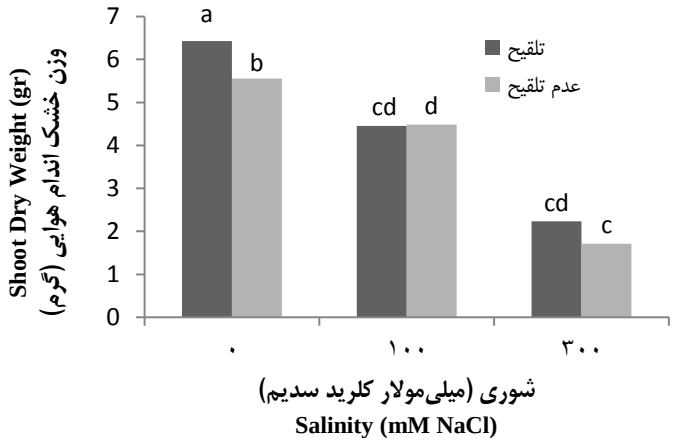
جدول ۲. تجزیه واریانس ویژگی‌های ریشه گیاه ذرت.

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) for characteristics of root part of corn plant.

منابع تغییرات Sources of variation		درجه آزادی d.f	وزن خشک Dry Weight	فسفر Phosphorus	پتاسیم Potassium	سدیم Sodium	نسبت پتاسیم به سدیم K^+/Na^+ Ratio
قارچ	(Fungus)	1	0.32^{**}	$0.10^{n.s}$	9.85^{**}	42.58^{**}	1.46^{**}
شوری	(Salinity)	4	17.31^{**}	0.31^{**}	36.37^{**}	523.16^{**}	45.78^{**}
قارچ×شوری	(S*F)	4	0.40^{**}	0.09^{*}	1.75^{**}	8.73^{**}	0.67^{**}
خطای آزمایش	Error	30	0.16	0.25	0.06	1.41	0.07
ضریب تغییرات	C.V.		4.19	6.87	3.87	5.54	6.36

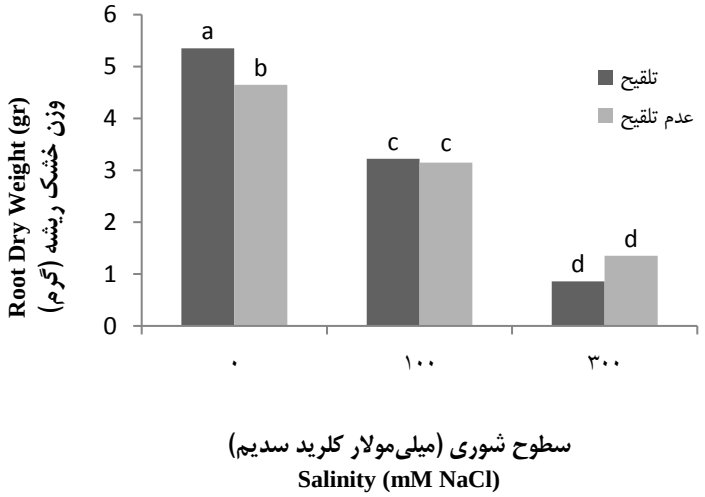
** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و n.s: غیر معنی‌دار.

**, *: significant at the 0.01 and 0.05 levels, respectively and n.s: not significant.



شکل ۲ . اثر قارچ *P. indica* بر وزن خشک اندام هوایی در سطوح مختلف شوری.

Fig. 2. The effect of *P. indica* on shoot dry weight at different levels of salinity.



شکل ۳. اثر قارچ *P. indica* بر وزن خشک ریشه در سطوح مختلف شوری.

Fig. 3. The effect of *P. indica* on root dry weight at different levels of salinity.

افزایش سطح تنش شوری موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ *P.indica* شد، اما مقدار این کاهش در گیاهان تلقیح شده کمتر از گیاهان شاهد بود. این مطلب بیانگر اثر مثبت این قارچ بر گیاهان تحت تنش شوری می‌باشد، به‌طوری‌که با افزایش شوری از سطح ۱۰۰ به ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، وزن خشک اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ ۵۰٪ کاهش یافت، اما کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاهان شاهد حدود ۶۲٪ بود. مطابق شکل ۳، وزن خشک ریشه گیاهان شاهد در شرایط شدید شوری بیشتر از گیاهان تلقیح یافته با قارچ گردید.

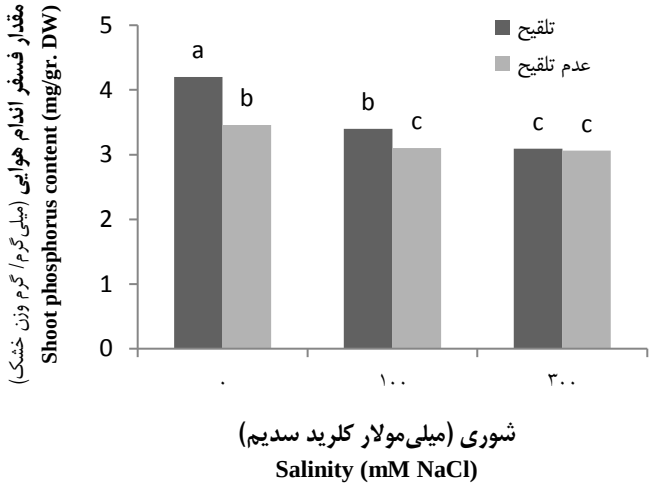
مقدار فسفر اندام هوایی و ریشه

نتایج مربوط به میزان فسفر اندام هوایی گیاهان موردمطالعه نشان می‌دهد که با افزایش شوری میزان این عنصر در گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ *P. indica* کاهش یافت (شکل ۴). مقدار فسفر اندام هوایی گیاهان تلقیح شده در شرایط عدم تنش شوری و سطح متوسط شوری، تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نشان داد، اما در شرایط شوری شدید، اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید. مقدار فسفر اندام هوایی گیاهان دارای رابطه همزیستی با قارچ *P. indica* در سطوح ۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، به ترتیب ۸/۵٪ و ۱۲٪ بیشتر از گیاهان شاهد فاقد تلقیح میکروبی گزارش گردید. بیشترین مقدار فسفر شاخساره مربوط به گیاهان تلقیح شده با قارچ و در شرایط بهینه رشد (0 mM NaCl) بود (شکل ۴).

نتایج به‌دست‌آمده بیانگر آن است که در شرایط فقدان تنش شوری، مقدار فسفر ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد می‌باشد؛ اما در شرایط تنش شوری اگرچه مقدار فسفر ریشه گیاهان تلقیح یافته با قارچ بیشتر از گیاهان شاهد است، اما ازنظر آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. بیشترین مقدار فسفر ریشه متعلق به گیاهان تلقیح شده و رشد یافته در شرایط تنش شدید شوری می‌باشد. اختلاف مقدار فسفر ریشه گیاهان آلوده به قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان شاهد فاقد آلودگی قارچی در سطوح ۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب حدود ۱۵٪، ۹٪ و ۸٪ است (شکل ۵).

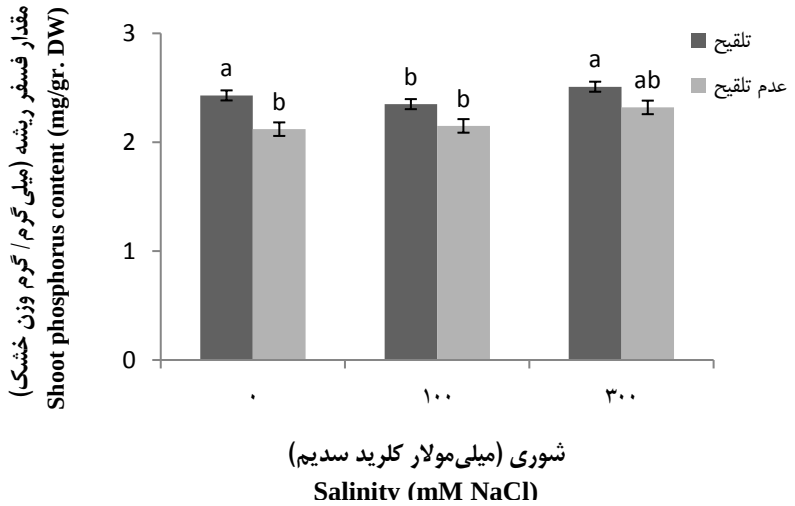
غلظت سدیم اندام هوایی و ریشه

نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده آن است که همگام با افزایش شوری، غلظت سدیم اندام هوایی گیاهان موردمطالعه افزایش می‌یابد. علیرغم عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین غلظت سدیم اندام هوایی گیاهان شاهد و تلقیح شده در شرایط بهینه رشد (0 mM NaCl)، اختلاف این تیمارها در شرایط تنش شوری معنی‌دار می‌باشد. بدین‌صورت که غلظت سدیم اندام هوایی گیاهان شاهد فاقد تلقیح در سطوح ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب حدود ۱۶٪ و ۱۳۰٪ بیشتر از گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* است (جدول ۳).



شکل ۴. اثر قارچ *P. indica* بر میزان فسفر اندام هوایی در سطوح مختلف شوری.

Fig. 4. The effect of *P. indica* on phosphorus content of shoot at different levels of salinity.



شکل ۵. اثر قارچ *P. indica* بر میزان فسفر ریشه در سطوح مختلف شوری.

Fig. 5. The effect of *P. indica* on phosphorus content of root at different levels of salinity.

نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار غلظت سدیم ریشه گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ *P. indica* در شرایط عدم تنش شوری می‌باشد. اعمال تنش شوری در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم موجب افزایش قابل‌توجه غلظت سدیم ریشه گیاهان شاهد و تلقیح یافته با قارچ *P. indica* شد؛ اما در چنین شرایطی، غلظت سدیم موجود در ریشه این گیاهان اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. افزایش مقدار شوری از سطح ۱۰۰ به ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم، افزایش غیرمعنی‌دار مقدار سدیم ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ را در پی داشت؛ اما در چنین شرایطی، مقدار سدیم ریشه گیاهان شاهد به‌صورت معنی‌دار، حدود ۹/۵٪ کاهش یافت. همچنین مقدار سدیم ریشه گیاهان تلقیح یافته با قارچ در تنش شدید شوری نسبت به گیاهان شاهد نیز حدود ۱۲/۵٪ بیشتر گزارش گردید.

غلظت پتاسیم اندام هوایی و ریشه

غلظت پتاسیم اندام هوایی گیاهان شاهد (عدم تلقیح میکروبی) در شرایط بهینه رشد (شرایط عدم تنش) کمتر از گیاهان تلقیح یافته با قارچ *P. indica* بود. اعمال تنش شوری به مقدار ۱۰۰ mM NaCl غلظت پتاسیم اندام هوایی گیاهان موردمطالعه (شاهد و تلقیح شده) را افزایش داد، به‌طوری‌که این مقدار افزایش در گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ *P. indica* به ترتیب ۲۰ و ۱۴ درصد بود. افزایش شوری از سطح متوسط به شدید موجب شد تا غلظت پتاسیم اندام هوایی گیاهان شاهد و دارای رابطه همزیستی با قارچ *P. indica* به ترتیب ۴۶/۶٪ و ۴۳/۲٪ کاهش یابد. لازم به ذکر است که در شرایط تنش شدید شوری، بین گیاهان شاهد و تلقیح یافته اختلاف معنی‌داری ازنظر غلظت پتاسیم اندام هوایی وجود ندارد (جدول ۳).

مطابق شکل شماره ۵، غلظت پتاسیم ریشه گیاهان شاهد فاقد تلقیح قارچی در شرایط عدم تنش شوری نسبت به گیاهان تلقیح شده با قارچ بیشتر می‌باشد؛ اما برخلاف آنچه در مورد اندام هوایی گفته شد، غلظت پتاسیم ریشه گیاهان شاهد و تلقیح شده در اثر اعمال تنش شوری کاهش معنی-داری نسبت به شرایط بهینه رشد پیدا کرد و با افزایش بیشتر تنش شوری، مقدار این کاهش بیشتر شد. بدین‌صورت که با افزایش شوری از سطح ۱۰۰ به ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، غلظت پتاسیم ریشه در گیاهان شاهد و تلقیح شده به ترتیب ۳۴/۵٪ و ۵۱/۵٪ کاهش یافت.

نسبت پتاسیم به سدیم (K^+/Na^+) اندام هوایی و ریشه

نتایج به‌دست‌آمده بیانگر روند رو به کاهش نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی و ریشه گیاهان موردمطالعه (تلقیح و عدم تلقیح) در اثر افزایش شوری است و بیشترین مقدار این صفت در پایین‌ترین سطح شوری مشاهده گردید. مقدار این شاخص در اندام هوایی گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ *P. indica* در سطوح صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند؛ اما این اختلاف در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم معنی‌دار بود، به‌طوری‌که نسبت K^+/Na^+ ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* حدود

۱۷۲٪ بیشتر از گیاهان شاهد گزارش شد. شایان‌ذکر است که نسبت K^+/Na^+ ریشه گیاهان شاهد و تلقیح شده در تمام سطوح تنش شوری، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر *P. indica* بر غلظت سدیم، پتاسیم و نسبت K^+/Na^+ برگ و ریشه گیاهان شاهد و تلقیح شده در سطوح مختلف شوری.

Table 3. The comparison of mean for the effect of fungus on shoot and root concentration of sodium & potasium and K+/Na+ ratio of the control and inoculated plants at different levels of salinity.

پارامتر Parameter	*P. indica* (-) شوری (mM NaCl) Salinity (mM NaCl) 0	100	300	*P. indica* (+) شوری (mM NaCl) Salinity (mM NaCl) 0	100	300
غلظت سدیم اندام هوایی (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) **Na Concentration of Shoot** (mg/g. DW)	1.74[e]	8.01[c]	36.83[a]	1.62[e]	6.90[d]	15.98[b]
غلظت پتاسیم اندام هوایی (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) **K Concentration of Shoot** (mg/g. DW)	26.59[c]	29.38[b]	15.68[d]	28.82[b]	32.9[a]	18.68[d]
غلظت سدیم ریشه (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) **Na Concentration of Root** (mg/g. DW)	8.67[c]	26.52[a]	24[b]	7.06[c]	26.51[a]	26.97[a]
غلظت پتاسیم ریشه (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) **K Concentration of Root** (mg/g. DW)	9.38[a]	6.72[c]	4.4[d]	8.72[b]	6.83[c]	3.32[e]
K^+/Na^+ برگ **K^+/Na^+ Ratio of Shoot**	15.28[a]	3.67[b]	0.43[d]	17.8[a]	4.76[b]	1.17[c]
K^+/Na^+ ریشه **K^+/Na^+ Ratio of Root**	1.08[a]	0.25[b]	0.18[c]	1.24[a]	0.26[b]	0.12[c]

تنش شوری با افزایش پتانسیل آبی و درنتیجه کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌ها، سبب کاهش جذب آب موردنیاز سلول‌ها می‌شود که این امر منجر به بروز اثرات منفی بر صفات مورفولوژیکی گیاه نظیر طول گیاه، وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) و نیز عملکرد گیاه می‌شود. کاهش پتانسیل اسمزی حاصل از جذب مقادیر زیاد Na^+ در شرایط تنش شوری که «تنظیم اسمزی» نامیده می‌شود، درواقع پاسخی جهت تعدیل اختلاف پتانسیل آبی موجود بین گیاه و محیط شور است و گیاه را قادر می‌سازد تا خود را با شرایط شور سازش دهد. استفاده از وزن خشک گیاه به‌عنوان شاخص تحمل به شوری توسط محققان مختلف مورداستفاده قرار گرفته است (Cruz et al., 1990; Shannon et al., 1999). لذا، در این تحقیق نیز، وزن خشک اندام هوایی گیاه، بهترین معیار جهت بررسی میزان تحمل گیاهان موردمطالعه به شوری و مقایسه آن‌ها با یکدیگر در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات ارزیابی‌شده در این پژوهش، نشان داد که اعمال تنش شوری، سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاهان مورد مطالعه (گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* و گیاهان شاهد) شده است، اگرچه، میزان کاهش پارامتر مذکور در گیاهان تلقیح‌شده بسیار کمتر از گیاهان شاهد بود. محققان بر این باورند که رشد گیاه در شرایط تنش شوری طی دو مرحله کاهش می‌یابد. بدین‌صورت که در مرحله اول، مصرف انرژی توسط سلول‌های گیاهی جهت تنظیم اسمزی به‌عنوان عکس‌العملی در برابر نمک موجود در محیط و در مرحله دوم (واکنش ثانویه) اثرات سمی ناشی از تجمع بیش از حد نمک در سلول و اجزاء مختلف آن ازجمله کلروپلاست و میتوکندری، موجب کاهش رشد گیاه می‌شود (Moller et al., 2001).

افزایش مقدار فسفر ریشه و برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان شاهد نشان می‌دهد که این قارچ با استفاده از مکانیسم‌های متفاوت نظیر افزایش جذب عناصر غذایی تا حدودی اثرات مضر کلرید سدیم بر گیاه را کاهش داده و موجب مقاومت بیشتر گیاه در برابر تنش شوری شده است (Jindal et al., 1993). این نتایج مطابق است با گزارش‌های موجود در مورد بهبود رشد گیاهان تحت تأثیر شوری با استفاده از سایر قارچ‌های اندوفیت مانند قارچ‌های

میکوریزی که موجب افزایش جذب مواد معدنی مخصوصاً مواد کم‌تحرک مانند فسفر، روی و مس می‌شوند (Al-Karaki et al., 2000; Mayak et al., 2004). هرچند نتایج تحقیقات متعدد بیانگر اثر منفی شوری بر قابلیت جذب فسفر توسط گیاه است، زیرا به دلیل تشابه مکانیسم جذب آنیون‌های فسفر و کلر و رقابت آن‌ها در فرایند جذب، افزایش غلظت کلر موجب کاهش جذب فسفر می‌شود (Kumar, 2013; Munns, 2002)، اما نتایج این پژوهش حاکی از آن است که حداقل در مورد بعضی گیاهان نظیر ذرت، شوری تأثیر مشخصی بر جذب فسفر ندارد.

وجود مقادیر اضافی سدیم در شرایط تنش شوری، سبب برهم خوردن تعادل غذایی در گیاه و درنتیجه اختلال در جذب و انتقال یون‌های غذایی ضروری می‌شود (Akbarimoghaddam et al., 2011). جذب مقادیر زیاد یون سدیم توسط گیاه در محیط شور، سبب افزایش مقدار این یون در ریشه و بخش‌های هوایی گیاه و درنتیجه اختلال در سیستم‌های غشایی و آنزیمی سلول می‌شود (Giri et al., 2007). نتایج مطالعات مختلف بیانگر آن است که در شرایط تنش شوری، مقدار سدیم در اندام‌های هوایی گیاهانی که توانایی کمتری در تحمل شوری دارند، نسبت به گیاهان متحمل افزایش می‌یابد (Ashraf, 2004). نتایج این پژوهش نیز تأییدکننده این مطلب می‌باشد، به‌طوری‌که داده‌های مربوط به مقدار سدیم برگ حاکی از آن است که مقدار این عنصر در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* که توانایی بیشتری در تحمل شوری نشان دادند، نسبت به گیاهان شاهد کمتر است؛ اما نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار سدیم ریشه حاکی از افزایش مقدار این یون در ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد می‌باشد. غلظت پایین سدیم در برگ‌های گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* و زیاد بودن آن در ریشه این گیاهان در مقایسه با گیاهان شاهد فاقد تلقیح قارچی نشان می‌دهد که جلوگیری از انتقال سدیم اضافی به برگ و نگه‌داشتن آن در ریشه احتمالاً به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های احتمالی افزایش رشد گیاه توسط این قارچ مطرح می‌باشد. نتایج تحقیقات متعدد بیانگر آن است که گیاهان متحمل به شوری، با جذب مقادیر زیاد یون سدیم از محیط اطراف خود و ذخیره آن در واکوئل‌های بزرگ سلول‌های ریشه، از یون سدیم جذب‌شده توسط ریشه جهت تنظیم اسمزی خود استفاده می‌کنند (Tuteja 2007). انتقال نمک از سیتوپلاسم به درون واکوئل یک شیب اسمزی قوی در سرتاسر غشاء واکوئلی به وجود می‌آورد و این شیب، با افزایش سنتز مولکول‌های حل‌شونده در سیتوپلاسم تحت فرایندی که تنظیم اسمزی نامیده می‌شود، متعادل می‌گردد. بنابراین با توجه به مطالب مذکور، چنین به نظر می‌آید که گیاهان ذرت تلقیح‌شده با قارچ *P. indica* از یون سدیمی که به مقدار زیادتر از گیاهان شاهد جذب کرده‌اند، برای تنظیم اسمزی و مقابله با تنش شوری استفاده کرده‌اند، زیرا تنظیم اسمزی به‌عنوان سازشی مهم در گیاهان، نسبت به شوری شناخته می‌شود.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزایش شوری برخلاف سدیم، موجب کاهش غلظت پتاسیم در ریشه گیاهان گردیده است (جدول ۳). این نتیجه، مطابق با یافته‌های سایر محققین در مورد گیاهان گندم و گوجه‌فرنگی می‌باشد (Taleisnik et al., 1994; Meneguzzo et al., 1999). دلیل کاهش جذب پتاسیم در شرایط تنش شوری، عدم توازن غلظت سدیم و پتاسیم در محیط اطراف ریشه و یکسان بودن ظرفیت یونی آن‌ها می‌باشد که به دلیل جذب بیشتر سدیم نسبت به پتاسیم در فرایند جذب رقابتی یون‌های مذکور، از جذب پتاسیم کاسته می‌شود (Munns et al., 2008). همچنین محاسبه نسبت K^+/Na^+ در این مطالعه نشان‌دهنده افزایش غلظت سدیم در شرایط تنش می‌باشد و مقدار این نسبت به جز در اندام هوایی گیاهان تلقیح یافته با قارچ در سایر تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافت. نسبت بالای K^+/Na^+ در اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان شاهد فاقد تلقیح قارچی در سطوح مختلف تنش تأییدکننده متحمل بودن برگ‌های این گیاهان نسبت به شوری است. مطالعات دیگر نیز بیان می‌دارند که نسبت بالاتر K^+/Na^+ برای حفظ ظرفیت فتوسنتزی و درنتیجه حفظ گیاه و متابولیسم سلولی در شرایط تنش لازم است (Asch et al., 2000; Zhu, 2003).

منابع

Afyuni, M., Mojtabapur, R., Noorbakhsh, F., 2002. Salt Affected Soils & Reclamation. Arkan Isfahan Publication. 216 p. [In Persian].

Abarimoghaddam, H., Galavi, M., Ghanbari, A., Panjehkeh, N., 2011. Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. Trakia Journal Science 9 (1), 43–50.

Al-Karaki, G.N., 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza. 10, 51- 54.

Asch, F., Dingkuhn, M., Dörffling, K., Miezan, K., 2000. Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. Euphytica. 113, 109-118.

Ashraf, M., 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora 199, 361–376.

Blanco, F.F., Folegatti, M.V., Gheyi, H.R., Fernandes, P.D., 2007. Emergence and Growth of Corn and Soybean under Saline Stress. Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.). 64(5), 451-459.

Cruz, V., Cuartero, J., Bolarin, M., Rommero, M., 1990. Evaluation of characters for ascertaining salt stress responses in *Lycopersicon* species. Journal of the American Society for Horticultural Science. 115, 1000-1003.

Giri, B., Mukerji, K.G., 2004. Mycorrhizal inoculate alleviates salt stress in *Sesbania aegyptica* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza. 14, 307-312.

Giri, B., Kapoor, R., Mukerji, K.G., 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum*, may be partly related to elevated K^+/Na^+ ratios in root and shoot tissues. Microbial Ecology. 54, 753-760.

Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual review of plant physiology and plant molecular biology. 51,463–499.

Hussein, M.M., Balbaa, L.K., Gaballah, M.S., 2007. Salicylic Acid and Salinity Effects on Growth of Maize Plants. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 3(4), 321-328.

Jindal A., Atwal Sekhon, B.S., Singh, R., 1993. Effect of Vesicular-arbuscular mycorrhizae on metabolism of moong plant under NaCl salinity. Plant Physiology and Biochemistry. 31, 475-481.

Khodabandeh, N., 2003. Cereals. Tehran University Publication. 538p. [In Persian].

Kormanik, P.P.; McGraw, A.C. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: SCHENCK, N.C. (Ed.). Methods and principles of mycorrhizal research. St. Paul: American Phytopathological Society. p.37-45.

Kumar, M., 2013. Crop Plants and Abiotic StressesJournal of Biomolecular Research & Therapeutics. 3:1.

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

Maas, E.V., 1986. Salt tolerance of plants. Applied Agricultural Research.1, 12-25.

Mansour, M.M.F., Salama, K.H.A., Ali, F.Z.M., Abou Hadid, A.F., 2005. Cell and plant responses to NaCl in *Zea Mays* L. cultivars differing in salt tolerance. General and Applied Plant Physiology. 31(1-2), 29-41.

Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B.R., 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiology and Biochemistry. 42, 565–572.

Meneguzzo, S., Navarilzzo, I., 1999. Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations. Journal of Plant Physiology. 155, 274-280.

Moller, I.M., 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. Annual review of plant physiology and plant molecular biology 52, 561–591

Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell & Environment.25, 239-250.

Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology. 59, 651-681.

Parida, A.K., A.B. Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a

review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60, 324-349.

Pham, G.H., Kumari, R., Singh, A., Malla, R., Prasad, R., Sachdev, M., Kaldorf, M., Buscot F., Oelmüller, R., Hampp, R., Saxena, A.K., Rexer, K.H., Kost, G., Varma, A., 2004. Axenic Culture of Symbiotic Fungus *Piriformospora indica*. In: Varma, A., Abbot, L., Werner, D., Hampp, R. (Eds.). Plant Surface Microbiology. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, pp 593–612.

Rodriguez, R.J., White, J.F, Arnold, A.E., Redman, R.S., 2009. Fungal endophytes: Diversity and functional roles. New Phytologist. 182(2), 314-330.

Sepehri, N., Saleh Rastin, N., Hossieni Salkedeh, G., Khayam Nekouie, M., 2009. Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on growth and resistance of *Hordeum vulgare* L. to salinity stress. Rangeland, 3 (3), 508-518. [In Persian with English Summary].

Shannon, M.C., Grieve, C.M.,1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia Horticulturae. 78, 5-8.

Singh, A., J. Sharma, K. H. Rexer & A. Varma, 2000. Plant productivity determinants beyond Minerals, water and light. *Piifrormospora indica*: A revolutionary plant growth promoting fungus. Current Science. 79: 101-106.

Sumer, A., Zorb, C., Yan, F. & Schubert, S. Evidence of sodium toxicity for the vegetative growth of maize (Zea mays L.) during the first phase of salt stress. Journal of Applied Botany and Food Quality-Angewandte Botanik 78, 135-139 (2004).

Taleisnik, E., Grunberg, K., 1994. Ion balance in tomato cultivars differing in salt tolerance. I. Sodium and potassium accumulation and fluxes under moderate salinity. Physiology Planta. 92, 528-534.

Tuteja, N., 2007. Mechanisms of high salinity tolerance in plants. Methods in Enzymology. 428,419-438.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions. 160, 1-40.

Varma, A., Singh, A., Sahay, N.S., Sharma. J., Kumari, M., Rana. D., Takeran, S., Deka, D., Baharti K., 2001. *Piriformospora indica*: An axenically cultivable mycorrhiza-like endo symbiotic fungus. Mycota IX. Spiringer Series, pp. 123-150.

Waller, F., Baltruschat, H., Achatz, B., Becker, K., Fischer, M., Fodor, J., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences. 102, 13386–13391.

Zarea, M. J., Chordia, P., Varma, A., 2013. *Piriformospora indica* Versus Salt Stress. Soil Biology. 33, 263-281.

Zidan, I., Azaizeh, H., Neumann, P.M., 1990. Does salinity reduce growth in maize root epidermal cells by inhibiting their capacity for cell wall acidification? Plant Physioogy. 93, 7-11.

Zhu, J.K., 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. Current Opinion in Plant Biology. 6, 441-445.