افزایش تحمل گیاهچه‌های ذرت به تغییرات دما از طریق همزیستی با سه گونه میکوریزا

مهدی خورشیدی[1]، بهاره بیچرانلو[2*]، میلاد باقری[3]

تاریخ دریافت: 91/07/29 تاریخ پذیرش: 92/04/23

1-استادیار، دانشکده زیست شناسی و پژوهشکده علوم زیستی دانشگاه دامغان

2- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

3- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

* مسئول مکاتبه: E-mail: bbicharanlou@yahoo.com

چکیده

تغییر اقلیم یکی از چالش‌های پیش روی کشاورزی است که اولین نمود آن تغییرات دمایی است. به منظور بررسی افزایش تحمل گیاهان ذرت به تغییرات دما از طریق همزیستی با سه گونه میکوریزا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه دامغان در سال 1391 اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل گونه‌های مختلف میکوریزا (شامل *Acaulospora longula*، *Glomus moseae*، *Glomus claroideum* و عدم تلقیح میکوریزا) و دما (10، 25 و 40 درجه سانتی‌گراد) بود. گیاهان پس از 3 هفته رشد در دمای 25 درجه سانتی‌گراد، به منظور اعمال تنش دمایی در دمای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد قرار گرفتند. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که افزایش و کاهش دما نسبت به 25 درجه سانتی‌گراد کاهش وزن تر و خشک گیاهان ذرت، طول برگ و ساقه، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل را در پی داشت، که این کاهش‌ها در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا کمتر بود. در دماهای پایین (تنش سرمایی) تلقیح با میکوریز هیچ تاثیری را از حاظ صفات ریخت شناسی در بر نداشت. گونه‌های مختلف میکوریزا افزایش میزان کارتنوئید را نسبت به گیاهان تلقیح نشده به دنبال داشتند. بالاترین میزان کارتنوئید در گیاهان تلقیح شده با *G. moseae* مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گونه *A. longula* نداشت. تنش دمایی، باعث کاهش میزان آنتوسیانین و تلقیح میکوریزایی منجر به افزایش آن شد. تنش دمایی، کاهش میزان فلاونوئیدها را در برداشت که این کاهش در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا کمتر بود. میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدهید تحت تنش افزایش یافت، که گونه‌های *G. moseae* و *G. claroideum* در کاهش آنها نسبت به *A. longula* موفق‌تر بودند. میزان ترکیبات فنلی گیاهان ذرت در تلقیح با گونه‌های میکوریزا نسبت به گیاهان شاهد، 23-17 درصد کاهش داشت.

واژه‌های کلیدی: مالون دی آلدهید، همزیستی، *G.claroideum*، *G.moseae* و *A.longula*.

Elevated the Tolerance of Maize Plants to Temperature Changes through symbiosis with Three Species of Mycorrhiza

Mahdi Khorshidi[1], Bahareh Bicharanlou[2*], Milad Bagheri[3]

Received: October 20, 2012 Accepted: July 14, 2013
[1] School of Biology & Institute of Biological Science, Damghan University, Iran
[2]Department of Plant pathology, Islamic Azad University of Damghan, Iran
[3]Department of Agronomy and Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
[*]Corresponding author E-mail: bbicharanlou@yahoo.com

Abstract

Climate change is one of the future challenges of agriculture that the first sign is changes in temperature. In order to elevated the resistance of maize plants to temperature changes through inoculation with three species of mycorrhiza a factorial experiment was performed in completely randomized design in research laboratory of university of Damghan. The factors were included mycorrhiza species (*Acaulospora longula*, *Glomus moseae*, *Glomus claroideum*, and no inoculation with mycorrhiza) and temperature (10˚, 25˚, and 40˚C). In order to temperature stress, the plants were placed in the growth chamber after 3 weeks growth in 25˚ C. The results showed that temperature stress (10˚, 40˚C) was caused to decrease the fresh and dry weight of plants, leaf and plumule length, content of chlorophyll a, b, and total. This decreasing in inoculated plants was lower than no inoculated plants. The mycorrhiza species were followed increase the carotenoid content. The highest of carotenoid content was observed in inoculated plants with *G. moseae*. Temperature stress, inoculate with mycorrhiza were caused the increase and decrease of Antocyanine, respectively. In addition to, temperature stress was decreased the flavonoids, that this decreasing was lower in inoculated plants. H_2O_2 and MDA were increased under temperature stress. The species of *G. moseae*, *G. claroideum* in decrease of H_2O_2 and MDA were more successful than *A. longula*. Phenolic compounds of maize plants inoculated with mycorrhiza 17-23% have decreased as compared to control plants.

Keywords: *A.longula*, *G.claroideum*, *G.moseae*, MDA, Symbiosis.

مقدمه

دما یکی از مهمترین عوامل محیطی است که بر روی رشد گیاه و همزیستی میکوریزایی تأثیرگذار بوده و در سال‌های اخیر تحت تأثیر تغییر اقلیم، دچار نوسان شده است. گرما و سرما وضعیت‌های ترمودینامیکی هستند که به ترتیب توسط انرژی جنبشی زیاد و کم

مولکول‌ها مشخص می‌شوند. گرما حرکت مولکول‌ها را تسریع می‌کند، پیوندهای درون ماکرومولکول‌ها سست می‌شوند و لایه‌های لیپیدی غشاها سیّالتر می‌شوند. در مقابل، در دماهای کم، غشاها سخت‌تر می‌شوند و انرژی لازم برای فعال سازی فرآیندهای بیوشیمیایی افزایش می‌یابد (کوچکی و همکاران 1376). گزارش‌های زیادی حاکی از آن است که میکوریزا علاوه بر افزایش رشد گیاه (بوریما 2007)، تحمل گیاه را به تنش‌های زیستی و غیر زیستی از جمله خشکی (سابرامانیان و کارست 1995، وئو و همکاران 2007 و بومسما و وین 2008)، شوری (چو و همکاران 2006 و ال خلیلی 2010) افزایش می‌دهد اما در ارتباط با نقش میکوریزا درتحمل تنش درجه دماهای بالا و پایین (زو و همکاران 2010) مطالعات کمی صورت گرفته است. در خاک‌های شور، رشد گیاهانی که با قارچ *Glomus spp.* تلقیح شده اند نسبت به گیاهان بدون تلقیح بیشتر شده است و همچنین سبب افزایش فسفات و کاهش سدیم در گیاه تلقیح شده با میکوریز نسبت به شاهد شد (فیفر و بلوث 1987 و گیری و موکرجی 2004). نتایج پژوهش علیزاده و همکاران (1386) نشان داد که سطح برگ، میزان ماده خشک گیاه، ارتفاع بوته در ذرت تلقیح شده با مایکورایزا تحت تنش خشکی افزایش معنی‌داری داشت. چو و همکاران (2006) تحمل سورگوم تلقیح شده با دوگونه میکوریزا *Glomus intraradices* و *Gigaspora margarita* نسبت به تنش شوری و خشکی بررسی نمودند و نتیجه گرفتند که زمان بسته شدن روزنه در گیاه تلقیح شده با میکوریز تحت تنش خشکی به تنهایی مشابه گیاه بدون میکوریز می‌باشد اما هنگامی‌که گیاه در معرض هردو تنش خشکی و شوری قرار می‌گیرد، زمان باز ماندن روزنه‌های گیاهان تلقیح شده با میکوریز 22-17 درصد بیشتر از گیاهان فاقد میکوریز بود.

در شرایطی که گیاه در معرض تنش دمای بالا و پایین قرار می‌گیرد، نفوذپذیری غشاء افزایش می‌یابد. در همان زمان، انواع گونه‌های فعال اکسیژن[1] مثل رادیکال آنیون سوپراکسید[2]، رادیکال‌های هیدروکسیل[3] و هیدروژن پراکسید[4] القاء شده که سبب پراکسیداسیون غشاء لیپیدی می‌شود. شواهد نشان می‌دهد که آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تنش‌های غیر زیستی تغییر می‌کند که از مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل تنش است (اپل و هیرت 2004 و کیم و همکاران 2005). همزیستی با میکوریزا می‌تواند فیزیولوژی گیاه را برای تحمل تنش تغییر دهد. هرچند مکانیسم‌های تأثیر این همزیستی روی گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه میزبان تحت تنش دمایی مشخص نشده است، با این وجود بررسی تأثیر میکوریزا روی پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاهان تحت تنش دمایی مهم می‌باشد (زو و همکاران 2010). هدف از این تحقیق بررسی تأثیر سه گونه میکوریزا (*Acaulospora longula*، *Glomus moseae* و *Glomus claroideum*) بر روی افزایش تحمل ذرت به دامنه‌های دمایی مختلف از طریق بهبود خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در تحمل گیاهان ذرت رقم سینگل کراس 206، به دماهای مختلف، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. فاکتور اول دماهای مختلف (شامل 10، 25 و 40 درجه سانتی‌گراد) و فاکتور دوم شامل تلقیح بذور با سه گونه میکوریزا (*Acaulospora longula*، *Glomus claroideum* و *G. moseae*) و عدم تلقیح آنها با میکوریزا (شاهد) بود. قبل از شروع آزمایش، بذرها در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت 20 ثانیه ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر سه مرتبه شستشو

[1] Radical Oxygen Species (ROS)
[2] O_2^-
[3] OH
[4] H_2O_2

گردیدند. به منظور تسریع جوانه زنی، بذور به مدت 24 ساعت در آب خیسانده شدند. سپس در گلدان‌های پنج کیلوگرمی به قطر دهانه 20 سانتی‌متر، مقدار 3/5 کیلوگرم خاک (استریل شده در آون) ریخته شد. مقدار 30 گرم مایه تلقیح میکوریزا به گلدان‌ها اضافه و سپس تعداد پنج بذر درون هرگلدان کشت شد. قبل از اعمال تنش دمایی، گلدان‌ها جهت ایجاد همزیستی بین میکوریزا با بذور به مدت سه هفته در دمای 25-22 درجه سانتی‌گراد در گلخانه نگهداری شدند. سپس در مرحله چهار برگی به منظور اعمال تیمارهای دمایی، گلدان‌ها به مدت یک هفته درون اتاقک رشد قرار گرفتند. بعد از طی این مدت، گیاهان برداشت شده و صفات ریخت شناسی (وزن تر و خشک گیاهان، طول برگ، قطر و طول ساقه) و صفات فیزیولوژیک (میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کارتنوئید، آنتوسیانین، پرولین، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در طول موج‌های 270، 300 و 330 نانومتر) آنها بررسی شد. فاصله بین سطح خاک تا گره آخرین برگ به عنوان طول ساقه در نظر گرفته شد. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، گیاهان درون پاکت‌های کاغذی در آون با دمای 65 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت خشک گردیدند.

برای سنجش میزان کلروفیل و کارتنوئید از روش لیچن تالر (1987)، میزان آنتوسیانین‌های برگ از روش وِینگر (1976) و اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی از منحنی استاندارد اسید گالیک (گائو 2000) استفاده گردید. مالون دی آلدئید که شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در طی تنش‌هاست به روش هیث و پاکر (1968) و میزان پرولین به روش بیتز و همکاران (1973) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فلاونوئیدها با استفاده از اسپکتروفتومتری از روش کریکز و همکاران (1998) انجام گرفت.

در نهایت تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین به ترتیب با استفاده از نرم افزارهای SAS (ver. 9.2) و MSTAT-C انجام گرفت. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

صفات ریخت شناسی

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر متقابل دو فاکتور بر روی وزن تر و خشک گیاهان (در سطح یک درصد) و بر روی طول برگ و طول ساقه (در سطح 5 درصد) معنی‌دار بود. قطر ساقه تحت تاثیر فاکتورهای مورد آزمایش قرار نگرفت (جدول 1).

وزن تر و خشک گیاهان با افزایش و کاهش دما نسبت به 25 درجه سانتی‌گراد، کاهش یافت. وزن گیاهان تلقیح شده با گونه‌های مختلف میکوریزا کاهش کمتری نسبت به شاهد (بدون تلقیح با میکوریزا) داشت (جدول 2). امیرآبادی و همکاران (1388) گزارش نمودند که استفاده از قارچ میکوریزا سبب افزایش وزن خشک ذرت علوفه‌ای نسبت به شاهد می‌شود. سادات و همکاران (1389) نیز معتقدند که تلقیح با میکوریزا می‌تواند در افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری و افزایش ماده خشک و عملکرد گیاه مؤثر باشد. نتایج پژوهش کنونی حاکی از آن است که در دمای 10 درجه سانتی‌گراد، همزیستی با میکوریزا کاهش می‌یابد، به طوری که در این دما، وزن خشک گیاهان تلقیح شده با گونه‌های مختلف میکوریزا اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاهان بدون میکوریزا نداشت (جدول 2). در دماهای 25 و 40 درجه سانتی‌گراد به ترتیب گونه‌های *G. moseae* و *G. claroideum*، بالاترین وزن تر و خشک را به خود اختصاص دادند (جدول 2). وزن تر و خشک گیاهان تلقیح شده با گونه *A. longula*، فقط در دمای 25 درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد داشت و در دماهای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد اختلاف

معنی‌داری در ارتباط با این گونه و شاهد مشاهده نشد (جدول 2). اسرار و الهیندی (2011) در مطالعه قارچ میکوریزا بر روی گل همیشه بهار تحت شرایط تنش خشکی اذعان داشتند که تلقیح گیاه با میکوریزا در شرایط اعمال تنش خشکی و عدم اعمال آن افزایش میزان وزن خشک گیاه را در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح میکوریزایی به دنبال دارد. در بررسی نقش میکوریزا بر بهبود خسارت تنش خشکی بر گوجه فرنگی اظهار شده است که تحت شرایط طبیعی تا اعمال خشکی شدید، گیاهان تلقیح شده با میکوریزا وزن خشک ساقه و ریشه بیشتری نسبت به گیاهان تیمارهای بدون میکوریزا داشته اند (سوبرامانیان و همکاران 2006).

طول ساقه و برگ در دمای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد نسبت به 25 درجه سانتی‌گراد کاهش یافت، که البته در مورد دمای 10 درجه این کاهش محسوس‌تر بود (جدول 2). طویلترین ساقه و برگ در گیاهان تلقیح شده با گونه‌های *G. moseae* و *G. claroideum* در دمای 25 درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول 2). گیاهان تلقیح شده با گونه‌های *G. moseae* و *G. claroideum* در هر سه دامنه دمایی نسبت به به شاهد و گیاهان تلقیح شده با گونه *A. longula* طول ساقه و برگ بیشتری داشتند. لازم به ذکر است که گونه *A. longula* تحت دماهای مختلف، از نظر طول ساقه اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول 2).

جدول 1- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات ریخت شناسی اندازه‌گیری شده در گیاهان ذرت.

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر	وزن خشک	قطر ساقه	طول ساقه	طول برگ
دما	2	7/0052***	3/1509***	0/003n.s.	106/2967***	668/6431***
میکوریزا	3	2/4961***	1/1375***	0/003n.s.	37/3163***	68/1651***
اثر متقابل (دما×میکوریزا)	6	0/5098***	0/2305***	0/0007n.s.	5/3767*	4/6583*
اشتباه آزمایشی	24	0/0443	0/0207	0/0022	1/8692	1/3619
ضریب تغییرات	-	5/89	5/89	9/07	11/76	3/79

*، ** و ***؛ به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال 0/05، 0/01 و 0/001 و n.s. نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

جدول 2- اثر متقابل گونه‌های مختلف میکوریزا و دما بر وزن تر و خشک ساقه، طول برگ و طول ساقه گیاهان ذرت.

دما	میکوریزا	وزن تر (گرم بر گیاه)	وزن خشک (گرم بر گیاه)	طول ساقه (سانتی‌متر)	طول برگ (سانتی‌متر)
10	بدون تلقیح	5/32 f	1/888 f	7/963 d	20/27 g
	A. longula	5/492 f	1/95 f	7/923 d	22/77 f
	G. claroideum	5/92 ef	2/101 f	9/523 d	26/09 e
	G. moseae	5/7 ef	2/023 f	9/17 d	25/37 e
25	بدون تلقیح	6/9 d	2/387 e	12/92 c	37/62 b
	A. longula	7/856 c	2/718 cd	12/91 c	35/27 c
	G. claroideum	9/372 b	3/243 b	15/84 ab	40/04 a
	G. moseae	10/526 a	3/642 a	16/72 a	41/09 a
40	بدون تلقیح	5/64 ef	1/833 f	9/233 d	26/8 e
	A. longula	6/35 de	2/064 f	8/233 d	27/43 e
	G. claroideum	8/78 b	2/853 c	14/96 abc	32/32 d
	G. moseae	7/892 c	2/565 de	14/07 bc	33/73 cd

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

صفات فیزیولوژیک

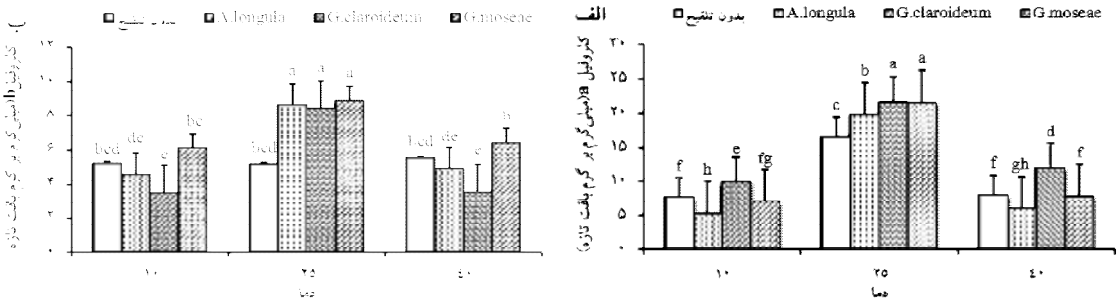
رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین و فلاونوئیدها

کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل‌های a، b، کلروفیل کل تحت تاثیر ($p\leq0.001$) اثرات ساده و متقابل هر دو فاکتور قرار گرفت (جدول 3).

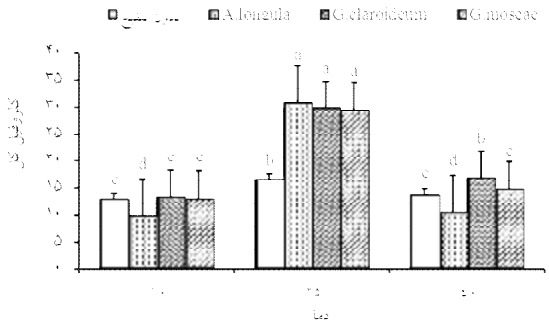
اعمال دامنه دمایی بالا و پایین‌تر از 25 درجه سانتی‌گراد کاهش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل را در پی داشت (شکل 1). پارسا مطلق و همکاران (1390) بیان کردند که تنش شوری سبب کاهش میزان کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل در لوبیا می‌شود که تلقیح با میکوریزا افزایش آنها را نسبت به شاهد (عدم تلقیح میکوریزا) به دنبال دارد. کاهش کلروفیل در برگ‌ها احتمالا به علت مهار مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل از جمله مهار سنتز دلتاآمینولوولینیک اسید و مهار تشکیل پروتوکلروفیلید ردوکتاز اتفاق می‌افتد (خلیقی و خارا 1387). همزیستی میکوریزایی در دماهای مختلف سبب افزایش میزان کلروفیل a شد. به طوری که در دماهای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد گیاهان تلقیح شده با گونه *G. claroideum* کلروفیل a بیشتری نسبت به شاهد (گیاهان بدون تلقیح) داشتند. در دمای 25 درجه سانتی‌گراد گونه‌های *G. moseae* و *G. claroideum* و سپس گونه *A. longula* میزان کلروفیل a را نسبت به شرایط عدم کاربرد میکوریزا افزایش داد (شکل 1الف).

در دمای 25 درجه سانتی‌گراد، گیاهان تلقیح شده با میکوریزا افزایش میزان کلروفیل b را نسبت به شاهد در پی داشتند. البته بین گونه‌های مختلف میکوریزا از نظر میزان کلروفیل b اختلافی مشاهده نشد (شکل 1ب). در دماهای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد، گونه *G. moseae* در افزایش میزان کلروفیل نسبت به شاهد (عدم تلقیح میکوریزایی) موفق‌تر عمل کرد (شکل 1ب). یکی از شاخص‌های فیزیولوژیک مهم که به محتوای کلروفیل گیاه وابسته است، فتوسنتز می‌باشد. قارچ میکوریزا از طریق ایجاد روابط همزیستی با گیاه در جذب کارآمد برخی عناصر مانند فسفر، که به عنوان عنصری کلیدی در انتقال انرژی طی فرآیند فتوسنتز مطرح است، افزایش محتوای کلروفیل و به دنبال آن فتوسنتز را به دنبال دارد (شریفی و همکاران 1390).



شکل 1- مقایسه میانگین ترکیب تیماری دما و گونه‌های میکوریزا بر میزان کلروفیل a (الف) و کلروفیل b (ب).
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

کلروفیل کل نیز در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا از میزان بیشتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بود (شکل 2). گونه *G. claroideum* در دماهای بالاتر و پایین تر از 25 درجه سانتی‌گراد، کلروفیل کل بیشتری را در گیاهان تحت تیمار خود نسبت به شاهد و دو گونه دیگر القا نمود (شکل 2). البته در دمای 10 درجه سانتی‌گراد، بین گیاهان تحت تیمار گونه *G. claroideum* با گونه *G. moseae* و گیاهان بدون تلقیح اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 2).



شکل 2- مقایسه میانگین ترکیب تیماری دما و گونه‌های میکرویزا بر میزان کلروفیل کل.

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

جدول 3- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین و فلاونوئیدها در گیاهان ذرت.

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	آنتوسیانین	فلاونوئیدها 270 نانومتر	فلاونوئیدها 300 نانومتر	فلاونوئیدها 330 نانومتر
دما	2	/892*** 571	/7224*** 31	/6533*** 739	/6305n.s. 0	/2716*** 3	/5687*** 3	/2778*** 1	/9595*** 0
میکوریزا	2	/2191*** 32	7/4276***	/5832*** 54	/4199*** 9	0/115***	/1883n.s. 0	/0053n.s. 0	/0239*** 0
اثرمتقابل (دما×میکوریزا)	6	7/5814***	4/9021***	/9032*** 55	/3557n.s. 0	/0122n.s. 0	/7001n.s. 0	/3436*** 0	/3808*** 0
اشتباه آزمایشی	24	0/6862	0/5279	1/0516	1/1854	0/0055	0/3714	0/0094	0/0012
ضریب تغییرات	-	6/93	12/33	5/81	16/27	5/61	16/69	3/78	1/39

*، ** و ***؛ به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال 0/05، 0/01 و 0/001 و n.s. نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

کارتنوئید

کارتنوئیدها از طریق چرخه گزانتوفیل و واکنش‌های اپوکسیداسیون و دپوکسیداسیون، سبب کاهش مصرف اکسیژن شده و از کلروفیل در مقابل فتو اکسیداسیون محافظت می‌کنند (سایرام و همکاران 1998). تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کارتنوئیدها فقط تحت تاثیر اثر اصلی میکوریزا قرار گرفتند (جدول 3). به طور کلی تلقیح با هر سه گونه افزایش میزان کارتنوئید گیاهان را نسبت به شاهد در پی داشت. بالاترین میزان کارتنوئید در گیاهان تلقیح شده با *G. moseae* مشاهده شد (7/630) که اختلاف معنی‌داری با گونه *A. longula* (7/295) نداشت (جدول 4). پارسا مطلق و همکاران (1390) نیز گزارش کردند که میزان کارتنوئید تحت تنش شوری، در لوبیای تلقیح شده با گونه *G. moseae* بیشتر از گیاهان بدون تلقیح با میکوریزا بودند. اسرار و الهیندی (2011) نیز افزایش میزان کارتنوئیدها را تحت تنش خشکی در گیاه همیشه بهار تلقیح شده با میکوریزا در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح میکوریزا گزارش کرده و این افزایش را در کاهش ممانعت و تخریب نوری رنگیزه‌های فتوسنتزی از طریق

غیر فعال کردن فعالیت اکسیژن‌های برانگیخته سودمند عنوان کرده‌اند.

آنتوسیانین

میزان آنتوسیانین فقط تحت تأثیر اثرات اصلی گونه‌های میکوریزا و دما قرار گرفت (جدول 3). بررسی اثر اصلی میکوریزا نشان داد که دو گونه *A. longula* و *G. claroideum* به ترتیب سبب افزایش 11/8 درصد و 7/97 درصد میزان آنتوسیانین نسبت به شرایط عدم تلقیح در گیاهان ذرت شدند. کمترین میزان آنتوسیانین از گیاهان تلقیح شده با گونه *G. moseae* بدست آمد (جدول 4). افزایش و کاهش دما نسبت به 25 درجه سانتی‌گراد، کاهش میزان آنتوسیانین گیاهان ذرت را به دنبال داشت. این کاهش در دمای 10 درجه سانتی‌گراد بیشتر از دمای 40 درجه سانتی‌گراد بود (جدول 5).

جدول 4- اثر اصلی سطوح مختلف میکوریزا بر میزان کارتنوئید، آنتوسیانین و ترکیبات فنلی گیاهان ذرت.

سطوح مختلف میکوریزا	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم بر گرم)
بدون تلقیح	5/32 c	1/27 b	1/63 a
A. longula	7/29 ab	1/44 a	1/34 b
G. claroideum	6/51 b	1/38 a	1/24 b
G. moseae	7/63 a	1/19 c	1/31 b

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

جدول 5- اثر اصلی دما بر میزان آنتوسیانین، فلاونوئید (270 نانومتر) و ترکیبات فنلی گیاهان ذرت.

دماهای مختلف رشد	آنتوسیانین	فلاونوئید (270 نانومتر)	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم بر گرم)
10	0/855 c	3/107 c	1/493 a
25	1/885 a	4/198 a	1/022 b
40	1/224 b	3/647 b	1/637 a

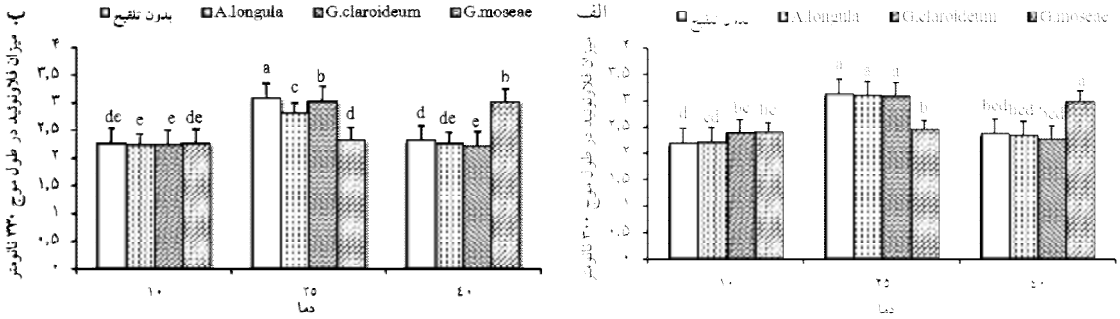
حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

فلاونوئیدها

سنجش میزان فلاونوئیدها در طول موج 270 تحت تاثیر اثر اصلی دما، و در طول موج 300 نانومتر تحت تاثیر اثر متقابل دو فاکتور و اثر اصلی دما قرار گرفت. سنجش فلاونوئیدها در طول موج 330 نانومتر نیز تحت تاثیر اثرات ساده و متقابل فاکتورهای آزمایش قرار داشت (جدول 3).

آنتی اکسیدان‌های فلاونوئیدی به عنوان ترکیبات فعال فیزیولوژیکی نقش مهمی را در مقاومت گیاهان به تنش دارند (تاتینی وهمکاران 2004). در طول موج 270 نانومتر، بالاترین میزان فلاونوئید در دمای 25 درجه و کمترین میزان آن در دمای 10 درجه مشاهده شد (جدول 5). بررسی میزان فلاونوئیدها در طول موج 300 نانومتر نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئیدها در گیاهان بدون میکوریزا در دمای 25 درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با گیاهان تیمار شده با گونه‌های *A.longula* و *G.clarodium* در دمای 25 درجه و گونه *G. moseae* در دمای 40 درجه سانتی‌گراد نداشت (شکل 3الف). کمترین میزان فلاونوئید سنجش شده در طول موج 300 نانومتر مربوط به تیمار

بدون میکوریزا در دمای 10 درجه سانتی‌گراد بود (شکل 3الف). سنجش فلاونوئید در طول موج 330 نانومتر نشان داد که بیشترین و کمترین میزان این ترکیب به ترتیب در گیاهان بدون میکوریزا در دمای 25 درجه و گیاهان تیمار شده با گونه *G.clarodium* در دمای 40 درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (شکل 3ب).



شکل 3- مقایسه میانگین ترکیب تیماری دما و گونه‌های میکوریزا بر میزان فلاونوئید در طول موج 300 (الف) و 330 (ب) نانومتر. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدهید

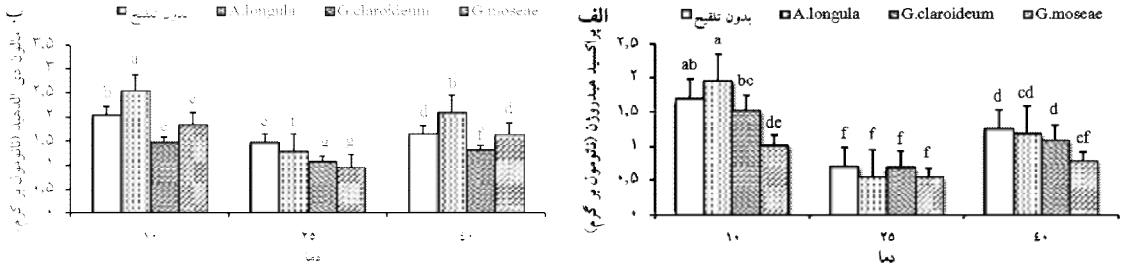
میزان پراکسید هیدروژن تحت تاثیر معنی‌دار اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایش قرار گرفت (جدول 6). تنش دمایی سبب افزایش میزان پراکسید هیدروژن می‌شود. در دمای 10 درجه سانتی‌گراد، گیاهان تلقیح شده با *A. longulata* دارای پراکسید هیدروژن بیشتری نسبت به شاهد بودند. در دمای 25 درجه، اختلاف معنی‌داری در میزان هیدروژن پراکسید گیاهان تلقیح شده و شاهد مشاهده نشد. در دمای 40 درجه نیز اختلاف معنی‌داری بین گیاهان تلقیح شده با گونه های *G. claroideum* و *A. longula* و شاهد مشاهده نشد. گونه *G. moseae* سبب کاهش پراکسید هیدروژن در دمای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد در گیاهان مورد تلقیح نسبت به شاهد شد. به طوری که بین میزان پراکسید هیدروژن گیاهان تلقیح شده با گونه *G. moseae* در دماهای 40 و 10 و گیاهان مورد آزمایش در دمای 25 درجه سانتی‌گراد، اختلاف معنی‌داری مشهود نبود (شکل 4الف). به طور کلی در این پژوهش، همزیستی با میکوریزا سبب کاهش پراکسید هیدروژن شد.

جدول 6- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدهید، پرولین و ترکیبات فنلی در گیاهان ذرت.

منبع تغییرات	درجه آزادی	پراکسید هیدروژن	مالون دی آلدهید	پرولین	ترکیبات فنلی
دما	2	2/5423***	1/7887***	0/00036***	1/2412***
میکوریزا	3	0/3832***	0/7842***	0/00023***	0/2675***
اثرمتقابل (دما×میکوریزا)	6	0/1117***	0/1286***	0/00026***	0/0251n.s.
اشتباه آزمایشی	24	0/0269	0/0072	0/000007	0/0362
ضریب تغییرات	-	15/22	5/29	8/41	13/76

*** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال 0/001 و n.s. نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

با اعمال تنش دمایی، میزان مالون دی آلدهید در ذرت افزایش یافت (شکل 4ب) که نشان دهنده القای تنش اکسیداتیو می‌باشد (نصیبی 1390، پوراکبر و اشرفی 2011). در دمای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد، گونه‌های *G. moseae* و *G. claroideum* سبب کاهش مالون دی آلدهید در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد گردیدند (شکل 4ب). زو و همکاران (2010) نیز کاهش میزان مالون دی آلدهید را در گیاهان تحت تنش دمایی توسط میکوریزا گزارش کرده‌اند و اظهار داشتند که میکوریزا می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدی غشاء را کاهش دهد. گونه *A. longula* در دمای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد افزایش میزان مالون دی آلدهید را نسبت به شاهد در پی داشت (شکل 4ب). هر سه گونه میکوریزا در دمای 25 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش مالون دی آلدهید در گیاهان مورد تلقیح نسبت به شاهد (بدون تلقیح) شدند (شکل 4ب).

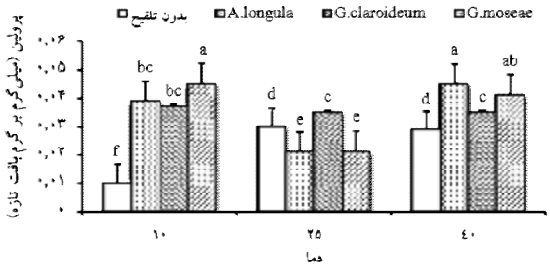


شکل 4- مقایسه میانگین ترکیب تیماری دما و گونه‌های مختلف میکوریزا بر میزان پراکسید هیدروژن (الف) و مالون دی آلدئید (ب).

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

پرولین

پرولین نیز تحت تاثیر معنی‌دار اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایش قرار گرفت (جدول 6). پرولین نقش حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را ایفا می‌کند (تاتار و گورک 2008). تحت تنش دمایی بالاتر و پایین‌تر از 25 درجه سانتی‌گراد، افزایش میزان پرولین در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل 5). فنگ و همکاران (2002)، نیز افزایش تحمل گیاه به تنش شوری را در گیاهان ذرت تلقیح شده با میکوریزا از طریق تجمع پرولین گزارش نموده‌اند. ربیعی و همکاران (1382) نیز افزایش میزان پرولین تحت تنش را گزارش نموده‌اند. دمای پایین نسبت به دمای بالاتر از 25 درجه سانتی‌گراد تاثیر بیشتری بر کاهش میزان پرولین گیاهان شاهد داشت. اما با این حال اختلاف چندانی میان پرولین گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در دمای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد (شکل 5).



شکل 5- مقایسه میانگین ترکیب تیماری دما و گونه‌های مختلف میکوریزا بر میزان پرولین.

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

ترکیبات فنلی

ترکیبات فنلی گروهی از مولکول‌های آنتی اکسیدان هستند که جهت تخریب انواع اکسیژن واکنش پذیر در گیاهان تحت تنش افزایش می‌یابند (راهداری 1387). ترکیبات فنلی گیاهان ذرت تنها تحت تاثیر معنی‌دار اثرات ساده تیمارهای آزمایش قرار داشت (جدول 6).

اثر ساده گونه‌های میکوریزا بر میزان ترکیبات فنلی گیاهان ذرت بیانگر این بود که تلقیح گیاهان با گونه‌های *A. longula*، *G. moseae* و *G. claroideum* به ترتیب سبب کاهش 17/85، 19/87 و 23/79 درصدی میزان ترکیبات فنلی نسبت به گیاهان شاهد شد. به طور کلی، بین گیاهان تلقیح شده با گونه‌های مختلف میکوریزا از نظر میزان ترکیبات فنلی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 4).

اثر اصلی دما بر روی میزان ترکیبات فنلی گیاهان ذرت نشان داد که دمای 10 و 40 درجه سانتی‌گراد به ترتیب 31/55 درصد و 37/57 درصد افزایش میزان ترکیبات فنلی را نسبت به دمای 25 درجه سانتی‌گراد در پی داشتند (جدول 5). بر خلاف نتایج ما، راهداری (1387) گزارش نمود که میزان ترکیبات فنلی در افزایش دما از 40 تا 55 درجه در گیاه چای دچارکاهش شد ولی تحت تنش‌های شوری و خشکی میزان این ترکیبات ابتدا افزایش و سپس کاهش یافته است.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از آن بود که افزایش و کاهش دما بر روی خصوصیات ریخت شناسی و فیزیولوژیک گیاهان ذرت اثرات سوء داشت که این اثرات تحت تنش دمای پایین مشهودتر بود. تلقیح میکوریزایی نقش مهمی را در تحمل گیاهان ذرت به تنش دمایی ایفا نمود، به طوری که باعث کاهش تولید پر اکسید هیدروژن و مالون دی آلدهید در گیاهان ذرت گردید. از سوی دیگر، همزیستی گیاهان ذرت با میکوریزا از طریق افزایش ترکیبات حفاظتی مانند پرولین و کارتنوئید باعث کاهش اثرات منفی تنش دمایی شد. در بین گونه‌های میکوریزا به کاربرده شده در این آزمایش گونه *Glomus moseae* از موفقیت بیشتری در همزیستی و کاهش خسارات ناشی از تنش‌های دمایی برخوردار بود. با این حال نتیجه گیری در خصوص تعیین بهترین قارچ همزیست با ذرت تحت دامنه‌های مختلف دمایی، بررسی‌های بیشتری را در این زمینه می‌طلبد.

منابع مورد استفاده

امیرآبادی م، رجالی ف، اردکانی م ر و برجی م، 1388. تأثیر کاربرد مایه تلقیح ازتو باکتر و قارچ میکوریزی بر جذب برخی عناصر معدنی توسط ذرت علوفه ای. مجله پژوهش های خاک (علوم خاک و آب)، شماره 23(1) صفحات: 107-115.

پارسا مطلق ب، محمودی س، سیاری زهان م ح و نقی زاده م، 1390. تأثیر قارچ میکوریزا و کود فسفر بر غلظت رنگیزه های فتوسنتزی و عناصر غذایی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) در شرایط تنش شوری. نشریه بوم شناسی کشاورزی، شماره 2(2 صفحات: 233-244.

خلیقی جمال آباد ا و خارا ج، 1387. تاثیر قارچ میکوریزای آربوسکولار *Glomus intraradices* بر روی تنش اکسیداتیو و برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی در گیاه گندم رقم آذر 2 تحت سمیت کادمیوم. مجله زیست شناسی ایران، شماره 21(2) صفحات:

راهداری پ، 1387. تغییر در روند متابولیسمی در طول تنش‌های غیرزیستی (شوری، خشکی و حرارت) در گیاه چای (Camellia sinessis). مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، شماره 2 (1) صفحات: 45-54.

ربیعی و، طلائی ع، پترلونگر الف، عبادی ع و احمدی ع، 1382. اثر کم آبیاری در آخر فصل بر ترکیبات میوه انگور رقم مرلوت. مجله علوم کشاورزی ایران،شماره 34(4) صفحات: 961-968.

سادات ع، ثواقبی غ، رجالی ف، فرحبخش م، خاوازی ک و شیرمردی م، 1389. تأثیر چند نوع قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری محرک رشد گیاه بر شاخص های رشد و عملکرد دو رقم گندم در یک خاک شور. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، شماره 24(1) صفحات: 53-62.

شریفی م، سادات محتشمیان م، ریاحی ح، آقای الف و علوی س. م، 1390. اثر قارچ اندومیکوریزایی *Glomus etunicatum* بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان. فصلنامه گیاهان دارویی، سال دهم، دوره دوم، شماره مسلسل 38، صفحات: 94-85.

علیزاده ا، مجیدی ا، نادیان ح، نورمحمدی ق و عامریان م ر، 1386. بررسی اثرات تلقیح میکوریزا در سطوح مختلف آبیاری و نیتروژن بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ذرت. یافته های نوین کشاورزی، شماره 1(4) صفحات: 309-319.

کوچکی ع، سلطانی ا و عزیزی م، 1376. اکوفیزیولوژی گیاهی (ترجمه). تألیف والتر لارچر. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. 271 صفحه.

نصیبی، ف. 1390. بررسی اثر غلظت های متفاوت نیتروپروساید سدیم (SNP) در تخفیف صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه گوجه فرنگی. زیست شناسی گیاهی، شماره 3(9) صفحات: 63-74.

Al-Khaliel AS, 2010. Effect of salinity stress on mycorrhizal association and growth response of peanut infected by *Glomus mosseae.* Plant Soil Environment 56 (7): 318–324.

Apel K and Hirt H, 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Rev Plant Biology 55:373–399.

Asrar AWA and Elhindi K.M, 2011. Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. Saudi Journal of Biological Science 18: 93-98.

Bates LS, Waldern RP and Tear ID, 1973. Rapid determination of proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 250-257.

Boomsma CR and Vyn TJ, 2008. Maize drought tolerance: Potential improvements through arbuscular mycorrhizal symbiosis?. Field Crops Research 108: 14–31.

Boureima S, Diouf M, Diop TA, Diatta M, Leye EM, Ndiaye F and Seck D, 2007. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth and the development of sesame (*Sesamum indicum* L.). African Journal of Agricultural Research 3 (3): 234-238.

Cho K, Toler H, Lee J, Ownley B, Stutz JC, Moore JL and Auge RM, 2006. Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. Journal of Plant Physiology 163: 517-528.

Feng G, Zhang FS, Li XL, Tian CY, Tang C and Rengel Z, 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza 12 (4): 185-90.

Gao WJ, 2000. The experimental technology of plant physiology. World Book Press. Xian 89-258.

Giri B and Mukerji KG, 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in Sesbania aegyptiaca and Sesbania grandiflora under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza 14: 307–12.

Heath RL and Packer L, 1968. Photoperoxidation inisolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Krizek DT, Britz SJ and Mirecki RM, 1998. Inhibitory effect of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New RED FIRE lettuce. Physiology Plant 103: 1-7.

Kim SY, Lim JH, Park MR, Kim YJ, Park T, Seo YW, Choi KG and Yun SJ, 2005. Enhanced Antioxidant Enzymes Are Associated with Reduced Hydrogen Peroxide in Barley Roots under Saline Stress. Journal of Biochemistry and Molecular Biology 38 (2): 218-224.

Lichtenthaler HK, 1987. Chlorophylls and cartenoeids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148:350-382.

Pfeiffer CM and Bloss HE, 1987. Growth and nutrition of guayule (*Parthenium argentatum*) in a saline soil as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization. New Phytology 108: 315–21.

Porakbar L and Ashrafi R, 2011. Effect of cadmium on H_2O_2 produce and some of anti-oxidant enzymes action in maize (Zea mays L.). Quarterly Journal of Science Tarbiat Moallem University 9(3), 473-484.

Sairam RK, Deshmukh PS and Saxena DC, 1998. Role of antioxidant systems in wheat, Genotype tolerance to water stress. Biologia Plantarum 41(3): 387-394.

Subramanian KS and Charest C, 1995. influence of arbuscular mycorrhizae on the metabolism of maize under drought stress. Mycorrhiza 5:273-278.

Tatar O and Gevrek MN, 2008. Influence of water stress on proline accumulation, lipid peroxidation and water content of wheat. Asian Journal of Plant Sciences: 1-4.

Tattini M, Galardi C, Pinelli P, Massari R, Remorini D and Agati G, 2004. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. New Phytologist 163: 547-561.

Wanger GJ, 1976. Content and vacuole/extra vacuole distribution of natural sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. Plant Physiology 64: 88-93.

Wu QS, Xia RX, Zou YN and Wang G, 2007. Osmotic solute responses of mycorrhizal citrus (Poncirus trifoliata) seedlings to drought stress. Acta Physiol Plant 29:543–549.

Zhu X, Song F, and Xu H, 2010. Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. Mycorrhiza 20:325–332.