نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار/ جلد ۲۹ شماره ۴ / زمستان ۱۳۹۸

اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر شاخص‌های رشد و جذب عناصر در گیاه آنیسون (*Pimpinella anisum*) در شرایط تنش کم‌آبی

سولماز عبدالهی[۱]، ناصر علی اصغرزاد[۲]، سعید زهتاب سلماسی[۳]، بهمن خوشرو[۴*]

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۲۳

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲-استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳-استاد اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

٤-دانشجوی دکترای بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبه: Email: bahmankhoshru@yahoo.com

چکیده

وضعیت تغذیه‌ای گیاهان دارویی به دلیل دخالت مستقیم آنها در رژیم غذایی انسان دارای اهمیت می‌باشد ازطرفی تنش کمبود آب ممکن است بر میزان جذب عناصر مغذی و تولید زیست توده در این گیاهان تاثیر منفی داشته باشد. شواهدی وجود دارد که نشان می دهد قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* تنش کمبود آب را در گیاهان کاهش و جذب مواد مغذی را بهبود می بخشد. در این پژوهش آزمایش گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با دو فاکتور شامل دو سطح قارچ *P. indica* (تلقیح و عدم‌تلقیح) و سه سطح رطوبت خاک شامل تنش شدید (W_2)%FC ٤٠-٥٠، تنش متوسط (W_1)%FC ٦٠-٧٠ و بدون تنش (W_0)%FC ٨٠-٩٠ در چهار تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که اثرمتقابل تنش کم آبی × قارچ بر روی همه خصوصیات مورفولوژیک به غیر از ارتفاع گیاه معنی‌دار بود ($P<$ ٠/٠٥). در شرایط تنش کم‌آبی شدید (W2)، تلقیح قارچ باعث افزایش وزن خشک بخش هوایی (٢٢/٤٪) و ریشه (٨/٤٪)، شاخص کلروفیل (٩/٤٪)، فلورسانس کلروفیل (٥/٥٪)، غلظت فسفر بخش هوایی (٦١/٣) و ریشه (٦٥/٦٪)، غلظت پتاسیم هوایی (٢٢/٦٪) و ریشه (٢٤/٦٪)، درصد کلنیزاسیون ریشه (١٠٠٪) و عملکرد بذر (٤٧/١٪) در مقایسه با گیاهان شاهد بدون تلقیح شد. همچنین بیشترین مقدار شاخص‌های فوق در سطح رطوبتی بدون تنش (W_0) و حضور قارچ *P. indica* به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آنیسون، تنش کم‌آبی، عناصر مغذی، کلنیزاسیون ریشه، گیاهان دارویی

Effects of Endophytic Fungus *Piriformospora indica* on Growth Indices and Nutrient Uptake by Anise Plant (*Pimpinella anisum*) under Water Deficit Stress Conditions

Solmaz Abdollahi[1], Naser Aliasgharzad[2], Saeed Zahtab Selmasi[3], Bahman Khoshru[4*]

Received: March 10, 2019 Accepted: October 15, 2019
1-MSc of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2-Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3- Prof. Dept. of Plant Eco-physiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
4-PhD Student of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author Email: bahmankhoshru@yahoo.com

Abstract

Nutritional status of medicinal plants is important due to their direct involvement in human dietary. Also, water deficit stress may adversely affect nutrient uptake and biomass production of these plants. There are evidences indicating that endophytic fungus *Piriformospora indica* improves nutrients uptake and mitigates water deficit stress in plants. In this study, a pot culture experiment was conducted in a completely randomized design with factorial arrangement with two factors including two levels of *P. indica* (inoculated and non-inoculated) and soil moisture with three levels of 0.8-0.9 FC (W0), 0.6-0.7 FC (W1) and 0.4-0.5 FC (W2) with four replications. The results showed that the interaction effect of water deficit × fungus on all morphological characteristics except plant height was significant ($P < 0.05$). In severe water deficit stress (W2), fungal inoculation leads to increase in dry weight of shoot (22.4%) and root (8.4%), chlorophyll index (4.9%), chlorophyll fluorescence (5.5%), shoot (61.3%) and root (65.6%) P concentration, shoot (22.6%) and root (24.6%) K concentration, root colonization (100%) and seed yield (47.1%) compared to the un-inocultaed controls. Although the highest values of above mentioned traits were recorded at the highest moisture level (W0) in the presence of *P. indica*.

Keywords: Anise, Medicinal Plants, Nutrients, Root Colonization, Water Deficit Stress

مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز به لحاظ جنبه‌های اقتصادی و دارویی حائز اهمیت بوده‌اند و می‌توانند از منابع مهم درآمدزایی کشور محسوب می‌شوند. صرف نظر از ارزش اقتصادی گیاهان دارویی، این گیاهان قابل تطابق با روش‌های کشت ارگانیک هستند که تمایل تولیدکننده‌ها و مصرف‌کننده‌ها را به همراه دارد (صالحی و همکاران ۲۰۱۱). با توجه به این که در نظام‌های کشاورزی پایدار، کیفیت محصول تولیدی به اندازه کمیت آن دارای اهمیت است، لذا بررسی پاسخ این گیاهان به روش‌های مدیریتی مختلف از جمله تولید آنها بدون کاربرد نهاده‌های مصنوعی و سموم از

اهمیت قابل توجهی برخوردار است (قاسم نژاد و بابایی ۲۰۱۱). گرایش روز افزون به سمت طب گیاهی در درمان بیماری‌ها چه در سطح جهانی و چه در داخل کشور لزوم کشت انبوه انواع گیاهان دارویی را اجتناب ناپذیر می‌نماید (آزاز و همکاران ۲۰۰۹).

آنیسون با نام علمی *Pimpinella anisum* L. یک گیاه علفی، یک ساله و دیپلوئید (۲n=۲۲) می‌باشد که به زیر رده‌ی رزیده[1]، راسته آرالیال‌ها[2]، و تیره چتریان[3] تعلق دارد (آیینه‌چی ۱۹۹۲). منشأ آنیسون سواحل غربی دریای مدیترانه، مصر و آسیای صغیر گزارش شده است. مردم مصر باستان از میوه‌های آنیسون به عنوان یک گیاه دارویی استفاده می‌کردند (امید بیگی ۲۰۰۱). در حال حاضر آنیسون همه ساله در سطوح وسیعی در شرق نواحی مدیترانه، غرب آسیا، نواحی جنوبی اروپا تا مدیترانه، هندوستان، روسیه، خاورمیانه، مکزیک، مصر ، اسپانیا، بلغارستان چین و ژاپن کشت می‌شود (امید بیگی ۲۰۰۱، عسگری و همکاران ۱۹۹۸). انتشار جغرافیایی آنیسون در ایران در مناطق غربی چون کردستان و آذربایجان ذکر شده است (شاره و همکاران ۲۰۰۰).

از جمله عوامل مهمی که بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان دارویی مؤثر است، می‌توان به تنش کم‌آبی اشاره نمود (قنبری و همکاران ۲۰۱۳). آب یکی از عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای در رشد و نمو گیاهان دارویی دارد (چالز و همکاران ۱۹۹۰). کیفیت و کمیت گیاهان دارویی به‌طور خاصی تحت تأثیر ژنتیک، عوامل محیطی و اثر متقابل این دو عامل است (عبدالله و ال-خوشیبان ۲۰۰۷). تنش و محدودیت آب به طور معمول بر مراحل مختلف رشد و نمو گیاهان اثر منفی دارد (ردی و همکاران ۲۰۰٤).

قارچ *P. indica* قارچ اندوفیت از خانواده *Sebacinaceae* و از رده *Basidiomycota* است که توسط وارما و همکاران (۱۹۹۸) در هندوستان شناسایی شدند.

اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد و در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و عوامل بیماری‌زای ریشه و برگ توسط محققین مختلف گزارش شده است (والر و همکاران ۲۰۰۵، سپهری و همکاران ۲۰۰۹). قارچ *P. indica* با افزایش قابل توجه تعداد ریشه، گیاه را در جذب آب و مواد غذایی توانمندتر نموده و سبب افزایش رشد رویشی و سطح فتوسنتزی می‌شود (باجاج و همکاران ۲۰۱٤). اثرات مثبت ناشی از برقراری رابطه همزیستی قارچ اندوفیت *P. indica* بر بقا و افزایش رشد گیاهان میزبان در مناطق خشک و نیمه خشک جهان که با دو معضل عمده خشکی و شوری روبرو هستند، توجه پژوهشگران را به خود جلب نموده است. با توجه به پتانسیل گزارش شده از قارچ *P. indica* در تحقیقات مختلف و اهمیت گیاه آنیسون از جنبه دارویی بودن آن، در این پژوهش اثر قارچ *P. indica* بر بهبود وضعیت رشد و جذب عناصر غذایی گیاه آنیسون در شرایط تنش کم آبی مورد بررسی گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه زادمایه قارچ *P. indica*

این آزمایش به صورت کشت گلدانی در گلخانه گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز با گیاه دارویی آنیسون انجام گرفت. قارچ اندوفیت *P.indica* به صورت کشت خالص از گروه زیست‌شناسی دانشگاه مراغه تهیه شد. این قارچ در محیط کشت کفر[4] به مدت دو هفته در دمای ۲٤ درجه سلسیوس تکثیرگردید. سپس، با استفاده از تیغ اسپاتول استریل شده لایه نازکی از قارچ روی محیط کشت، برداشته شده و با شن استریل شده به طور کامل و یکنواخت مخلوط گردید و به عنوان زادمایه قارچی در کشت گلدانی استفاده شد (فام و همکاران ۲۰۰۸). در هر گرم زادمایه علاوه بر هیف‌های قارچ، حدود 10^4 اسپور بود.

1. Rosidae
2. Aralialis
3. Apiaceace
4. Kaefer

آماده‌سازی خاک

بعد از هوا خشک کردن و عبور از الک دو میلی-متری، ویژگی‌های مهم خاک، شامل EC با روش عصاره گل اشباع با دستگاه EC متر، pH با روش عصاره گل-اشباع با دستگاه pH متر (ریچارد ۱۹۵٤)، بافت خاک به روش هیدرومتر (گی و بادر ۱۹۸٦) ، فسفر قابل جذب با عصاره‌گیری با بی‌کربنات سدیم (اولسن و سومرز ۱۹۸۲)، کربن آلی با روش والکلی بلک (نلسون و سومرز ۱۹۸۲)، پتاسیم قابل جذب با استفاده ازاستات آمونیوم یک نرمال با pH=7 (گوپتا، ۲۰۰۰) و رطوبت ظرفیت مزرعه با استفاد از دستگاه صفحات فشار تعیین گردید. خاک مورد نظر پس از عبور از غربال ٤/۷۵ میلی‌متری در گونی‌های کنفی پرشد و به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ بار در اتوکلاو استریل گردید.

آماده سازی بذر

در ابتدا بذور آنیسون چند بار با آب مقطر شستشو گردید سپس با استفاده از الکل ۹٦ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۰دقیقه ضدعفونی و ٤-۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو گردید. بذرهای ضدعفونی شده به صورت یکنواخت بر روی کاغذ صافی درون پتری-دیش‌های شیشه‌ای انتقال یافتند. لازم به ذکر است که ظروف پتری‌دیش، کاغذ صافی و آب مقطر مورد استفاده قبلاً به مدت نیم ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شده بودند.

کشت گلدانی و اعمال تیمار قارچی

دو کیلوگرم خاک استریل در هر گلدان (گلدان‌ها قبلاً به وسیله پنبه و الکل ضدعفونی شده بودند) ریخته شد حدود ۱۰۰ گرم زاد مایه قارچی به صورت یک لایه نازک، درعمق دو سانتی‌متری از سطح خاک ریخته شد. بذور جوانه‌دار آنیسون در عمق دو سانتی‌متر و بر روی مایه تلقیح قارچی قرار گرفتند. در مورد گیاهان شاهد بدون قارچ، به همان نسبت شن استریل شده اضافه گردید. در هر گلدان ۱۵بذر آنیسون کشت شد. عناصر غذایی نیتروژن از منبع اوره به میزان kgSoil ۲/mg ٤۰۰، فسفر از منبع سوپرفسفات‌تریپل به میزان ۲۰۰ mg/۲kgSoil و پتاسیم از منبع سولفات‌پتاسیم به میزان ۲۰۰ mg/۲kgSoil براساس آزمون خاک و توصیه کودی برای گیاه آنیسون (ملکوتی ۱۳۷۹)، به طور یکنواخت به خاک همه گلدان‌ها قبل از کشت افزوده و به خوبی مخلوط شد. رطوبت گلدان‌ها در ابتدای رشد به روش توزین در ۰/۹FC تنظیم شد. گلدان‌ها در شرایط کنترل شده گلخانه با نور طبیعی و با دمای روز و شب به ترتیب ۲±۲۵ و۲±۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از اینکه ارتفاع گیاهان در گلدان به پنج سانتی‌متر رسید، تیمارهای سطوح رطوبتی اعمال شدند.

اعمال سطوح رطوبتی

جهت اعمال سطوح رطوبتی از روش توزین روزانه گلدان‌ها استفاده شد. برای این‌کار ابتدا درصد رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای برای خاک مورد آزمایش تعیین گردید (کرکهام ۲۰۰۵) و در ادامه سطوح رطوبتی شامل سه سطح تنش شدید (W_2)%FC ٤۰-۵۰، تنش متوسط (W_1)%FC ٦۰-۷۰ و بدون تنش (W_0)%FC ۸۰-۹۰ بودند.

پارامترهای اندازه‌گیری شده قبل از برداشت

پارامترهای اندازه‌گیری شده قبل از برداشت گیاهان شامل ارتفاع گیاه (با خط‌کش)، شاخص کلروفیل برگ (با دستگاه کلروفیل‌سنج Hansatech مدل CL01) و شاخص فلورسانس کلروفیل (با دستگاه فلورومتر مدلOS-130 Opti Science) اندازه‌گیری شد (ماکس ول و جانسون ۲۰۰۰).

پارامترهای اندازه‌گیری شده پس از برداشت گیاهان

اندازه‌گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه

بعد از جدا کردن بذور از بخش هوایی، شاخساره گیاهان از محل طوقه قطع شد و در مورد ریشه نیز پس از جدا کردن ریشه‌ها از خاک، ریشه‌ها به دقت و با مقادیر فراوان آب شسته شدند. بعد از اینکه

آب اضافی آنها با کاغذ خشک‌کن گرفته شد حدود ۰/۵ گرم از ریشه‌های ریز، پس از شستشوی کامل با آب، جهت تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه در الکل اتیلیک ۵۰ درصد تثبیت شدند. کلیه نمونه‌های بخش هوایی و ریشه در داخل پاکت‌های کاغذی به داخل آون منتقل شده و در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت خشک و توزین شدند.

اندازه‌گیری غلظت عناصر در گیاه

هضم نمونه‌های گیاهی به‌روش خشک‌سوزانی

نمونه‌ها بعد از خشک شدن، خرد شده و برای ایجاد نمونه‌ای یکنواخت از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شدند. برای اندازه‌گیری عناصر ، هضم نمونه‌های گیاهی به روش خشک سوزانی انجام گرفت (وسترمن ۱۹۹۰). برای اندازه‌گیری غلظت فسفر (کاتینه ۱۹۸۰) و پتاسیم در عصاره های گیاهی به ترتیب از دستگاه اسپکتروفتومتر (Hack DR/2000) و فلیم‌فتومتر (410 Corning) استفاده شد.

رنگ آمیزی و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ *P. indica*

بخشی از ریشه‌های ظریف و ریز از هر نمونه ریشه گیاه جدا شده و پس از شستشوی کامل با آب به روش کورمانیک و مک گراو (۱۹۸۲) رنگ آمیزی شدند. برای تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه از روش تقاطع خطوط شبکه استفاده شد (نوریف و همکاران ۱۹۹۲، شنک و پرز ۱۹۸۸).

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور، فاکتور اول قارچ شامل دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) و فاکتور دوم رطوبت در سه سطح (%FC(W_2) ۴۰-۵۰، %FC(W_1) ۶۰-۷۰، %FC(W_0) ۸۰-۹۰) در چهار تکرار انجام گرفت. آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها و سپس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین آنها با استفاده از نرم افزار MSTATC و رسم نمودارها با Excel انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

برخی از ویژگیهای خاک مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

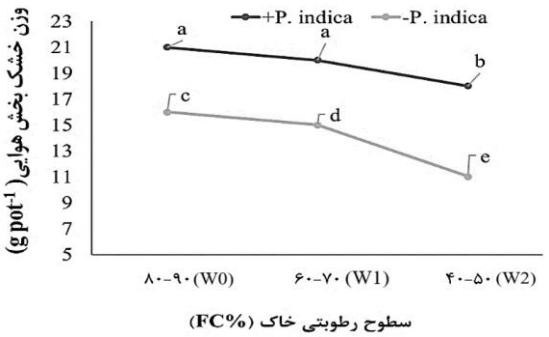
جدول۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

pH	ECe ($dS.m^{-1}$)	Clay(%)	Sand(%)	Silt(%)	بافت خاک	OC(%)	FC(%)	P ($mg.kg^{-1}$)	K ($mg.kg^{-1}$)
۷/۶۴	۱/۸	۷/۳۱	۸۶/۶	۶/۰۹	شن لومی	۰/۲	۲۰	۷/۴	۱۹۸

وزن خشک بخش هوایی و ریشه

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر اصلی و اثر متقابل سطوح رطوبتی خاک × قارچ بر وزن خشک بخش هوایی معنادار بود ($p < ۰/۰۵$). در هر سه سطح رطوبتی خاک بین گیاهان تلقیح شده و نشده اختلاف معنی‌دار وجود داشت و این اختلاف با افزایش تنش بیشتر مشهود بود، و در سطح W_2 این اختلاف کاملاً آشکار بود. مشاهده شد که قارچ توانسته وزن خشک بخش هوایی را در گیاهان تلقیح شده نسبت به تلقیح نشده افزایش دهد طوری که در سطح W_2 (تنش شدید) درصد کاهش در وزن خشک بخش هوایی نسبت به W_0 در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده به ترتیب ۱۷/۲۲ و ۳۹/۷۰ درصد بود (شکل ۱). نتیجه تجزیه واریانس برای وزن خشک ریشه نشان نیز داد که اثر اصلی سطوح رطوبتی خاک و قارچ بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$) ولی اثر متقابل سطوح رطوبتی خاک × قارچ معنی دار نبود. قارچ توانسته بود وزن خشک بخش ریشه را در گیاهان تلقیح شده نسبت به تلقیح نشده

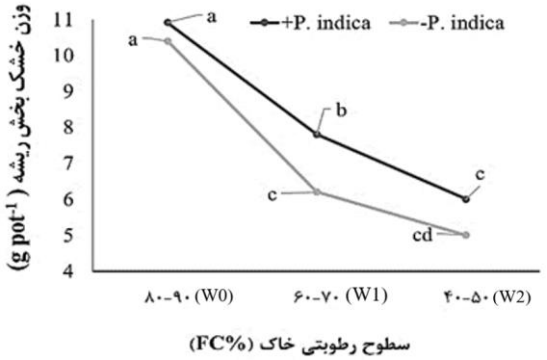
افزایش دهد بـه طـوری کـه در سـطح W_2 (تـنش شـدید) نسبت به W_0 در گیاهان تلقیح شده، ۴۰/۱ درصد کـاهش در وزن خشک بخش هوایی و در تلقیح نشده میزان ایـن



شکل ۱- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ برای وزن خشک بخش هوایی. سطوح رطوبتی شامل سه سطح $\%FC(W_2)$ ۵۰-۴۰، $\%FC(W_1)$ ۷۰-۶۰، $\%FC(W_0)$ ۹۰-۸۰ هستند.

کاهش فتوسنتز، افزایش مواد بازدارنده رشد (ازجمله اسید ابسیزیک) و کاهش هورمون‌های رشد (اکسین و سیتوکینین) در تنش کم‌آبی از جمله عواملی هستند که رشد و وزن خشک اندام هوایی را کاهش می دهند (اوسوقو و همکاران ۲۰۱۰). طی تنش خشکی تعداد روزنه‌ها کاهش و این امر بر میزان ساخت ماده خشک در اندام هوایی تأثیر گذاشته و باعث کاهش وزن خشک گیاهان می‌شود (حاجبی و همکاران ۲۰۰۵). قارچ *P. indica*با افزایش سطح جذب در خاک از طریق گسترش میسیلیوم‌های خود، فراهمی آب و عناصر غذایی را برای گیاه افزایش می‌دهد و این افزایش به نوبه خود سبب می-گردد که میزان فتوسنتز و تولید قندها و مواد ذخیره‌ای افزایش یابد و در نتیجه رشد اندام هوایی و ریشه‌ها افزایش یابد. به نظر می‌رسد میسیلیوم‌های قارچ سطح جذب بالاتری را برای گیاه آنیسون فراهم آورده و از طرفی به نگهداری آب در اطراف آن کمک کرده‌اند و همین مسئله سبب شده است تا در شرایط یکسان گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد آب بیشتری در اختیار

کاهش ۴۸/۵ درصد بود. با این‌حال در تنش شـدید (W_2) اختلاف بین تلقیح شده و نشده معنی‌دار نبود (شـکل ۲).

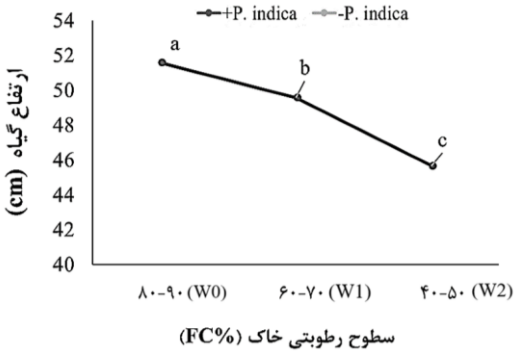


شکل ۲- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ برای وزن خشک بخش هوایی.

داشته باشند. تلقیح گیاه رازیانه با قارچ *P. indica* باعث افزایش معنی‌داری در رشد و زیتوده گیاهان تلقیح شده می‌شود (لیو وهمکاران ۲۰۰۷).

ارتفاع گیاه

نتایج این قسمت نشان داد که اثر اصلی سطوح رطوبتی خاک بر ارتفاع گیاه معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$) ولی اثر اصلی قارچ و اثر متقابل سطوح رطوبتی خاک× قارچ بر ارتفاع گیاه غیر معنی‌دار بود. با افزایش تنش کم‌آبی ارتفاع گیاه روند کاهشی داشت به طوری که، در سطح W_0 بیشترین ارتفاع و در تنش شدید (W_2) کمترین ارتفاع مشاهد گردید. در سطح W_2 نسبت به W_0، ۱۱/۲۳ درصد کاهش در ارتفاع گیاه مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳-اثر اصلی سطوح رطوبتی خاک بر ارتفاع گیاه

باهر و همکاران (۲۰۰۱) تأثیر تنش کم‌آبی را بر ارتفاع و تعداد شاخساره مرزه بررسی و گزارش کردند که بالاترین سطح تنش آبی، ارتفاع بوته و تعداد شاخساره مرزه را بطور معنی‌داری کاهش داد. بررسی تأثیر تنش کم‌آبی روی نعناع فلفلی نیز حاکی از کاهش ارتفاع در گیاهان تحت تنش بود (الکر و همکاران ۱۹۹۳). در طی تنش کم‌آبی کاهش مقدار نسبی آب گیاه باعث کاهش آماس سلول‌ها و در نتیجه کاهش رشد و توسعه آن‌ها شده و برهمین اساس طول ساقه کاهش می‌یابد (سانچز ۱۹۹۸).

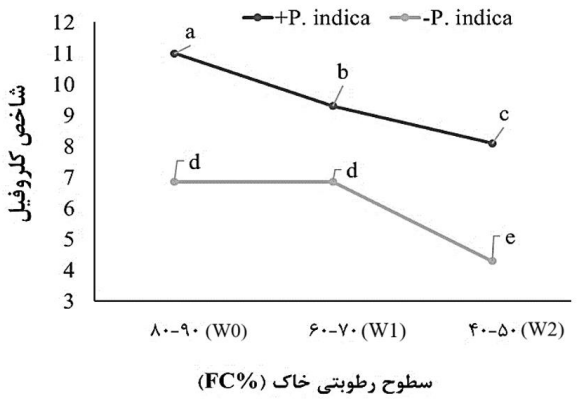
شاخص و فلورسانس کلروفیل

بر اساس نتایج، اثرات اصلی و اثر متقابل سطوح رطوبتی خاک × قارچ بر شاخص و فلورسانس کلروفیل برگ معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). کاهش رطوبت خاک سبب کاهش شاخص و فلورسانس کلروفیل برگ گیاهان تلقیح شده و نشده با قارچ شد. با افزایش تنش کم‌آبی، شاخص و فلورسانس کلروفیل در هر دو گروه تیمار تلقیح شده با قارچ و شاهد (بدون تلقیح) کاهش یافت. در هر سه سطح رطوبتی خاک بین گیاهان تلقیح شده و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت و این اختلاف با افزایش تنش کم‌آبی بیشتر شد، در سطح W_2 این اختلاف کاملاً مشهود بود. قارچ توانست در شرایط رطوبتی یکسان، شاخص و فلورسانس کلروفیل را در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد بدون قارچ افزایش دهد بطوری که درصد کاهش برای شاخص کلروفیل در سطح W_2 نسبت به W_0 در تیمار قارچی و تیمار شاهد به ترتیب ۲۵/۷۷ و ۳۷/۱۷ درصد بود (شکل ٤) و برای فلورسانس کلروفیل نیز در سطح W_2 نسبت به W_0 در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده درصد کاهش به ترتیب ۷/۲۷ و ۱۲/۸۲ درصد بود (شکل ٥).

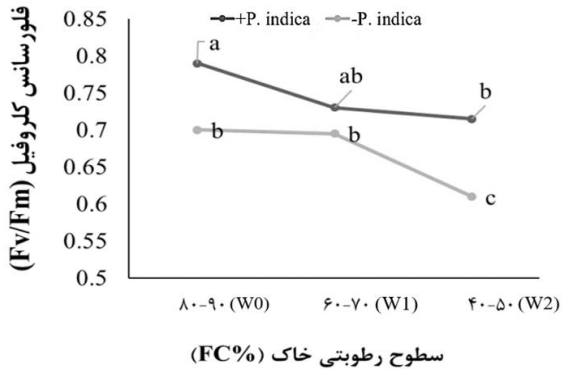
تنش کم‌آبی باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] همراه با کاهش و تجزیه کلروفیل می‌شود. در طی تنش، کلروفیل‌ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوئید ناپدید می‌گردند و باعث کاهش مقدار کلروفیل برگ می‌شود (کافی و همکاران ۲۰۰۹).

شاخص Fv/Fm نشان‌دهنده حداکثر راندمان کوآنتومی فتوسیستم II در شرایطی است که تمام مراکز واکنش فتوسیستم II باز باشند (ماکس ول و جانسون ۲۰۰۰). طبق گزارش پاک نژاد و همکاران (۲۰۰۷) تنش خشکی موجب کاهش فلورسانس متغیر (F_V)، فلورسانس اولیه (F0)، و در نتیجه عملکرد کوانتوم F_V/F_M می‌شود. مقدار F_V/F_M نشان دهنده ظرفیت انتقال فتوسیستم II است که با عملکرد کوانتوم فتوسنتز خالص هبستگی بالایی دارد (انونمیس ۱۹۹۳)، بنابراین در این آزمایش افزایش ۱۲/۸۲درصدی نسبت F_V/F_M در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica*، می‌تواند نشانه افزایش میزان حفاظت نوری باشد و همچنین دلیلی است بر اینکه قارچ بر کارایی فتوسنتز اثر معنی‌داری گذاشته است.

1. Reactive Oxygen Species



شکل ۴- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ برای شاخص کلروفیل برگ

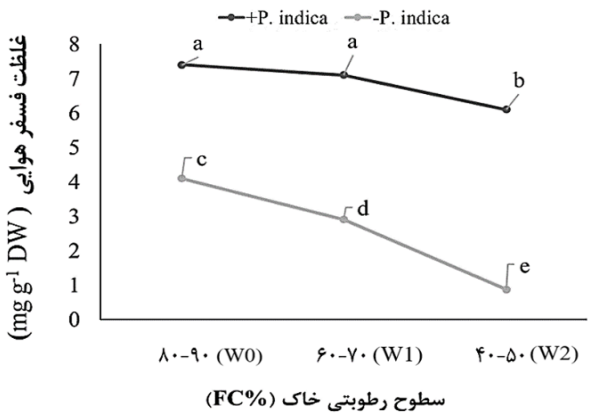


شکل ۵-ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک و قارچ برای فلورسانس کلروفیل. Fv/Fm از فرمول Fm-Fo/Fm بدست می‌آید، در این فرمول، Fm: حداکثر فلورسانس کلروفیل و Fo: حداقل فلورسانس کلروفیل در برگ‌های عادت داده شده به تاریکی هستند. تفاوت Fo و Fm به عنوان فلورسانس متغیر یا Fv نامیده می‌شود.

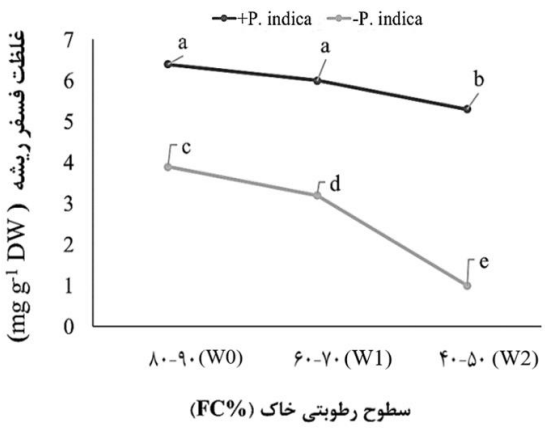
غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه

نتایج نشان داد که اثرات اصلی و اثر متقابل سطوح تنش کم‌آبی × قارچ بر غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). مشاهده شد که کاهش رطوبت خاک سبب کاهش فسفر بخش هوایی و ریشه در گیاهان تلقیح شده و شاهد شده است. در شرایط رطوبتی یکسان قارچ توانست فسفر بخش هوایی را در گیاهان تیمارقارچی نسبت به شاهد بدون قارچ افزایش دهد چنانکه درصد کاهش در فسفر بخش هوایی در سطح W_2 نسبت به W_0 در تیمار تلقیح شده و تلقیح نشده به ترتیب ۲٤/٦۸ و ۸۵/۹۸ درصد بود (شکل ٦). در بخش فسفر ریشه نیز در شرایط رطوبتی یکسان گیاهان تلقیح شده با قارچ دارای فسفر بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده بودند تا آنجایی که درصد کاهش در غلظت فسفر ریشه در سطح رطوبتی W_2 نسبت به W_0 در تیمار قارچی و تیمار شاهد به ترتیب ۲۷/۲٦ و ۹۲/۹ درصد بود (شکل ۷).

گزارش شده خشکی خاک سرعت انتشار موادغذایی را از محیط خاک به سطح جذب کنندهٔ ریشه کاهش می‌دهد (الم ۱۹۹۹). قارچ *P. indica* بر روابط رطوبتی گیاه تأثیر می‌گذارد و باعث افزایش آب موجود در بافت‌های گیاهی می‌شود (ایگو۲۰۰۱). محققان در تحقیقات خود افزایش جذب فسفر توسط گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* را به افزایش سطح جذب، توسعه ریشه و تولید هورمون‌های محرک رشد نسبت دادند (وارما و همکاران ۱۹۹۸، سینگ و همکاران ۲۰۰۰). گوسال و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که تلقیح گیاهچه-های *Chlorophytum borivilianum* *با قارچ* *P. indica* جذب عناصر غذایی از جمله فسفر را بهبود داد. یاداو و همکاران (۲۰۱۰) اثر افزایشی این قارچ بر جذب و انتقال فسفر توسط گیاه را گزارش کردند.



شکل ۶- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ برای غلظت فسفر بخش هوایی



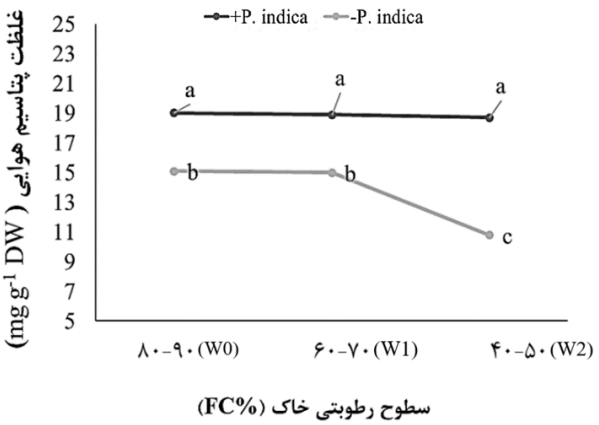
شکل ۷- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ برای غلظت فسفر بخش ریشه

غلظت پتاسیم بخش هوایی و ریشه

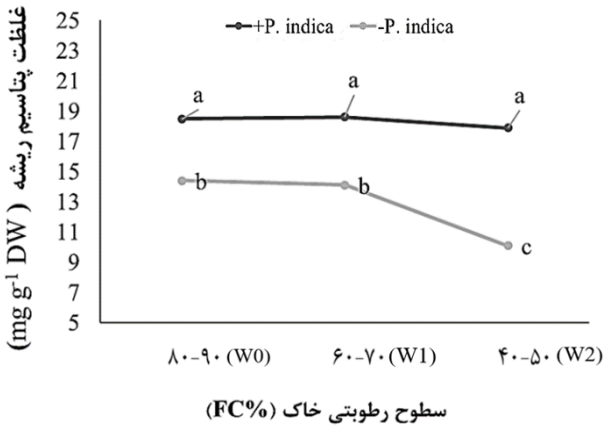
نتایج تجزیه واریانس داده‌های پتاسیم نیز نشان داد که اثرات اصلی و اثر متقابل سطوح رطوبتی خاک × قارچ بر غلظت پتاسیم بخش هوایی و ریشه معنی‌دار بود ($P<$ ۰/۰۵). مشاهده شد که با کاهش رطوبت خاک در گیاهان تلقیح شده اختلاف چندانی مشاهده نشده ولی در گیاهان تلقیح نشده سبب کاهش غلظت پتاسیم گردید. قارچ توانسته بود پتاسیم بخش هوایی و ریشه را در گیاهان تلقیح شده افزایش دهد بطوری که درصد کاهش در پتاسیم بخش هوایی در سطح W_2 نسبت به W_0 در تیمار قارچی و تیمار شاهد به ترتیب ۵/۲۲ و ۲۷/۸۸ درصد بود (شکل ۸). در بخش ریشه نیز با افزایش تنش کم‌آبی، کاهش در غلظت پتاسیم مشاهده شد. کاهش در تیمار شاهد (بدون قارچ) بیشتر از تیمار قارچی بود. درصد کاهش در غلظت پتاسیم ریشه در سطح W_2 نسبت به W_0 در تیمار تلقیح شده و تلقیح نشده به ترتیب ۵/۲۲ و ۲۹/۸۱ مشاهده شد (شکل ۹).

درصد کلنیزاسیون ریشه و عملکرد بذر

بر اساس جدول تجزیه واریانس این بخش، اثرات اصلی تنش کم‌آبی و قارچ بر کلنیزاسیون ریشه‌ها معنی‌دار بود ($P <$ ۰/۰۵). نتایج نشان داد که افزایش شدت تنش کم‌آبی سبب کاهش کلنیزاسیون ریشه‌های گیاهان تلقیح شده با قارچ شده بود. به صورتی‌که درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها در سطح W_2 نسبت به شاهد بدون تنش کم‌آبی (W_0) در تیمار قارچی، ۱۲/۵۹ درصد کاهش نشان داد (شکل ۱۰). در گیاهان شاهد (تلقیح نشده) هیچ گونه اندام قارچی مشاهده نشد.



شکل ۸- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ بر غلظت پتاسیم بخش هوایی

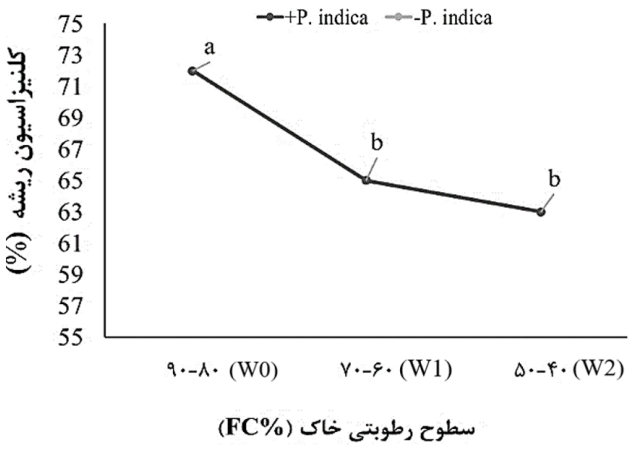


شکل ۹- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ برای غلظت پتاسیم بخش ریشه

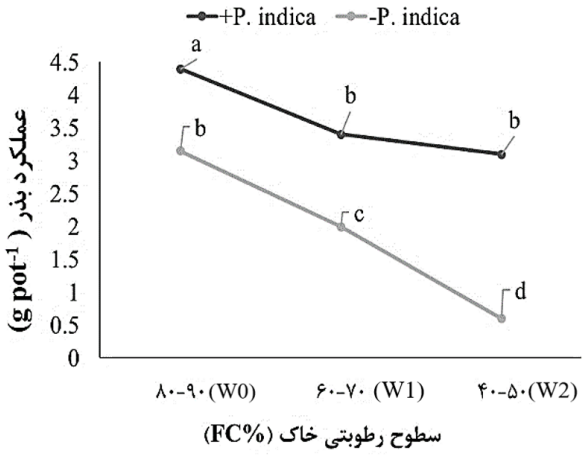
در میان عناصر غذایی، پتاسیم در باز و بسته کردن روزنه‌ها و نیز تنظیم اسمزی در سلول‌های ریشه گیاهان نقش بسزایی دارد. قابلیت گیاهان در جذب این عنصر از محیط ریشه در شرایط نامساعد محیطی همانند خشکی و شوری می‌تواند در میزان عملکرد گیاه مؤثر باشد (اگنیو و وارن ۱۹۹٦). رحیمی و همکاران (۲۰۱٤) اظهار کردند که قارچ *P. indica* درگیاهان تلقیح شده سهولت ورود پتاسیم به سیتوپلاسم گیاهان را افزایش می‌دهد و گیاه را در مقابل تنش کم‌آبی مقاوم می‌سازد.

در نتایج بخش عملکرد بذر نیز اثرات اصلی و متقابل سطوح رطوبتی خاک × قارچ معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). با افزایش تنش کم‌آبی، عملکرد بذر در هر دو گروه تیمار تلقیح شده با قارچ و شاهد (بدون قارچ) کاهش یافت. در هر سه سطح تنش کم‌آبی بین گیاهان شاهد و تیمارقارچی اختلاف معنی‌دار وجود داشت و این اختلاف با افزایش تنش بیشتر مشهود بود، بطوری‌که در سطح W_2 این اختلاف کاملاً مشهود بود. همچنین در شرایط رطوبتی یکسان قارچ توانسته بود عملکرد بذر را در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده افزایش دهد چنان که درصد کاهش در عملکرد بذر در سطح W_2 نسبت به W_0 در تیمار قارچی و تیمار شاهد به ترتیب ۳۳/۰٦ و ۸۰/۱۵ درصد بود (شکل ۱۱).

پژوهش‌ها نشان داده است که پس از تلقیح قارچ، اسپور قارچ *P.indica* قادر است که درسطح ریشه گیاهان کنگرفرنگی جوانه زده و در سطح ریشه گسترش یابد و تعداد ریشه را نسبت به گیاهان غیره-آلوده افزایش دهد (قاسم نژاد و بابایی زاد ۲۰۱۱). کاهش معنی‌دار درصد کلنیزاسیون با افزایش سطح تنش کم‌آبی، احتمالاً به علت کاهش در تندش و رشد هیف می‌باشد. مرحله مهم‌تر بعد از تندش اسپور، رشد هیف حاصل از تندش است که نقش اساسی در کلنیزاسیون ریشه ایفا می‌کند. به ظاهر رشد هیف بیشتر از تندش اسپور تحت تأثیر پتانسیل اسمزی قرار می-گیرد (علی‌اصغرزاد ۲۰۱۰).



شکل ۱۰- اثر اصلی سطوح رطوبتی خاک بر کلنیزاسیون ریشه



شکل ۱۱- ترکیب تیماری سطوح رطوبتی خاک × قارچ برای عملکرد بذر

عملکرد دانه و ماده خشک گیاهان زراعی از جمله مهمترین صفاتی هستند که به دنبال کاهش فتوسنتز ناشی از وقوع تنش کمبود آب کاهش می‌یابند (کوچکی و همکاران ۱۹۹۵). لیو وهمکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که افزایش وزن دانه در اثر تلقیح قارچ *P. indica* را می‌توان به افزایش فتوسنتز و انتقال شیره پرورده بیشتر به دانه در مرحله پر شدن در اثر بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط قارچ *P. indica* دانست که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش استفاده از قارچ شبه میکوریزی *P. indica* نسبت به شاهد بدون قارچ، از لحاظ تأثیر بر شاخص‌های اندازه‌گیری مثبت ارزیابی شد، قارچ مذکور در کاهش اثرات منفی تنش کم‌آبی نیز از کارایی بالایی برخوردار بود. مشخص شد که تنش کم‌آبی یکی از عوامل تاثیرگذار بر شاخص‌های رشد گیاه آنیسون و نیز درصد کلنیزاسیون می‌باشد و با افزایش تنش کم-آبی، رشد گیاه و درصد کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ کاهش می‌یابد. مشخص گرید که در هر سطح رطوبتی، شاخص‌های رشد گیاه در تیمار قارچی بیشتر از بدون قارچی بودند. به طور کلی می‌توان گفت که قارچ *P. indica* با بهبود شرایط جذب آب و عناصر فسفر و پتاسیم باعث افزایش مقاومت در گیاه دارویی آنیسون به تنش کم‌آبی و بهبود وضعیت عمومی گیاه شده است و این امر می‌تواند برای کشت سایر گیاهان دارویی کشور ایران که بیشتر دارای اقلیم خشک و نیمه خشک می‌باشد از اهمیت بالایی برخوردار باشد.

منابع مورد استفاده

Abdalla MM and El-Khoshiban NH. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Science Research, 3(12): 2062-2074.

Agnew C and Warren A. 1996. A framework for tackling drought land degradation. Journal of Arid Environments, 33: 310-320.

Alam SM. 1999. Nutrient uptake by plants under stress condition, In: M. Pessarakli (ed.), Handbook of plant and crop stress, Marcel Dekker Inc., 285-315.

Ali Asgharzadn. 2010. Soil Microbiology and biochemistry. Tabriz University Press. (In Persian).

Alkire BH, Simon JE, Palevitch D and Putievsky E. 1993. Water management for Midwestern peppermint (*Mentha piperita* L.) growing in highly organic soil. Indiana, USA. Acta Horticulturae, 344: 544-556.

Anonymous. 1993. An introduction to fluorescence measurements with the plant efficiency analyzer. (PEA) Hansatech Instruments Ltd. England.

Asgari F, Sefidkan F and Mirza M, 1998. Quantitative and qualitative study of the compounds found in Roman anemone essential oils. Research and Building, 38: 73-70

Auge RM. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza, 11: 3-42.

Aynechi Y. 1992. Pharmacognosy and Medicinal Plants. 2th eds, Tehran University Press, p. 1069. (In Persian).

Azzaz NA, Hassan EA and Hamad EH. 2009. The Chemical constituent and vegetative and yielding characteristics of fennel plants treated with organic and biofertilizer instead of mineral fertilizer. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(2): 579-587.

Baher Z, Rezayi MB, Mirza M and Abbaszadeh B. 2001. Investigation of quantitative and qualitative changes of *Saturea* essential oil during drought stress. Research of Medicinal and Aromatic Plants, 11:12-22. (In Persian).

Bajaj R, Agarwal A, Rajpal K, Asthana S, Prasad R, Kharkwal A, Kumar R, Sherameti I, Oelmu¨ller R and Varma A, 2014. Co-cultivation of *Curcuma longa* with *Piriformospora indica* enhances the yield and active ingredients. American Journal of Current Microbiology, 2: 6-17.

Charles DJ, Joly RJ and Simon JE. 1990. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry, 29: 2837-2840.

Cottenie A. 1980. Soil and Plant Testing. FAO Soils Bulletion, 38 (2): 94-100.

Gee GW and Bauder JW. 1986. Partical-size analysis. pp 383- 411. In: Klute A (ed.). Methods of Soil Analysis: Physical and Mineralogical Methods. Part 1,2nd (ed.) Soil Sience Society of America, Madison, Wisconsin, United States of America.

Ghanbari A, Shakiba MR, Toorchi M and Choukan R. 2013. Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. European Journal of Experimental Biology, 3:487-492.

Ghasem Nejad A and Babayizad V. 2011. Vegetative growth and Caffeic acid content of *Cynara scolyms* L. influenced by *Piriformospora indica*. Journal of Plant Production Research, 18(1): 133-140. (In Persian).

Gosal S, Karlupia A, Gosal S, Chhibba I and Varma A. 2010. Biotization with *Piriformospora indica* and *Pseudomonas fluorescens* improves survival rate, nutrient acquisition, field performance and saponin content of micropropagated *Chlorophytum sp.* India Journal of Biotechnology, 9: 289-297.

Gupta PK. 2000. Soil, Plant Water and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi, India.

Hajabi A, and Heidari Sharifabad H. 2005. The effect of drought on growth and knotting of three species of clover. Journal of Agriculture and Gardening Research, 18(66): 21-13.

Kirkham MB. 2005. Principles of Soil and Plant Water Relations. Academic Press, p. 520.

Kochaki A, Hosseini M and Nasiri Mahallati M. 1995. Water and Soil Relationship in Crops. University of Mashhad Press, p. 560. (In Persian).

Kormanik P and McGraw A. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots, P 37-45. In: Schenck, N.C. (Ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota.

Kufi M, Borzouyi A, Salehi M, Kamandi A, Masoumi A and Nabati J. 2009. Physiology of Environmental Stresses in Plants. University of Mashhad Press. (In Persian).

Liu A, Plenchette C and Hamel C. 2007. Soil nutrient and water providers: howarbuscular mycorrhizal mycelia support plant performance in a resourcelimited world. In: Hamel, C., Plenchette, C. (Eds.), Mycorrhizae in Crop Production. Haworth Food & Agricultural Products Press, Binghamton, 37–66.

Malakouti MJ. 2000. Recommended fertilizer recommendation for Crop and Gardening. Technical Journal, No. 200, Institute of Water and Soil Research, Agricultural Education Publication.

Maxwell K and Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. Journal of Experimental Botany, 51: 659- 668.

Nelson DW and Sommers LE. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. Pp. 539–579. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR (eds). Methods of Soil Analysis, part 2. American Society of Agronomy, Soil Sience Society of America. Madison, Wisconsin.

Norrif IR, Read DJ and Varma AK. 1992. Methods in Microbiology Techniques for Study of Mycorrhiza. Academic press, London.

Olsen SR and Sommers LE. 1982. Phosphorus. pp: 403-430. In: Page AL, (ed.) Methods of Soil Analysis, Chemical and Microbiological Properties. Part 2. American Society of Agronomy, Soil Sience Society of America. Madison, Wisconsin.

Omidbeyghi R and Azizi M. 2001. Effect of harvest time on the value of the hiprisine and essential oils of flowers raei. Reconstruction Research, 19(2): 164-155.

Paknejad F, Nasri M, Tohidi Moghadam HR, Zahedi H and Jami Alahmad M. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluoresence parameters chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. Journal of Biological Sciences, 7(6): 841-847. (In Persian).

Pham GH, Singh A, Malla R, Kumari R, Prasad R, Sachdev M, Rexer KH, Kost G, Luis P, Kaldorf M and Buscot F. 2008. Interaction of *Piriformospora indica* with diverse microorganisms and plants. In *Plant surface microbiology* (pp. 237-265). Springer, Berlin, Heidelberg.

Rahimi Tanha Sh, Ghasemnezhad A and Babaeizad V. 2014. A study on the effect of endophyte fungus, *Piriformospora indica*, on the yield and phytochemical changes of *Cynara scolymus* L. leaves under water stress. International journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 6(2): 1907-1921.

Reddy AR, Chaitanya KV and Vivekanandan M. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161: 1189-1202.

Richardes LA. 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. United States Salinity Laboratory Staff. Agriculture Handbook 60. United States Department of Agriculture, 160p.

Salehi A, Ghalavand A, Sefidkan F and Asgharzadeh A, 2011. Effect of zeolite application, microbial inoculation and vermicompost on the concentration of N, P, K essential oil and essential oil yields in organic culture of *Matricaria recutita* L., Scientific Journal of Iranian Herbs and Flowers, 27(2): 201-188. (In Persian).

Sanchez FJ, Manzanares M, Andres EF, Ternorio JL, Ayerbo L and Deandles EF. 1998. Turgor maitenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crop Research, 59: 225- 235.

Schenck NC and Y perez. 1988. Mannual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. INVAM, 1453 Fifield Hall, University of Florid, Gainesville, Flo, USA. 241p.

Sepehri M, Saleh Rastinin N, Hosseini Salqadeh G and Khayyam Nekoyei M. 2009. Investigation of the effect of *Piriformospora indica* endophyte on improvement of growth and increasing the resistance of *Hordeum vulgare* to salinity. Journal of Rangeland, 3(3): 518-508.

Shareh M. 2000. Effect of plant density and frequency of weed control on yield and its components of *Anisum*. MSc. Thesis. Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Ferdosi University of Mashhad.

Singh A, Sharma J, Rexer KH and Varma A. 2000. Plant productivity determinants beyond minerals, water and light. Piriformospora indica revolutionary plant growth Promoting fungus. Current Science, 79: 101-106.

Varma A, Savita S, Sahay N, Butehorn B and Franken P. 1998. *Piriformos poraindica*, a cultivable plantgrowth- promoting root endophyte. J. Appl.Environ. Microbiol. 65: 2741-2744.

Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, Heier T, Hckelhoven R, Neumann C, Von Wettstein D, Franken P and Kogel K. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(38): 13386-13391.

Westerm RL. 1990. Soil testing and plant analysis. Soil Science Society of American. Madison Wisconisn, United States of America.

Yadav V, Kumar M, Deep DK, Kumar H, Sharma R, Tripathi T, Tuteja N, Saxena AK and Johri AK. 2010. A phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant. Journal Biological Chemistry, 285: 26532-26544.