

تأثیر قارچ شبه میکوریز *Piriformospora indica* بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) تحت تنش کم آبی

ستاره امانی فر*^۱، الهه وطن خواه^۲، زهره طرنگار^۲، سمیه اکبری واحد^۳

۱- استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: amanifar@znu.ac.ir

چکیده

قارچ اندوفیت ریشه‌زی *Piriformospora indica* محرک رشد گیاه بوده و سبب القای مقاومت در گیاه میزبان تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود. به منظور بررسی اثر تلقیح قارچ *P. indica* در شرایط کم آبی بر گیاه یونجه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو سطح قارچ (تلقیح و عدم تلقیح با قارچ *P. indica*) و دو سطح رطوبتی (۱۰۰٪ آب قابل استفاده (AW) و ۳۰٪ آب قابل استفاده (AW)) بود. گیاهچه‌های یونجه (*Medicago sativa* L.) تلقیح شده با قارچ و گیاهچه‌های بدون تلقیح به مدت ۴۵ روز در معرض تنش کم آبی قرار گرفتند. زیست توده بخش هوایی و ریشه‌ها در اثر کلونیزاسیون قارچی افزایش یافتند که حاکی از تحریک رشد گیاه توسط قارچ می‌باشد. تنش کم آبی بطور معنی‌داری سبب کاهش زیست‌توده، محتوای نسبی آب برگ‌ها و محتوای عناصر گردید. در این آزمایش کلونیزاسیون قارچی منجر به افزایش معنی‌دار محتوای فسفر و روی، پرولین و پروتئین بخش هوایی، محتوای آهن و فنل ریشه‌ها، همچنین محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها تحت تیمار AW ۳۰٪ در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح گردید. همچنین محتوای مالون دی-آلدئید در گیاهان تلقیح شده در هر دو سطح رطوبتی بطور معنی‌داری کمتر از گیاهان بدون تلقیح قارچی بود. به طور کلی نتایج ما حاکی از آن است که تلقیح با قارچ *P. indica* اثر تنش کم آبی را در گیاه یونجه تعدیل می‌نماید و تلقیح با این قارچ روش موثری در کاهش اثرات مضر تنش کم آبی در گیاه میزبان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پاسخ‌های بیوشیمیایی، پاسخ‌های رشدی، تنش کم آبی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، *Piriformospora indica*، گیاه یونجه

The Effect of Mycorrhiza-Like Fungus *Piriformospora indica* on Some Physiological and Biochemical Responses of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) under Water Deficit Stress

S Amanifar^{1*}, E Vatankhah², Z Toghranegar², S Akbari-Vahed³

¹Assist. Prof., Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

²Assist. Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran

³M.Sc. Graduate, Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran

*Corresponding Author, Email: amanifar@znu.ac.ir

Abstract

The root endophyte *Piriformospora indica* is plant growth promoting and induces tolerance to biotic and abiotic stresses in plants. To assess the effect of *P. indica* inoculation on *Medicago sativa* L. plants under water deficit stress, a trial was conducted in a factorial experiment based on completely randomized design with combination of two factors, soil moisture levels (100% AW (Available Water) and 30% AW) and fungi (inoculated with *P. indica* and non-inoculated) in three replications. The *M. sativa* seedlings (inoculated or non-inoculated) were exposed to water deficit stress for the 45 days. The plant shoot and root biomass were increased by fungal inoculation that indicated growth promoting effect of *P. indica*. A significant decrease in plant biomass, leaf relative water content and mineral content were observed under water deficit stress. In this study fungal inoculation caused a significant increase in P, Zn, proline and protein contents in shoot and root, root phenol and Fe contents as well as chlorophyll and carotenoid contents at 30% AW in comparison with those in non-inoculated plants. Also, malondialdehyde in inoculated plants was lower than that in non-inoculated plants under both moisture levels. Generally, our results showed that the *P. indica* inoculation counteracted water deficit stress conditions in *M. sativa* and it could be proposed as a useful tool for alleviating the adverse effects of water deficit stress in host plant.

Keywords: Biochemical responses, Growth responses, *Medicago sativa* L., Photosynthetic pigments, *Piriformospora indica*, Water deficit stress.

مقدمه

می‌دهد. مطالعات در این زمینه به ویژه در دهه اخیر نشان‌دهنده پتانسیل ویژه قارچ شبه میکوریزی *Piriformospora indica* در بهبود تحمل شرایط نامطلوب رشدی در گیاه میزبان می‌باشد. این قارچ اندوفیت ریشه‌زی، محرک رشد گیاه بوده و سبب القای مقاومت در گیاه میزبان تحت تنش‌های زیستی و غیر-زیستی می‌شود و بنابراین به عنوان یک کود زیستی و عامل بیوکنترل شناخته شده است (سرفلینگ و همکاران ۲۰۰۷). این قارچ از شاخه بازیدیومیکوتا و متعلق به خانواده جدید سباسیناسه می‌باشد و دارای خصوصیات مشابه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار است (وارما و همکاران ۲۰۰۱). علاوه بر این، در

تنش کم‌آبی بیشتر از هر عامل محیطی دیگری رشد گیاهان را محدود می‌کند و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرآیندهای متابولیکی آن دارد. جذب عناصر غذایی و آب قابل دسترس توسط ریشه‌های گیاه ارتباط نزدیکی با هم دارند به طوری که روابط آبی همه فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه را که با حلالیت و قابل دسترس بودن عناصر غذایی ارتباط دارند، تحت تأثیر قرار می‌دهد (انجوم و همکاران ۲۰۱۱). امروزه تحقیقات وسیع در رابطه با گیاهان دارای همزیست قارچی نشان می‌دهند که رابطه گیاه - میکروارگانسیم با افزایش توان جذب آب و مواد غذایی، رشد، تغذیه و مقاومت گیاه میزبان را به تنش‌های محیطی افزایش

indica کاهش بهره‌وری فتوسنتزی، تخریب کلروفیل و پروتئین‌های تیلاکوئیدی ناشی از تنش خشکی را به تعویق می‌اندازد. تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر تلقیح قارچ *P. indica* در کاهش اثرات مخرب کم‌آبی در گیاه یونجه و همچنین بررسی تأثیر همزیستی قارچ *P. indica* بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه یونجه طی تنش کم آبی انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

به منظور ضدعفونی سطحی بذره‌های یونجه (*Medicago sativa* L.) از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۶۰ ثانیه و به دنبال آن از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. جدایه قارچ *P. indica* (جدایه قارچ از دانشگاه مراغه، گروه زیست‌شناسی تهیه شد) در ابتدا در محیط جامد کافر کشت شد (هیل و کافر ۲۰۰۱). جهت کاربرد قارچ *P. indica* در خاک، از محیط کشت PDB^۲ به همراه پپتون (۰/۲٪)، عصاره مخمر (۰/۱٪) و کازامینو اسید (۰/۱٪) استفاده شد. در این مرحله، ۱۰ قطعه از آگار کلونیزه شده با قارچ از محیط کشت جامد کافر به درون ارلن مایر ۱۰۰۰ میلی-لیتر حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع اضافه شد و به مدت ۱۰ شبانه‌روز بر روی شیکر با دور ثابت ۲۰۰ دور در دقیقه در دمای ثابت 28 ± 2 درجه سلسیوس شیک گردید. بافت خاک مورد استفاده لوم شنی با pH ۷/۳ (در گل اشباع) و هدایت الکتریکی آن ۰/۶۲ دسی‌زیمنس بر متر (در عصاره گل اشباع) بود. همچنین رطوبت وزنی ظرفیت مزرعه‌ای (FC) (در مکش معادل ۱۰ کیلوپاسکال)، نقطه پژمردگی (PWP) (در مکش معادل ۱۵۰۰ کیلوپاسکال) و آب قابل استفاده (AW)^۳ (که از تفاضل مقدار رطوبت خاک در ظرفیت مزرعه‌ای خاک و نقطه پژمردگی محاسبه می‌شود) تعیین شد (کلوت ۱۹۸۶) که به ترتیب برابر ۱۴/۳، ۵/۲ و ۹/۱ درصد وزنی بود. گلدان‌ها ضد عفونی شده و

مقایسه با قارچ‌های میکوریزی که همراه با میزبان رشد می‌کنند این قارچ مزیت‌های دیگری از جمله توانایی رشد در غیاب میزبان در محیط کشت و قابل کشت بودن در محیط درون شیشه‌ای را دارد. هیف‌های این قارچ در سطح ریشه و درون سلول‌های لایه خارجی ریشه گسترش می‌یابد ولی همانند قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، آربوسکول پدید نمی‌آورد (وارما و همکاران ۱۹۹۹). مطالعات نشان داده است که *P. indica* باعث افزایش زیست توده و عملکرد گیاه میزبان می‌شود و همین‌طور باعث افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد. مطالعات در رابطه با برهمکنش قارچ *P. indica* با گیاهان مدل و نمونه‌های جهش یافته ثابت کرده است که این قارچ باعث ارتقاء رشد، افزایش جذب مواد مغذی و انتقال آن، افزایش بهره‌وری فتوسنتز و تعدیل هورمون‌های گیاهی دخیل در رشد و توسعه گیاهی می‌شود (وارما و همکاران ۲۰۱۲، فرنکن ۲۰۱۲، اولمولر و همکاران ۲۰۰۹). از آنجا که ارتباط قارچ‌ها با گستره وسیعی از گونه‌های گیاهی امکان‌پذیر است بنابراین بسیار محتمل است که *P. indica* نیز از سازوکارهای عمومی و نه اختصاصی در برقراری رابطه با گیاه میزبان تبعیت می‌کند (واداسری و همکاران ۲۰۰۹). این قارچ برای اولین بار از بیابان تار^۱ در شبه قاره هند جداسازی شده است. از این رو به نظر می‌رسد که این قارچ به ویژه در شرایط خشکی به رشد بهتر گیاه میزبان یاری می‌رساند (پسکان-برگوفر و همکاران ۲۰۰۴، والر و همکاران ۲۰۰۸، وارما و همکاران ۱۹۹۹). وارما و همکارانش در سال (۲۰۱۲) بیان کردند که این قارچ از راه‌های مختلف نظیر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، اسمولیت‌ها (به خصوص پرولین) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی موجب افزایش تحمل به خشکی در گیاه میزبان می‌شود. همچنین سان و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که قارچ *P.*

^۲ Potato Dextrose Broth (PDB) medium

^۳ Available Water (AW)

^۱ Thar Desert

کاروتنوئیدها با استفاده از روش لیشتنتالر و بوشمن (۲۰۰۱) انجام شد و با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد. در این روابط W: وزن تر نمونه برحسب گرم، A: جذب نور در طول موج‌های موردنظر و V: حجم محلول صاف شده می‌باشد.

$$\text{Chl.a (mg/g FW)} = (12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}) / 1000W$$

$$\text{Chl. b (mg/g FW)} = (21.50 A_{646.8} - 5.10 A_{663}) / 1000W$$

$$\text{Chl. T (mg/g FW)} = \text{Chl. a} + \text{Chl. b}$$

$$\text{Car (mg/g FW)} = 1000 A_{470} - 1.82 \text{ Chl. a} - 85.02 \text{ Chl. b} / 198$$

سنجش قندهای محلول با استفاده از معرف آنترون و براساس روش روئه (۱۹۵۵) تعیین گردید و مقادیر قند محلول نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد گلوکز بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. سنجش مقدار پرولین با استفاده از معرف نین هیدرین و بر اساس روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت. محتوای فنل کل براساس روش نیکنام و ابراهیمزاده (۲۰۰۲) و با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو اندازه‌گیری شد و برای محاسبه مقدار فنل از نمودار استاندارد اسید گالیک استفاده شد. برای سنجش پروتئین از معرف برادفورد استفاده شد (برادفورد ۱۹۷۶) و میزان جذب عصاره درطول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای رسم نمودار استاندارد از آلبوم سرم گاوی استفاده گردید و مقدار پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. همچنین برای سنجش مالون دی آلدئید از روش هیس و پکر (۱۹۶۸) استفاده شد. آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت اندازه‌گیری عناصر با استفاده از خشک سوزانی و انحلال خاکستر گیاهی در اسید کلریدریک به روش والینگ و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد. به منظور اندازه‌گیری غلظت عناصر آهن و روی از دستگاه جذب اتمی استفاده شد و جهت

در داخل هر کدام از آن‌ها خاک اتوکلاو شده به مقدار ۱/۵ کیلوگرم ریخته شد و به ازای هر گلدان ۲ گرم (وزن تر) مایه تلقیح قارچ شامل میسلیم به همراه کلأمیدوسپوره‌های متصل به آن که از کشت مایع توسط فیلتر کردن استخراج و خرد شده بود، با بخش فوقانی خاک گلدان مخلوط و بذره‌های جوانه‌دار یونجه بر روی آن قرار داده شد. در گلدان‌های با تیمار بدون قارچ، همان میزان مایه تلقیح اتوکلاو شده بکار برده شد. گلدان‌ها تا پایان آزمایش در اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، شدت نور ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و دمای 26 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند. آبیاری گلدان‌ها تا قبل از مرحله چهاربرگی تا حد FC برای همه گلدان‌ها انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل یک سطح آبیاری طبیعی در حد ظرفیت مزرعه‌ای که معادل ۱۰۰٪ آب قابل استفاده (بدون تنش) می‌باشد و تنش ۳۰ درصد آب قابل استفاده بود که به مدت ۴۵ روز اعمال گردید. میزان تخلیه رطوبتی خاک با توزین روزانه گلدان‌ها کنترل و آبیاری انجام شد. جهت تأیید برقراری رابطه همزیستی حدود یک گرم از ریشه‌های ظریف و ریز از هر گلدان جدا و با استفاده از تریپان بلو رنگ‌آمیزی شدند (فیلیپس و هیمن ۱۹۷۰) و با تقسیم تعداد قطعات ریشه کلونیزه شده به تعداد کل قطعات بررسی شده (برحسب درصد) درصد کلونیزاسیون محاسبه شد. پس از برداشت گیاه وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه‌ها اندازه‌گیری شد. محتوای نسبی آب برگ (RWC) از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{RWC (\%)} = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

در این رابطه FW عبارت است از وزن تر دیسک‌های برگ، TW: وزن دیسک‌های برگ پس از ۲۴ ساعت غوطه‌ور سازی در آب مقطر و DW: وزن خشک دیسک‌های برگ در حالت تورژسانس کامل (ودرلی ۱۹۵۰). اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کلروفیل کل و

اندازه‌گیری فسفر از روش رنگ‌سنجی وانادات-مولیبدات استفاده گردید (کاتنیه و همکاران ۱۹۸۰). این پژوهش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طراحی شد. فاکتور اول شامل تلقیح با قارچ *P. indica* (Pi) و عدم تلقیح (NI) و فاکتور دوم شامل دو سطح رطوبتی بدون تنش کم‌آبی (۱۰۰٪AW) و با تنش کم‌آبی (۳۰٪AW) بود. تحلیل داده‌ها با استفاده از مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال $p \leq 0.05$ با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شد. همچنین رسم نمودارها با نرم افزار Excel 2010 انجام گرفت.

نتایج و بحث

تأیید حضور قارچ در ریشه: کلونیزاسیون

موفقیت‌آمیز قارچ در سلول‌های پوست ریشه یونجه (در تیمارهای تلقیح شده) با حضور هیف‌ها و کلامیدوسپور قارچی تأیید شد. اثر قارچ ($p \leq 0.01$)، تنش کم‌آبی و اثر متقابل آنها بر درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها ($p \leq 0.05$) معنی‌دار بود (جدول ۱). درصد کلونیزاسیون در گیاهان تلقیح شده تحت تیمار ۱۰۰٪AW و ۳۰٪AW به ترتیب ۴۷/۱٪ و ۳۴/۳٪ به دست آمد و در گیاهان بدون تلقیح هیچ کلونیزاسیونی مشاهده نشد (۰/۰٪) که تفاوت‌های مشاهده شده معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). به نظر می‌رسد کاهش میزان کلونیزاسیون قارچی در ارتباط با کاهش رشد گیاه تحت تنش کم‌آبی و کاهش منابع کربن قابل ارائه به همزیست قارچی باشد (یعقوبیان و همکاران ۲۰۱۴).

صفات رشدی و RWC: مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر متقابل قارچ و کم‌آبی و اثر تنش کم‌آبی بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه معنی‌دار بود. تلقیح با قارچ اثر معنی‌داری بر وزن تر بخش هوایی و ریشه گیاه نشان نداد ولی اثر آن بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه معنی‌دار بود. بیشترین وزن تر بخش هوایی و ریشه در تیمار

۱۰۰٪AW و تلقیح شده با قارچ مشاهده شد و کمترین نیز در سطح ۳۰٪AW و بدون تلقیح با قارچ مشاهده گردید (شکل ۱-E). تحت شرایط کم-آبی، جذب مواد غذایی از طریق ریشه به دلیل کاهش حجم آب خاک و همچنین کاهش توزیع عناصر غذایی در بافت خاک کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که بالا بودن وزن خشک در شرایط عدم تنش به دلیل سهولت در جذب و انتقال مواد غذایی به بخش‌های هوایی و گسترش و تداوم بهتر سطح برگ می‌باشد (انجوم و همکاران ۲۰۱۱). همانند قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، همزیستی قارچ *P. indica* منجر به افزایش زیست توده ریشه و بخش هوایی می‌شود (اولمولر و همکاران ۲۰۰۹، فرنکن ۲۰۱۲). در این همزیستی قارچ منجر به تغییراتی در پروتئوم و متابولوم

۱۰۰٪AW و تلقیح شده با قارچ مشاهده شد و کمترین نیز در سطح ۳۰٪AW و گیاهان بدون تلقیح مشاهده گردید (شکل‌های ۱-A و ۱-B). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم‌آبی باعث کاهش وزن خشک بخش هوایی در مقایسه با گیاهان بدون تنش شد (شکل ۱-C)، اما تنش کم‌آبی بر وزن خشک ریشه تأثیر معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۱-D). تلقیح با قارچ *P. indica* موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه نسبت به گیاهان بدون تلقیح با قارچ گردید که این افزایش به ویژه در ریشه در شرایط تنش کم‌آبی بارز بود. اثر قارچ *P. indica* بر RWC برگ و تنش کم‌آبی و اثر متقابل آنها به ترتیب در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم‌آبی در سطح ۳۰٪AW موجب کاهش معنی‌دار RWC برگ در مقایسه با تیمار بدون تنش رطوبتی شد. در مقابل تلقیح با قارچ *P. indica* موجب افزایش RWC برگ در هر دو سطح رطوبتی شد، به طوری که بیشترین RWC برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ و ۱۰۰٪AW مشاهده شد. کمترین RWC برگ نیز در سطح ۳۰٪AW و بدون تلقیح با قارچ مشاهده گردید (شکل ۱-E). تحت شرایط کم-آبی، جذب مواد غذایی از طریق ریشه به دلیل کاهش حجم آب خاک و همچنین کاهش توزیع عناصر غذایی در بافت خاک کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که بالا بودن وزن خشک در شرایط عدم تنش به دلیل سهولت در جذب و انتقال مواد غذایی به بخش‌های هوایی و گسترش و تداوم بهتر سطح برگ می‌باشد (انجوم و همکاران ۲۰۱۱). همانند قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، همزیستی قارچ *P. indica* منجر به افزایش زیست توده ریشه و بخش هوایی می‌شود (اولمولر و همکاران ۲۰۰۹، فرنکن ۲۰۱۲). در این همزیستی قارچ منجر به تغییراتی در پروتئوم و متابولوم

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر قارچ بر برخی شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه یونجه تحت تنش کم‌آبی.

منابع تغییرات	Df	FW _S	FW _R	DW _S	DW _R	RWC	Chl _a	Chl _b	TChl	Car	SS _S	MDA
قارچ	۱	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{**}	۰/۰۲ ^{**}	۱۳۳/۶*	۴۹۷۳/۵ ^{**}	۰/۰۲۱ ^{**}	۰/۰۰۹ ^{ns}	۶/۲۳۲ ^{**}	۱۵/۸۸ ^{**}	۰/۰۰۰۱۷ ^{**}
تنش	۱	۰/۰۸ ^{**}	۰/۰۰۷*	۰/۰۰۲ ^{**}	۰/۰۰۷ ^{**}	۳۵۴۸/۷ ^{**}	۱۲۳/۵*	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۴۳ ^{**}	۳/۲۴۷ ^{**}	۲۱/۶ ^{**}	۰/۰۰۱ ^{**}
قارچ × تنش	۱	۰/۰۴*	۰/۰۰۶*	۰/۰۰۰۱۲*	۰/۰۱۱ ^{**}	۷۶۲/۲۵۱ ^{**}	۱۲۳/۵*	۰/۱ ^{**}	۰/۶۲۷ ^{**}	۲۲/۴۰۸ ^{**}	۴/۸۵ ^{**}	۰/۰۰۲ ^{**}
اشتباه آزمایشی	۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱۵	۰/۰۰۰۰۸	۱۴/۸۴	۱۵/۹	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۲۹۸	۰/۰۰۰۰۰۷
ضریب تغییرات	۲۵/۳	۱۲/۰۲	۵/۰۳	۸/۴۱	۵/۱	۱۹/۶	۴/۲	۶/۸۱	۲/۹۳	۳/۸۹	۶/۹۶	۵/۵۱

ادامه جدول ۱

منابع تغییرات	Df	Pr _S	Pr _R	Ph _S	Ph _R	Prt _S	P _S	P _R	Fe _S	Fe _R	Zn _R	Zn _S
قارچ	۱	۱/۶۴ ^{**}	۱/۲۲۵ ^{**}	۲۹/۴۷*	۶/۱۲*	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۱۳ ^{**}	۰/۰۰۹ ^{**}	۱/۱۴ ^{**}	۰/۰۰۱ ⁿ _s	۰/۰۰۰۰۶۹ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۶ ^{**}
تنش	۱	۱/۸۱ ^{**}	۱/۹۳۹ ^{**}	۱/۵۰ ^{**}	۱/۸۷ ^{**}	۰/۰۰۲*	۰/۰۱ ^{**}	۰/۰۰۲*	۱/۰۶ ^{**}	۰/۰۱۵*	۰/۰۰۰۰۰۱۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۷ ^{**}
قارچ × تنش	۱	۰/۰۹ ^{**}	۰/۰۹۱*	۱/۱۸ ^{**}	۱/۶۳ ^{**}	۰/۰۰۳ ^{**}	۱/۰۰۰۴۹ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{**}	۱/۲۴ ^{**}	۰/۰۱۲*	۰/۰۰۰۰۰۲۵ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۳۵ ^{ns}
اشتباه آزمایشی	۸	۰/۰۰۸	۰/۰۱	۱/۱۴	۰/۹۴۲	۱/۰۰۰۲۳	۰/۰۰۰۲۴	۱/۰۰۰۲۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۱/۰۰۰۰۰۰۷۸	۰/۰۰۰۰۰۰۶
ضریب تغییرات	۸/۳	۷/۸	۳/۷۶	۴/۹۵	۳/۱۳	۸/۳۴	۲۲/۵۹	۱۴/۷۱	۲۳/۰۸	۱۱/۰۴	۱۷/۶	

ns، * و ** : به ترتیب نشان دهنده‌ی عدم معنی‌دار بودن، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، FW_S: وزن تر بخش هوایی، FW_R: وزن تر ریشه، DW_S: وزن خشک بخش هوایی، DW_R: وزن خشک ریشه، RWC: محتوای نسبی آب برگ، Cln: کلونیزاسیون ریشه‌ها، Chla: کلروفیل a برگ، Chlb: کلروفیل b برگ، TChl: کلروفیل کل برگ، Car: کاروتنوئید برگ، SS_S: قند محلول بخش هوایی، MDA: مالون دی آلدئید، Pr_S: پرولین بخش هوایی، Pr_R: پرولین ریشه، Ph_S: فنل بخش هوایی، Ph_R: فنل ریشه، Prt_S: پروتئین محلول بخش هوایی، P_S: مقدار فسفر بخش هوایی، P_R: مقدار فسفر ریشه، Fe_S: مقدار آهن ریشه، Fe_R: مقدار آهن بخش هوایی، Zn_R: مقدار روی ریشه، Zn_S: مقدار روی بخش هوایی

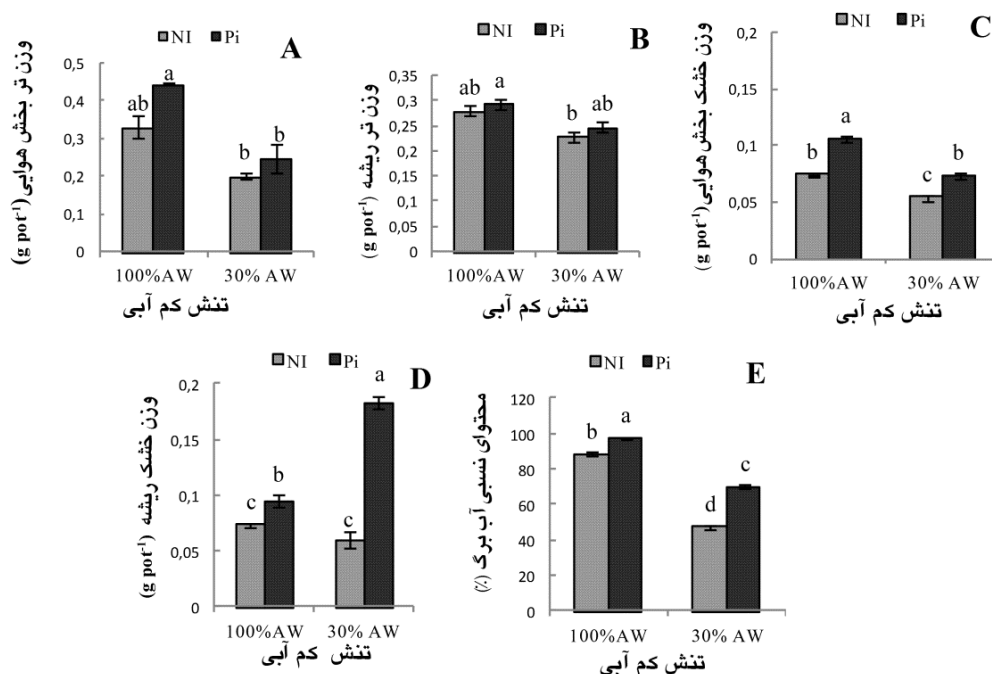
تولید اکسین و متعاقب آن تغییر در ساختار ریشه‌ها و افزایش انشعابات ریشه‌ها می‌باشد. نتایج برخی محققان نشان‌دهنده آن است که افزایش رشد در گیاه کلم چینی (لی و همکاران ۲۰۱۱، جانسون و همکاران ۲۰۱۳) و جو (شفر و همکاران ۲۰۰۹) تلقیح شده با قارچ *P. indica* به افزایش سطح اکسین و جیبرلین در ریشه‌های کلونیزه شده ارتباط دارد. RWC بالاتر گیاه، به معنی توانایی

گیاه می‌شود که شامل سنتز هورمون‌های گیاهی و سیگنال‌هایی است، این عوامل در رشد، جذب مواد غذایی، تولید گل و بذر و حفاظت در برابر خشکی، شوری و عوامل بیماری‌زای گیاهی موثرند (اولمولر و همکاران ۲۰۰۹). سیرنبرگ و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که بخش عمده‌ای از تأثیر قارچ *P. indica* به احتمال زیاد به دلیل بهبود بهره‌برداری از خاک در نتیجه

آبی بر مقدار کلروفیل *b* معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$) ولی قارچ اثر معنی‌داری بر این صفت نشان نداد (جدول ۱). تلقیح گیاه با قارچ *P. indica* در سطح ۳۰٪ AW، اثر مثبت و معنی‌داری بر مقدار کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها داشت و موجب افزایش آنها گردید که این نشان‌دهنده اثر مثبت این قارچ در شرایط تنش بر میزان این رنگیزه‌ها می‌باشد، در مقابل در شرایط بدون تنش رطوبتی تلقیح با قارچ موجب کاهش آنها نسبت به تیمار بدون تلقیح گردید (شکل‌های ۲-B، ۲-C و ۲-D). در مورد نقش این قارچ بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط بدون تنش، گزارشات متفاوتی ذکر شده است. برای مثال گزارش شده که تلقیح ریشه سویا (باژاژ و همکاران ۲۰۱۵) و آرابیدوپسیس (پسکان-برگوفر و همکاران ۲۰۰۴) با قارچ *P. indica* تغییری در میزان رنگیزه‌ها ایجاد نکرد یا

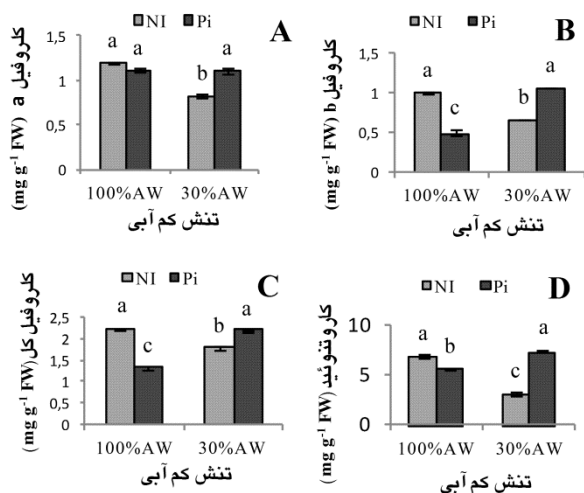
برگ در حفظ مقادیر بیشتر آب در شرایط تنش است. RWC بالاتر برگ ممکن است از طریق قابلیت تنظیم اسمزی و با توانایی ریشه در جذب آب حاصل شود. مقایسه RWC گیاهان به‌خوبی نشان می‌دهد که گیاهان تلقیح شده در شرایط تنش، آب بیشتری از گیاهان شاهد در اختیار دارند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: تنش کم‌آبی، قارچ و اثر متقابل آنها بر مقدار کلروفیل *a* معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$). همانطور که در شکل ۲-A مشاهده می‌شود تنش کم‌آبی موجب کاهش محتوای کلروفیل *a* گردید. تلقیح با قارچ در شرایط بدون تنش اثر معنی‌داری نداشت ولی در شرایط تنش اثر مثبت داشت و از کاهش مقدار کلروفیل *a* در اثر تنش جلوگیری کرد. اثر قارچ *P. indica* و تنش کم‌آبی و اثر متقابل آنها بر مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$). همچنین اثر تنش کم‌آبی و اثر متقابل قارچ و تنش کم



شکل ۱- اثر متقابل قارچ و تنش کم‌آبی بر وزن تر بخش هوایی (A)، وزن تر ریشه (B)، وزن خشک بخش هوایی (C) و وزن خشک ریشه (D) و محتوای نسبی آب برگ (RWC) (E) گیاه یونجه. NI و Pi به ترتیب نشان دهنده عدم تلقیح و تلقیح با قارچ *P. indica* می‌باشند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

آبی، تلقیح قارچ و برهمکنش این دو عامل اثر معنی‌داری (p≤0.01) بر محتوای قندهای محلول برگ داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم‌آبی در مقایسه با تیمار بدون تنش رطوبتی موجب افزایش محتوای قندهای محلول برگ شد. تلقیح با قارچ *P. indica* در هر دو سطح رطوبتی موجب کاهش معنی‌دار محتوای قندهای محلول گردید (شکل ۳-B). افزایش بیان آنزیم گلیکوزیل هیدرولاز در آرابیدوپسیس تلقیح شده با قارچ *P. indica* (پسکان--برگوفر و همکاران ۲۰۰۴) گزارش شده است. این آنزیم درگیر در شکست پیوندهای گلیکوزیدی پلی‌ساکاریدها مانند سلولز، همی‌سلولز و نشاسته می‌باشد. همچنین افزایش بیان آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته در توتون و آرابیدوپسیس کلونیزه شده با قارچ *P. indica* گزارش شده است (شرماتی و همکاران ۲۰۰۸). می‌توان چنین اظهار داشت که قارچ طی



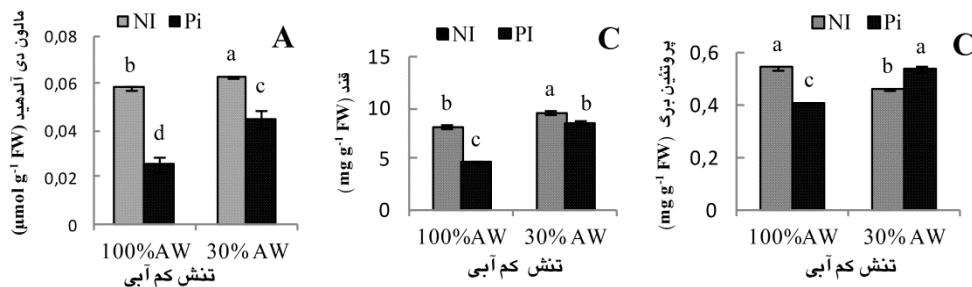
شکل ۲- اثر متقابل قارچ و تنش کم آبی بر محتوای کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و کاروتنوئید (D) گیاه یونجه. NI و Pi به ترتیب نشان دهنده عدم تلقیح و تلقیح با قارچ *P. indica* می‌باشند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

تلقیح ریشه گندم با قارچ *P. indica* موجب کاهش غلظت کلروفیل b شد (یعقوبیان و همکاران ۲۰۱۴)، درحالی‌که سان و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که قارچ *P. indica* کاهش بهره‌وری فتوسنتزی و تخریب کلروفیل و پروتئین‌های تیلاکوئیدی ناشی از تنش رطوبتی را به تعویق می‌اندازد. کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو دارند و در سمیت زدایی از کلروفیل نقش داشته و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند. همان‌طور که نتایج نشان داد تلقیح با قارچ در شرایط تنش موجب افزایش کاروتنوئیدها گردید. گونه‌های گیاهی که بتوانند محتوای کاروتنوئید بیشتری داشته باشند، در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال، دفاع موفق‌تری داشته و در شرایط تنش کمبود آب تحمل بیشتری از خود نشان می‌دهند (جانسون و همکاران ۲۰۱۳).

مالون دی‌آلدهید: اثر قارچ *P. indica* و تنش

کم‌آبی و اثر متقابل آن‌ها (p≤0.01) بر محتوای مالون دی‌آلدهید برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم آبی در مقایسه با تیمار ۱۰۰٪ AW موجب افزایش محتوای مالون دی‌آلدهید شد. گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* در هر دو سطح رطوبتی بطور معنی‌داری میزان مالون دی‌آلدهید کمتری را نشان دادند (شکل ۳-A). پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی که نتیجه اثرات رادیکال‌های آزاد هستند، نشان‌دهنده آسیب تنش در سطح سلولی می‌باشد. بنابراین سطح مالون دی‌آلدهید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، اغلب به عنوان یک شاخص برای آسیب اکسیداتیو به کار می‌رود (تورکان و همکاران ۲۰۰۵). کاهش مقدار مالون دی‌آلدهید در کلم چینی و جو تحت تنش شوری و کلونیزاسیون با قارچ *P. indica* گزارش شده است (سان و همکاران ۲۰۱۰، بالتراشات و همکاران ۲۰۰۸). قندهای محلول و پروتئین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کم-

بخش هوایی گیاهان بدون تلقیح گردید. تلقیح با قارچ *P. indica* موجب افزایش معنی‌دار مقدار پروتئین بخش هوایی در سطح ۳۰٪ AW شد، اما مقدار پروتئین بخش هوایی را به طور معنی‌داری در سطح ۱۰۰٪ AW کاهش داد (شکل ۳-۲). تنش کم‌آبی، می‌تواند پاسخ‌هایی نظیر تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی از اسیدهای آمینه آزاد را در پی داشته باشد (یامادا و فوکوتوگو ۱۹۸۵).



شکل ۳- اثر متقابل قارچ و تنش کم‌آبی بر محتوای مالون دی‌آلدئید (A)، قند محلول (B) و محتوای پروتئین برگ (C) گیاه یونجه. NI و Pi به ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح و تلقیح با قارچ *P. indica* می‌باشند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

در برگ گیاه در گیاهان تلقیح شده با قارچ و سطح ۳۰٪ AW و کمترین مقدار پرولین نیز در تیمار ۱۰۰٪ AW و عدم تلقیح با قارچ مشاهده شد (شکل ۴-۲). در رابطه با ریشه نیز تلقیح با قارچ موجب افزایش معنی‌دار محتوای پرولین فقط در تیمار ۱۰۰٪ AW شد اما در شرایط تنش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴-۱). مطالعات والر و همکاران (۲۰۰۵) حاکی از آن است که قارچ *P. indica* باعث القای فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در گیاه میزبان می‌شود. تحت تنش کم‌آبی، قارچ *P. indica* موجب افزایش میزان پرولین در برگ‌ها گردید که این نتایج با یافته‌های بالتراشات و همکاران (۲۰۰۸) و جوگاوات و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد. مطابق جدول ۱، اثر قارچ *P. indica* بر محتوای فنل بخش هوایی ($p \leq 0.05$) و ریشه ($p \leq 0.05$) و اثر تنش کم‌آبی و اثر متقابل آن‌ها ($p \leq 0.01$) بر این پارامتر معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم

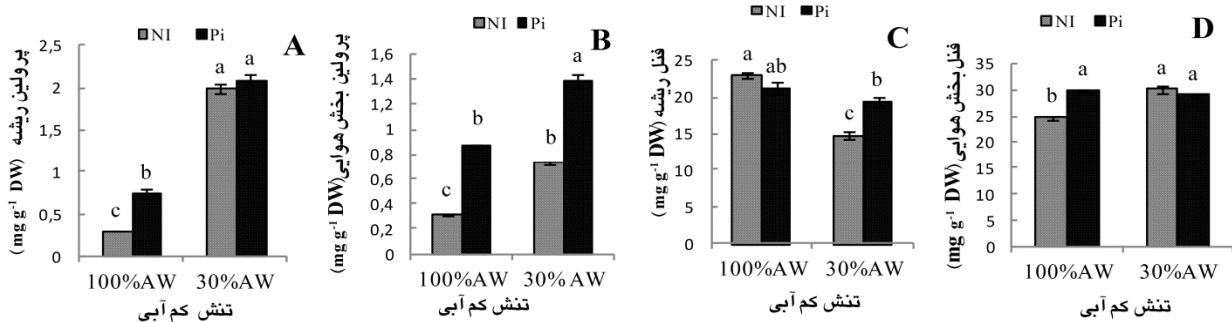
رابطه همزیستی از گیاه میزبان قند دریافت می‌کند و در مقابل، رشد گیاه را به واسطه بهبود جذب عناصر یا تولید هورمون‌های رشد بهبود می‌بخشد. بنابراین تلقیح با قارچ منجر به کاهش میزان قند محلول در گیاه میزبان می‌شود. مطابق جدول تجزیه واریانس، اثر قارچ *P. indica*، تنش کم‌آبی و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای پروتئین بخش هوایی معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم‌آبی در مقایسه با تیمار ۱۰۰٪ AW موجب کاهش مقدار پروتئین

همچنین در این پژوهش مشاهده شد که گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* در سطح ۳۰٪ AW مقدار پروتئین بالاتری نسبت به گیاهان بدون تلقیح داشتند. به نظر می‌رسد این قارچ از تخریب پروتئین‌ها در اثر تنش جلوگیری کرده و یا موجب سنتز پروتئین‌های جدید شده است.

فنل کل و پرولین: اثر قارچ *P. indica* و تنش کم‌آبی بر محتوای پرولین بخش هوایی و ریشه ($p \leq 0.01$) و اثر متقابل آن‌ها بر پرولین ریشه در سطح پنج درصد و بخش هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به شکل‌های ۴-۱ و ۴-۲، تنش کم‌آبی مقدار پرولین بخش هوایی و ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داد. تلقیح با قارچ *P. indica* نیز موجب افزایش محتوای پرولین بخش هوایی به خصوص در سطح ۳۰٪ AW نسبت به گیاهان شاهد بدون تلقیح گردید، به طوری که بیشترین میزان پرولین

عنوان یکی از ترکیبات آنتی اکسیدان شناخته شده‌اند که با سازوکارهایی مثل پاکروبی رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن و مهار اکسیژن یکتایی نقش خود را ایفا می‌کنند (مرادی و پورقاسمیان ۱۳۹۷). افزایش میزان فنل بخش هوایی در سطح رطوبتی ۱۰۰٪AW در گیاهان

آبی در مقایسه با تیمار ۱۰۰٪AW موجب افزایش فنل بخش هوایی شد اما مقدار فنل در ریشه را کاهش داد. تلقیح با قارچ *P. indica* موجب افزایش معنی‌دار فنل بخش هوایی در سطح ۱۰۰٪AW و فنل ریشه در سطح ۳۰٪AW شد (شکل ۴-C و ۴-D). ترکیبات فنلی به



شکل ۴- اثر متقابل قارچ و تنش کم آبی بر محتوای پرولین ریشه (A)، محتوای پرولین بخش هوایی (B)، محتوای فنل ریشه (C) و محتوای فنل بخش هوایی (D) گیاه یونجه. NI و Pi به ترتیب نشان دهنده عدم تلقیح و تلقیح با قارچ *P. indica* می‌باشند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر تنش کم آبی و تلقیح با قارچ *P. indica* بر مقدار عناصر در گیاه یونجه.

مقدار روی ریشه	مقدار آهن ریشه	مقدار فسفر ریشه	مقدار روی بخش هوایی	مقدار آهن بخش هوایی	مقدار فسفر بخش هوایی	قارچ	سطح رطوبتی
۰/۰۰۶±۰/۰۰۰۵ ^c	۰/۲۶±۰/۰۲ ^b	۰/۰۴۷±۰/۰۰۴ ^{bc}	۰/۰۱۴±۰/۰۰۰۵ ^a	۰/۲۱±۰/۰۰۴ ^a	۰/۱۷±۰/۰۰۱ ^b	NI	۱۰۰٪AW
۰/۰۰۸±۰/۰۰۰۳ ^b	۰/۱۹±۰/۰۰۱ ^{bc}	۰/۰۶۱±۰/۰۰۵ ^b	۰/۰۱۸±۰/۰۰۱ ^a	۰/۱۲±۰/۰۰۲ ^b	۰/۲۵±۰/۰۰۲ ^a	Pi	۱۰۰٪AW
۰/۰۰۴±۰/۰۰۰۲ ^d	۰/۱۲±۰/۰۰۰۶ ^c	۰/۰۳۳±۰/۰۰۱ ^c	۰/۰۰۹±۰/۰۰۰۵ ^b	۰/۰۸±۰/۰۰۵ ^b	۰/۱۳±۰/۰۰۱ ^c	NI	۳۰٪AW
۰/۰۱۲±۰/۰۰۰۵ ^a	۰/۶۳±۰/۰۰۳ ^a	۰/۱۲±۰/۰۰۱ ^a	۰/۰۱۳±۰/۰۰۱ ^a	۰/۱۲±۰/۰۰۱ ^b	۰/۱۸±۰/۰۰۴ ^b	Pi	۳۰٪AW

حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (آزمون دانکن، $P \leq 0.05$). NI و Pi به ترتیب شاهد بدون تلقیح و تلقیح شده با قارچ *P. indica*. ۱۰۰٪AW و ۳۰٪AW به ترتیب ۱۰۰٪ آب قابل استفاده و ۳۰٪ آب قابل استفاده. مقادیر عناصر برحسب واحد mg pot^{-1} می‌باشد.

تنش و قارچ فقط بر محتوای فسفر ریشه معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم آبی موجب کاهش محتوای فسفر در بخش هوایی گیاه نسبت به تیمار ۱۰۰٪AW گردید. تلقیح با قارچ *P. indica* در هر دو سطح رطوبتی موجب افزایش محتوای فسفر در بخش هوایی و ریشه گیاه شد، اما این افزایش در ریشه فقط در سطح ۳۰٪AW معنی‌دار بود (جدول ۲). تحقیقات چندانی در زمینه تغذیه فسفوری گیاهان تلقیح شده با قارچ شبه میکوریز *P. indica* در دست نیست ولی مطالعات انجام یافته نشان‌دهنده تأثیر

تلقیح شده احتمالاً ناشی از پاسخ دفاعی گیاه به همزیست قارچی می‌باشد، ضمن اینکه افزایش مقادیر فنل کل در گیاهان میکوریزی آنها را در مقابله با انواع عوامل بیماری‌زا یاری می‌کند و مطالعات حاکی از افزایش این ترکیبات در گیاهان تلقیح شده میکوریزی می‌باشد (کریشنا و همکاران ۲۰۰۵).

محتوای عناصر بخش هوایی و ریشه: مطابق جدول ۱ اثر تنش کم آبی و تلقیح با قارچ بر محتوای فسفر بخش هوایی و ریشه معنی‌دار بود ولی برهمکنش

عناصر غذایی نیز کاهش پیدا می‌کند. خشکی خاک همچنین سرعت انتشار مواد غذایی را از محیط خاک به سطح جذب‌کننده ریشه کاهش می‌دهد (کرمی و همکاران ۱۳۹۵). سازوکار عمل قارچ طی این رابطه همزیستی هنوز کاملاً مشخص نشده است، اگرچه به نظر نمی‌رسد این تأثیرات همانند قارچ‌های همزیست دیگر با تکیه بر انتقال عناصر غذایی باشد، زیرا برخی از سلول‌های ریشه گیاه بعد از تلقیح قارچ از بین می‌روند (فرنکن و همکاران ۲۰۰۰، دشموخ و همکاران ۲۰۰۶).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثر قارچ شبه میکوریزی در تحریک رشد گیاه می‌باشد. افزایش توده زیستی بخش هوایی در گیاهان دارای همزیست *P. indica* سبب افزایش راندمان فتوسنتز می‌گردد که به تبع آن رشد بخش زیرزمینی گیاه نیز افزایش می‌یابد. افزایش رشد گیاه تحت تأثیر قارچ *P. indica* به احتمال زیاد به دلیل بهبود بهره‌برداری از خاک در نتیجه تغییر در ساختار ریشه‌ها و افزایش انشعابات ریشه‌ها، افزایش جذب عناصر به‌ویژه فسفر، افزایش تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی و اسمولیت‌ها همچنین کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌باشد. از آنجائی که اثر این قارچ در شرایط تنشی بیشتر بود، استفاده از این قارچ می‌تواند برای افزایش تحمل گیاهان زراعی نسبت به شرایط تنشی مفید باشد. با این حال آزمایشات مزرعه‌ای برای بررسی بیشتر آثار این قارچ در شرایط تنش لازم است.

مثبت قارچ در این زمینه می‌باشند. یداو و همکاران (۲۰۱۰) بیان ژن‌های *PiPT* که محصول آن انواع پروتئین‌های ناقل فسفات می‌باشد، از هیف‌های خارج ریشه‌ای قارچ *P. indica* گزارش شده است و بیانگر آن است که هیف‌های خارج ریشه‌ای محلی برای جذب فسفات از خاک می‌باشند. اثر قارچ *P. indica*، تنش کم-آبی و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای آهن ریشه در سطح احتمال ۱ درصد و اثر تنش کم آبی و اثر متقابل قارچ و کم آبی بر محتوای آهن بخش هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم‌آبی موجب کاهش محتوای آهن در بخش هوایی و ریشه گیاهان بدون تلقیح نسبت به تیمار AW ۱۰۰٪ گردید. تلقیح با قارچ موجب افزایش معنی‌دار محتوای آهن در سطح AW ۳۰٪ در ریشه گردید (جدول ۲). همچنین براساس جدول ۱، اثر متقابل تنش کم‌آبی و قارچ *P. indica* بر محتوای روی ریشه، اثر تنش کم‌آبی بر محتوای روی بخش هوایی و اثر قارچ بر محتوای روی بخش هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم آبی در سطح AW ۳۰٪ موجب کاهش محتوای روی در بخش هوایی و ریشه گیاه نسبت به تیمار AW ۱۰۰٪ گردید. تلقیح با قارچ *P. indica* در سطح AW ۳۰٪ موجب افزایش محتوای روی در بخش هوایی و ریشه گیاه یونجه شد (جدول ۲). جذب عناصر غذایی و آب قابل دسترس توسط ریشه‌های گیاه ارتباط نزدیکی باهم دارند. خشکی باعث کاهش تعرق، انتقال فعال، نفوذپذیری غشاء و قدرت جذب کنندگی ریشه گیاه می‌شود و به دنبال آن جذب

منابع مورد استفاده

- Anjum SA, Xie XY, Wang LC, Saleem MF, Man C and Lei W, 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research 6: 2026-2032.
- Bajaj R, Hu W, Huang Y, Chen S, Prasad R, Varma A and Bushley KE, 2015. The beneficial root endophyte *Piriformospora indica* reduces egg density of the soybean cyst nematode. Biological Control 90: 193-199.
- Baltruschat H, Fodor J, Harrach BD, Niemczyk E, Barna B, Gullner G, Janeczko A, Kogel KH, Schäfer P and Schwarczinger I, 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. New Phytologist 180: 501-510.
- Bates L, Waldren R and Teare I, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cottenie A, Camerlynck R, Verloo M and Dhaese A, 1980. Fractionation and determination of trace elements in plants, soils and sediments. *Pure and Applied Chemistry* 52: 45-53.
- Deshmukh S, Huckelhoven R, Schafer P, Imani J, Sharma M, Weiss M, Waller F and Kogel KH, 2006. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 18450-18457.
- Franken P, 2012. The plant strengthening root endophyte *Piriformospora indica*: potential application and the biology behind. *Applied Microbiology and Biotechnology* 96: 1455-1464.
- Franken P, Requena N, Bütehorn B, Krajinski F, Kuhn G, Lapopin L, Mann P, Rhody D and Stommel M, 2000. Molecular analysis of the arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Archives of Agronomy and Soil Science* 45: 271-286.
- Heath RL and Packer L, 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hill TW and Kafer E, 2001. Improved protocols for *Aspergillus* minimal medium: trace element and minimal medium salt stock solutions. *Fungal Genetics Reports* 48: 20-21.
- Johnson JM, Lee YC, Camehl I, Sun C, Yeh KW and Oelmüller R, 2013. *Piriformospora indica* promotes growth of Chinese cabbage by manipulating auxin homeostasis: Role of auxin in *P. indica* symbioses. Pp. 139-147. In: Varma A, Kost G and Oelmüller R (eds). *Piriformospora indica*: Sebaciales and Their Biotechnological Applications. Part 2. Sebaciales Interaction with Different Plant Species. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Jogawat A, Saha S, Bakshi M, Dayaman V, Kumar M, Dua M, Varma A, Oelmüller R, Tuteja N and Johri AK, 2013. *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signaling and Behavior*, 8 (10), e26891.
- Klute, A., 1986. Water retention: Laboratory methods. Pp. 635-686. In: Klute, A (ed.). *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. 2nd edition. Agronomy Monograph. 9. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- Krishna H, Singh S, Sharma R, Khawale R, Grover M and Patel V, 2005. Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during ex vitro acclimatization. *Scientia Horticulturae* 106: 554-567.
- Lee YC, Johnson JM, Chien CT, Sun C, Cai D, Lou B, Oelmüller R and Yeh KW, 2011. Growth promotion of Chinese cabbage and Arabidopsis by *Piriformospora indica* is not stimulated by mycelium-synthesized auxin. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24: 421-431.
- Karami S, Zarei M, Yasrebi J and Moosavi A, 2016. Effect of plant growth promoting rhizobacterium on uptake of some micronutrients by corn in a Cd-contaminated soil under water deficit stress Conditions. *Water and Soil Science- University of Tabriz* 26(3-2): 105-117. (In Persian with English abstract).
- Lichtenthaler HK and Buschmann C, 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Pp. 431-438. In: Wrolstad RE, Acree TE, An H, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF and Sporns P (eds). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Chapter F4. Chlorophylls. New York, NY, USA: John Wiley and Sons.
- Moradi R and Pourghasemian N, 2018. Effect of salicylic acid application on mitigating impacts of drought stress in marigold (*Calendula officinalis* L). *Water and Soil Science- University of Tabriz* 28(2): 15-28. (In Persian with English abstract).
- Niknam V and Ebrahimzadeh H, 2002. Phenolics content in Astragalus species. *Pakistan Journal of Botany* 34: 283-289.
- Oelmüller R, Sherameti I, Tripathi S and Varma A, 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis* 49: 1-17.
- Peskan-Berghofer T, Shahollari B, Giong PH, Hehl S, Markert C, Blanke V, Kost G, Varma A and Oelmüller R, 2004. Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmic reticulum and at the plasma membrane. *Physiologia Plantarum* 122: 465-477.
- Phillips JM and Hayman D, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.

- Roe JH, 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry* 212: 335-343.
- Schafer P, Pfiffi S, Voll LM, Zajic D, Chandler PM, Waller F, Scholz U, Pons-Kuhnemann J, Sonnewald S and Sonnewald U, 2009. Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica*. *The Plant Journal* 59: 461-474.
- Serfling A, Wirsel SG, Lind V and Deising HB, 2007. Performance of the biocontrol fungus *Piriformospora indica* on wheat under greenhouse and field conditions. *Phytopathology* 97: 523-531.
- Sherameti I, Tripathi S, Varma A and Oelmüller R, 2008. The root-colonizing endophyte *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress-related genes in leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 799-807.
- Sirrenberg A, Gobel C, Grond S, Czempinski N, Ratzinger A, Karlovsky P, Santos P, Feussner I and Pawlowski K, 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum* 131(4), 581-589.
- Sun C, Johnson JM, Cai D, Sherameti I, Oelmüller R and Lou B, 2010. *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *Journal of Plant Physiology* 167: 1009-1017.
- Turkan I, Bor M, Ozdemir F and Koca H, 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science* 168: 223-231.
- Vadassery J, Tripathi S, Prasad R, Varma A and Oelmüller R, 2009. Monodehydroascorbate reductase 2 and dehydroascorbate reductase 5 are crucial for a mutualistic interaction between *Piriformospora indica* and Arabidopsis. *Journal of Plant Physiology* 166: 1263-1274.
- Varma A, Sherameti I, Tripathi S, Prasad R, Das A, Sharma M, Bakshi M, Johnson J, Bhardwaj S and Arora M, 2012. The symbiotic fungus *Piriformospora indica*: review. Pp. 231-254. In: Hock B (ed.). *The Mycota*. vol. IX. Fungal Associations. 2nd Edition. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Varma A, Singh A, Sahay NS, Sharma J, Roy A, Kumari M, Rana D, Thakran S, Deka D and Bharti K, 2001. *Piriformospora indica*: an axenically culturable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. Pp. 125-150. In: Hock B (ed.). *The Mycota*. vol. IX. Fungal Associations. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Varma A, Verma S, Sahay N, Bütehorn B and Franken P, 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2741-2744.
- Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, Heier T, Hüchelhoven R, Neumann C and Von Wettstein D, 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 13386-13391.
- Waller F, Mukherjee K, Deshmukh SD, Achatz B, Sharma M, Schäfer P and Kogel KH, 2008. Systemic and local modulation of plant responses by *Piriformospora indica* and related Sebaciniales species. *Journal of Plant Physiology* 165: 60-70.
- Walinga I, Vark V, Houba V and Van Der Lee J, 1989. Soil and plant analysis, a series of syllabi, part 7: Plant analysis procedures. Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands.
- Weatherley P, 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. *New Phytologist* 49: 81-97.
- 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 of Biological Chemistry* 285: 26532-26544.
- Yaghoobian Y, Goltapeh EM, Pirdashti H, Esfandiari E, Feiziasl V, Dolatabadi HK, Varma A and Hassim MH, 2014. Effect of *Glomus mosseae* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. *Agricultural Research* 3: 239-245.
- Yamada Y and Fukutoku Y, 1985. Effect of water stress on soybean metabolism. Pp. 373-382. In: Shanmugasundaram S, Sulzberger EW and Mclean BJ (eds). *Soybean in Tropical and Subtropical Cropping Systems: Proceedings of a Symposium held by the Asian Vegetable Research and Development Center*. 26 September - 1 October 1983, Tsukuba, Japan.