تأثیر قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* بر عملکرد وزن خشک ریشه و شاخساره و جذب روی و آهن توسط گندم در یک خاک آهکی

محمد جواد اسداله‌زاده*، امیرحسین خوشگفتارمنش و مژگان سپهری[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۹/۰۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۰۹)

چکیده

کمبود آهن و روی در بسیاری اراضی زیر کشت گندم جهان به‌ویژه در خاک‌های آهکی رایج است. مصرف خاکی کودهای شیمیایی یک راهکار ارزان و آسان برای مقابله با کمبود عناصر کم‌مصرف است اما محدودیت‌های اقتصادی، محیطی و زراعی، کارآیی مصرف کود در خاک‌های آهکی را کاهش می‌دهد. بنابراین یافتن راهکارهای مؤثر و مناسب برای بهبود کارآیی مصرف کود و یا قابلیت استفاده این عناصر فلزی در خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* و کاربرد سولفات روی بر عملکرد وزن خشک و قابلیت استفاده روی و جذب آن توسط گندم، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. عوامل آزمایش شامل دو رقم گندم دوروم و روشن (*Triticum aestivum* L. cvs)، دو سطح کود روی (صفر و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم $ZnSO_4/7H_2O$) و دو سطح تلقیح و عدم تلقیح با قارچ *P. indica* بودند. نتایج نشان داد، تلقیح گیاه با قارچ *P. indica* به‌ترتیب جذب آهن ریشه و شاخساره را ۲۵٪ و ۲۷٪ و جذب روی ریشه و شاخساره را ۴۶٪ و ۲۶٪ افزایش داد. به‌طور کلی تلقیح ریشه با *P. indica* سبب افزایش عملکرد وزن خشک ریشه و شاخساره و بهبود جذب آهن و روی توسط هر دو رقم گندم مورد مطالعه شد. بنابراین به‌نظر می‌رسد تلقیح ریشه با قارچ *P. indica* می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر و سازگار با محیط زیست برای بهبود جذب روی و آهن مورد توجه قرار گیرد. اگر چه تحقیقات تکمیلی برای روشن شدن تمام جنبه‌های این راهکار ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ***Piriformospora indica***، **سولفات روی، گندم، کمبود آهن و روی**

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: asadollahzade@gmail.com

مقدمه

کمبود عناصر کم‌مصرف در اراضی زیر کشت غلات به‌ویژه گندم در سراسر جهان گزارش شده است (۲). در مزارع گندم مناطق مرکزی ایران نیز که عمدتاً دارای خاک‌های آهکی با درصد کم ماده آلی هستند، کمبود آهن و روی به‌طور گسترده‌ای گزارش شده است. علت اصلی کمبود آهن و روی در خاک‌ها، پایین بودن قابلیت استفاده این عناصر برای گیاه بوده در حالی که مقدار کل این عناصر در اغلب موارد بسیار زیاد است. در واقع، به‌دلیل pH بالای خاک، شور و سدیمی بودن خاک، بی‌کربناتی بودن آب آبیاری، جذب برروی سطوح کانی‌های رسی و درصد بالای کربنات کلسیم و اکسیدهای فلزی، حلالیت و قابلیت استفاده آهن و روی برای گیاه کاهش می‌یابد (۴ و ۱۳).

امروزه به‌دلیل محدودیت‌های اقتصادی (قیمت به نسبت بالای کودهای عناصر کم‌مصرف)، مشکلات زیست محیطی و محدودیت‌های موجود در خاک استفاده از کودهای شیمیایی به تنهایی راهکار مناسبی برای برطرف کردن کمبود عناصر غذایی گیاه نیست (۱۱). کاربرد کودهای شیمیایی اگرچه راحت‌تر از روش‌های دیگر برای بهبود وضعیت عناصر کم‌مصرف است، اما در خاک‌های با pH بالا این کودها در مدت کوتاهی برای گیاه غیرقابل دسترس خواهند شد (۱۵). تغذیه برگی عناصر کم‌مصرف یک روش سریع و با کارآیی بالا در مراحل رشد اولیه گیاه است، اما تأثیر آن موقتی است و به تنهایی نمی‌تواند نیاز گیاه را به عناصر کم‌مصرف برطرف سازد. بنابراین، به‌ویژه با درنظر گرفتن مشکلات زیست محیطی و محدودیت‌های اقتصادی و زراعی مربوط به مصرف خاکی کودهای شیمیایی، یافتن راهکارهای مؤثر برای افزایش قابلیت استفاده آهن و روی خاک برای گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در انتخاب راهکارهای جدید مقابله با کمبود روی، باید علاوه بر کاهش هزینه‌ها و کارآیی بالا، سازگاری با محیط زیست نیز درنظر گرفته شود.

یکی از راهکارهای مورد نظر برای افزایش قابلیت جذب روی توسط گیاه، بهره‌گیری از همزیستی اندوفایتی ریشه می‌باشد. قارچ‌های میکوریزی آربسکولار (AM) به‌دلیل افزایش سطح جذب ریشه جهت انتقال عناصر غذایی موجود در خاک، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه (اکسین و سیتوکینین) و افزایش عملکرد گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (۶). با وجود این مزایا، عدم توانایی رشد قارچ‌های میکوریزآربسکولار در محیط‌های کشت مصنوعی بدون حضور گیاه میزبان به یک مشکل جهانی تبدیل شده است (۲۳).

قارچ *Piriformospora indica* که اخیراً کشف و معرفی گردیده است، از نظر ریخت شناسی، کارکرد، افزایش رشد گیاه و دامنه میزبانی بسیار شبیه قارچ‌های میکوریزی است، با این تفاوت که همزیست اختیاری است و به راحتی در محیط‌های کشت مصنوعی بدون نیاز به میزبان قادر به رشد است و این مهم‌ترین مزیت این قارچ نسبت به میکوریزای‌آربسکولار است (۳۰). از دیگر مزایای قارچ *P. indica* می‌توان به افزایش جذب مواد غذایی، حفظ و نگهداری آب، مقاومت در برابر سموم، فلزات سنگین، پاتوژن‌ها، بیماری‌های ریشه‌ای و افزایش رشد ریشه و عملکرد دانه اشاره کرد (۲۳). پخش میسیلیوم‌های قارچ *P. indica* در محیط پیرامون ریشه باعث افزایش جذب مواد غذایی و تأثیر مثبت در بهبود رشد گیاه می‌شود، همچنین با ترشح مقدار قابل توجهی اسیدفسفاتاز سبب پویا شدن برخی از عناصر غذایی نامحلول می‌شود (۳). براساس نتایج بسیاری از محققان این قارچ شاخص‌های جذب عناصر غذایی را در گیاه میزبان افزایش داده و از این طریق باعث بهبود عملکرد گیاه می‌شود (۹). در این مطالعه گلدانی، کارآیی همزیستی قارچ *P. indica* با ریشه گندم در بهبود رشد و افزایش جذب آهن و روی توسط گندم در یک خاک آهکی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

خاک مورد استفاده برای انجام این آزمایش از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه ایستگاه تحقیقات کشاورزی رود دشت اصفهان واقع در عرض شمالی ۳۲ درجه و ۲۹ دقیقه و ۲۰/۳۶ ثانیه و طول شرقی ۵۲ درجه و ۱۱ دقیقه و ۱۶/۹۴ ثانیه تهیه

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

بافت	OC (٪)	pH	EC (dS/m)	TNV ٪	$CaSO_4$ (meq/۱۰۰g soil)	$NaHCO_3$-P (mg kg^{-1})	کاتیون‌های محلول (meq L^{-1})					DTPA-extractable (mg kg^{-1})	
							Cl	K	Na	Mg	Ca	Zn	Fe
Silt Loam	۰/۳۱	۷/۸۸	۳/۵	۱۸/۵	۳۴/۱	۱۷/۵	۳۵	۰/۷۷	۳۲	۱۴	۴۳	۰/۴۴	۴/۸

شد. مقدار روی قابل جذب خاک کمتر از حد بحرانی این عنصر برای گندم (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (۷) بود. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی این خاک بعد از هوا خشک شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

pH خاک در عصاره ۲:۱ آب به خاک به‌وسیله pH متر رقومی مدل ۶۹۱ (۲۶) و قابلیت هدایت الکتریکی خاک در عصاره اشباع با هدایت سنج مدل اهم-۶۴۴ (۲۱) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری کربن‌آلی به‌روش والکلی بلاک (۱۸)، درصد مواد خنثی شونده (T.N.V) برحسب کربنات کلسیم به‌روش تیتراسیون برگشتی با استفاده از اسیدکلریدریک و سود یک نرمال (۵)، فسفر قابل جذب خاک با استفاده از بی‌کربنات سدیم ۰/۵ مولار (۱۹)، غلظت عناصر روی، آهن، سرب و کادمیم خاک با استفاده از محلول ۰/۰۰۵ نرمال DTPA و به‌وسیله دستگاه جذب اتمی مدل پرکین المر ۳۰۳۰ (۵)، گچ با روش استون، کاتیون‌های محلول بازی شامل سدیم، پتاسیم به‌روش نشر اتمی شعله با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر، اندازه‌گیری کلر به‌روش تیتراسیون با نقره نیترات، گنجایش تبادل کاتیونی (CEC) با استفاده از استات سدیم در pH = ۸/۲ و استات آمونیوم خنثی و کلسیم و منیزیم به‌روش تیتراسیون کمپلکسومتری انجام شد (۲۵).

این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل آزمایش شامل: دو رقم گندم دوروم و روشن (*Triticum aestivum* L. cvs)، دو سطح کود روی (صفر و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم $ZnSO_4.7H_2O$) و دو سطح تلقیح و عدم تلقیح با قارچ *P. indica* بودند. برای کشت قارچ *P. indica* از محیط کشت کمپلکس (شامل ۲۰ گرم گلوکز، ۱ گرم مخمر قارچ، ۱ گرم کازامینواسید، ۵۰ میلی‌لیتر محلول نمک، ۲ گرم پپتون، ۱ میلی‌لیتر محلول عناصر ریزمغذی و ۱۵ گرم آگار، در هر لیتر) استفاده شد (۱۴). جدایه قارچی مذکور از بخش بیولوژی خاک دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه شد و برروی محیط کشت کمپلکس قرار گرفت و در دمای ۲۴ درجه سلسیوس درون انکوباتور به مدت ۲۸ روز جهت تکثیر قارچ و تولید کافی اسپور نگهداری شد. برای جمع‌آوری اسپورهای قارچ از سطح محیط کشت از اسپاتول و آب- توئین استریل (۲۰µ /L) استفاده شد. مایع محتوی اسپور قارچ از کاغذ صافی عبور داده شد و در یک ظرف استریل ریخته شد. محلول یاد شده داخل تعدادی فالکون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و به مدت ۷ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و در دور g ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس، محلول رویی دور ریخته شد و به پلت باقی مانده مقداری آب- توئین اضافه و سونیکیت انجام شد. محلول به همین ترتیب سه مرتبه سانتریفیوژ شد و نهایتاً مایه تلقیح قارچ به دست آمد (۱).

بذور گندم دوروم (روی ناکاراً) و روشن (روی کاراً) از مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه شد. سپس بذرها با اتانول ۷۰ درصد (V/V) به مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلرید سدیم ۶ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند (۱) و بعد از شستشو با آب به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برروی محیط آب آگار جوانه‌دار شدند. در ادامه تحت شرایط استریل، بذرها به محلول آب- توئین ۲٪ حاوی ۵×۱۰^۶ اسپور قارچ *P. indica* آغشته شده و به مدت سه ساعت به‌صورت دورانی و با دور rpm ۸۰ تکان داده شدند.

خاک مورد استفاده به‌وسیله اتوکلاو به مدت یک ساعت در

دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس استریل شد (۲۷). سپس درون هر یک از گلدان‌های پلی‌اتیلنی ۸۰۰ گرم از خاک‌های تیمار شده ریخته شد و براساس آزمون خاک و روش پیشنهادی مؤسسه تحقیقات خاک و آب ۰/۴۷۰ گرم اوره و ۰/۲۵ گرم سولفات پتاسیم به هر کیلوگرم خاک اضافه شد (۱۷). درون هر یک از گلدان‌ها ۵ بذر جوانه‌دار شده کشت شد. یک هفته بعد، با تنک کردن بوته‌ها تعداد آنها به سه عدد کاهش یافت. برای جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی و کاهش تبخیر گلدان‌ها سطح آنها به‌وسیله شن کوارتز سترون شده پوشش داده شد. در دو مرحله در روزهای دهم و سی‌ام پس از جوانه‌زنی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات‌آمونیوم به گلدان‌ها اضافه گردید. در تمام مدت آزمایش رطوبت خاک گلدان‌ها به‌روش وزنی با آب مقطر در ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه تنظیم شد. بعد از گذشت ۴۰ روز ریشه و شاخساره گیاه به‌صورت جداگانه برداشت و پس از شست‌وشو، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک شدند. تهیه عصاره گیاهی با استفاده از یک گرم نمونه گیاهی به‌روش هضم خشک با اسیدنیتریک به مدت ۵ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس انجام شد (۱۲). سپس عناصر روی و آهن توسط دستگاه جذب اتمی مدل پرکین المر ۳۰۳۰ قرائت شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به‌روش LSD در سطح ۵ درصد با نرم‌افزار Statistix انجام شد. و تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های وزن خشک ریشه و شاخساره و همچنین غلظت و جذب عناصر روی و آهن در اندام‌های گیاه در جدول (۲) نشان داده شده است.

اثر قارچ *P. indica* و سولفات روی بر عملکرد وزن خشک

کاربرد سولفات روی و تلقیح قارچ *P. indica* تقریباً به یک نسبت باعث افزایش زیست‌توده گندم شدند و کاربرد همزمان سولفات روی و قارچ *P. indica* بیشترین کارآیی را در افزایش وزن خشک ریشه و شاخساره گیاه داشت (شکل ۱ و ۲). قارچ *P. indica* وزن خشک ریشه را ۱۰٪ و وزن شاخساره را ۱۵٪ افزایش داد. وارما و همکاران بیان کردند، تلقیح ریشه گیاه با قارچ *P. indica* باعث افزایش عملکرد دانه و زیست‌توده گیاه می‌شود (۲۸). قارچ *P. indica* با افزایش تولید اکسین، رشد ریشه و عملکرد گیاه میزبان را بهبود می‌بخشد (۲۴). گوسال وهمکاران در مطالعات خود مشاهده کردند، تلقیح گیاه با باکتری سودوموناس فلورسنس و قارچ *P. indica* ریشه‌های جانبی و زیست‌توده گیاه را افزایش داد (۱۰). این قارچ با افزایش ترشحات ریشه و در نتیجه افزایش جمعیت باکتری‌ها در ناحیه ریزوسفر عملکرد گیاه را افزایش می‌دهد (۱۶). *P. indica* کلنی‌هایی روی ریشه گیاه میزبان به‌وجود می‌آورد و باعث افزایش زیست‌توده و عملکرد گیاه می‌شود (۱۰). در مطالعات انجام شده کلنیزاسیون ریشه توسط *P.indica* از طریق تولید ایندول استیک اسید و اکسین باعث انشعاب ریشه و افزایش وزن‌تر ریشه شد (۲۴). وارما و همکاران (۲۹) نشان دادند تلقیح قارچ *P.indicd* با ریشه گیاه نقش مثبتی در بهبود رشد، افزایش عملکرد دانه، تغییر در سوخت و سازهای ثانویه و سازگاری گیاه با تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد. در مطالعات دیگری همزیستی *P. indica* با ریشه توتون و آرابیدوپسیس باعث افزایش جذب نیتروژن و تحریک فرایند کاهش نیترات در ریشه شد و از این طریق زیست‌توده گیاه را افزایش داد (۲۲).

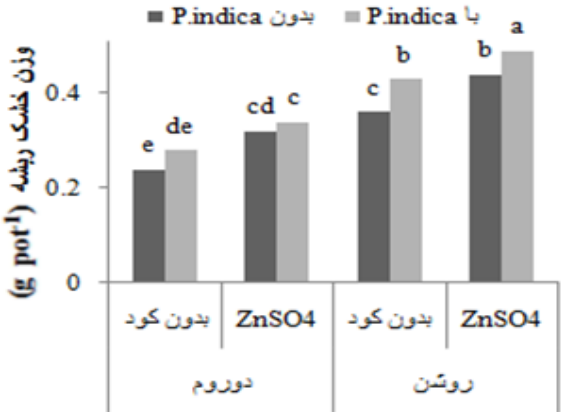
اثر قارچ *P. indica* و سولفات روی بر غلظت عناصر در ریشه و شاخساره گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که قارچ *P. indica* تأثیر معنی‌داری بر غلظت روی و آهن شاخساره در سطح احتمال ۵٪، و بر سایر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱٪ داشته است. تلقیح گیاه با قارچ *P. indica* به‌ترتیب جذب روی ریشه و شاخساره را ۴۶٪ و ۲۶٪ (شکل ۳ و ۴) و جذب آهن

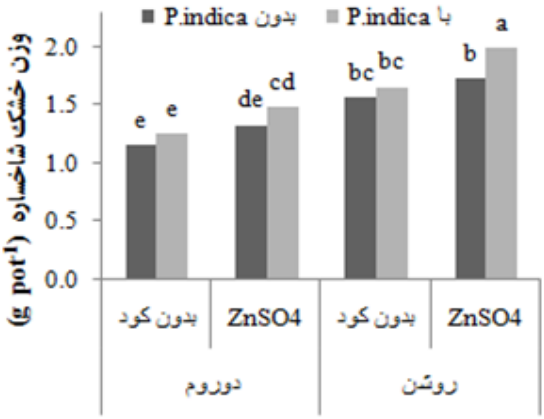
جدول ۲. تجزیه واریانس اثر اصلی و متقابل رقم‌های گندم، سولفات روی و اندوفایت بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در ریشه و شاخساره گیاه

منابع تغییرات	df	میانگین مربعات								
		وزن خشک ریشه	وزن خشک شاخساره	غلظت روی ریشه	جذب روی ریشه	غلظت روی شاخساره	جذب روی شاخساره	غلظت آهن ریشه	جذب آهن ریشه	غلظت آهن شاخساره	جذب آهن شاخساره
اندوفایت (E)	۲	۱/۳**	۱۵/۹**	۳۷۲**	۹۸۸**	۸۸*	۷۰۴**	۲۳۴۳۷**	۱۳۳۴**	۴۶۸*	۲۸۱۷**
سولفات روی (F)	۱	۲/۹**	۳۰/۴**	۶۱۲**	۲۰۱۷**	۴۶۸**	۲۲۰۴**	۷۵۴۸۸**	۸ns	۶۰۰**	۳ns
ژنوتیپ (G)	۱	۱۰/۹**	۱۱/۰**	۴ns	۹۶۳**	۱۱۳*	۱۹۴۴**	۶۰۲۰۰**	۷۶۸۴**	۱۲۹۱**	۴۴۰۶**
FxE	۱	۰/۰۴ns	۲/۴ns	۱۱۷ns	۵۴ns	۱۱۳*	۴۳۳*	۲۴۱ns	۲۰۴ns	۱۴۰ns	۳۷ns
GxE	۱	۰/۱ns	۰/۴ns	۷۱۵**	۳ns	۲ns	۱۷ns	۱۵۳۰۱*	۴ns	۲۰ns	۲۸ns
GxF	۱	۰/۰۶ns	۰/۴ns	۲۴۷ns	۱۴۰*	۱۰۴*	۸۱ns	۱۰۴ns	۱۴۰ns	۸۶۴**	۲۳۶۰**
GxFxE	۱	۰/۰۱ns	۰/۵ns	۷۷ns	۱۳ns	۱۵۰**	۲۱۶*	۵۲۸۰ns	۲۲۸ns	۷۳ns	۲۹۴ns
خطا	۱۴	۰/۰۶	۰/۹	۷۴	۳۴	۱۶	۵۳	۲۶۲۴	۷۰۸	۵۸	۱۶۹
CV(/.)		۷	۶	۹	۱۷	۱۴	۱۷	۹	۱۳	۱۳	۱۴

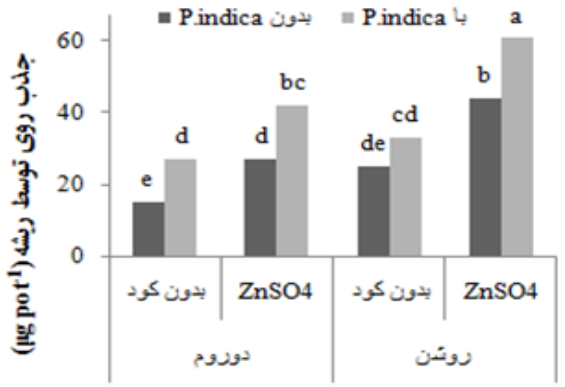
** و * به ترتیب: معنی دار در سطح ۱٪، معنی دار در سطح۵٪ و ns غیر معنی دار



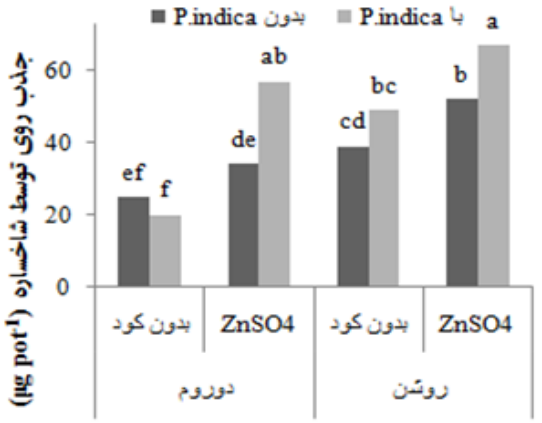
شکل ۱. تأثیر قارچ ***P. indica*** و کاربرد سولفات روی بر وزن خشک ریشه دو رقم گندم



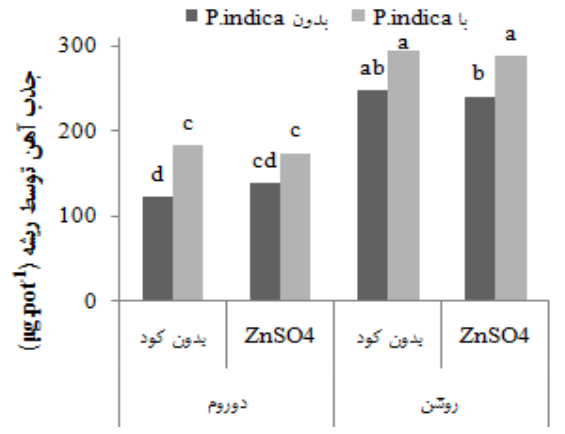
شکل ۲. تأثیر قارچ ***P. indica*** و کاربرد سولفات روی بر وزن خشک شاخساره دو رقم گندم



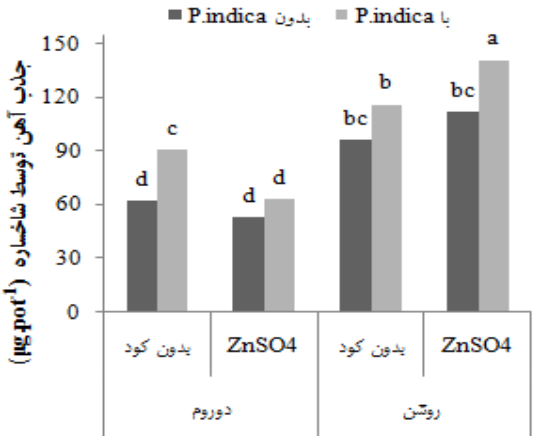
شکل ۳. تأثیر قارچ ***P. indica*** و کاربرد سولفات روی بر جذب روی توسط ریشه دو رقم گندم



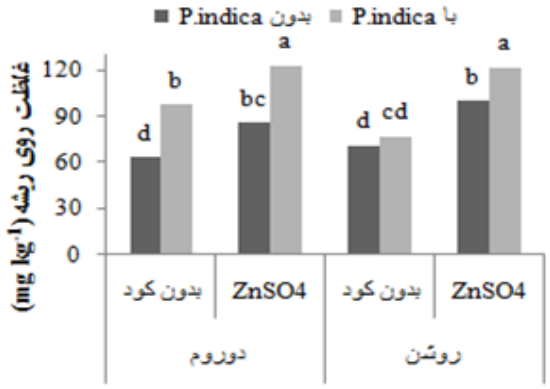
شکل ۴. تأثیر قارچ ***P. indica*** و کاربرد سولفات روی بر جذب روی توسط شاخسار دو رقم گندم



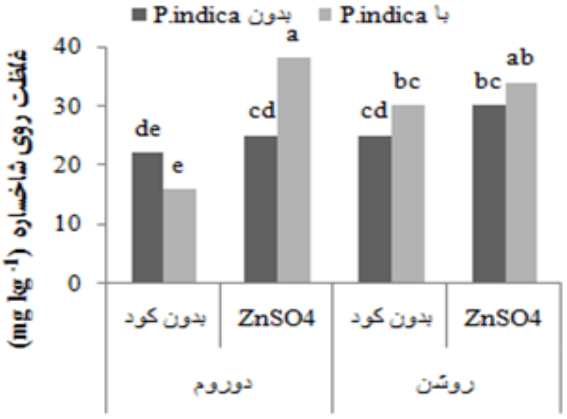
شکل ۵. تأثیر قارچ ***P. indica*** و کاربرد سولفات روی بر جذب آهن توسط ریشه دو رقم گندم



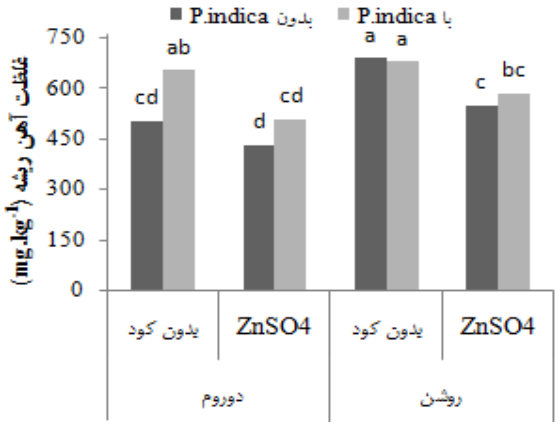
شکل ۶. تأثیر قارچ ***P. indica*** و کاربرد سولفات روی بر جذب آهن توسط شاخسار دو رقم گندم قارچ



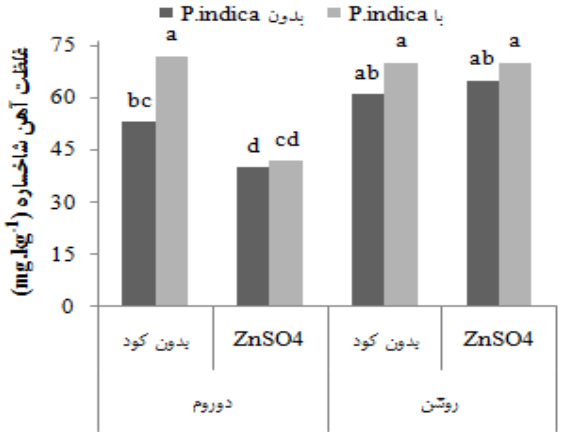
شکل ۷. تأثیر قارچ *P. indica* و کاربرد سولفات روی بر غلظت روی ریشه دو رقم گندم



شکل ۸. تأثیر قارچ *P. indica* و کاربرد سولفات روی بر غلظت روی شاخسار دو رقم گندم



شکل ۹. تأثیر قارچ *P. indica* و کاربرد سولفات روی بر ~~غلظت~~ ~~روی~~ بر غلظت آهن ریشه دو رقم گندم



شکل ۱۰. تأثیر قارچ *P. indica* و کاربرد سولفات روی بر غلظت آهن شاخسار دو رقم گندم

ریشه و شاخساره را ۲۵٪ و ۲۷٪ (شکل ۵ و ۶) افزایش داد. احتمالاً قارچ *P. indica* همانند میکوریزآربسکولار با گسترش هیف‌های خود درون منافذ ریز و اعماق خاک باعث افزایش جذب عناصر کم‌مصرف برای گیاه می‌شود (۸).

از لحاظ غلظت روی ریشه بین دو رقم گندم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. قارچ *P. indica* غلظت و جذب روی در ریشه رقم دوروم را افزایش داد، اما تأثیر معنی‌داری بر غلظت و جذب روی در ریشه رقم روشن نداشت. در حالی که کاربرد سولفات روی جذب و غلظت روی را در هر دو رقم افزایش داد. بنابراین قارچ *P. indica* در افزایش جذب روی در رقم دوروم همانند سولفات روی مؤثر بوده است، اما در رقم روشن سولفات روی موفق‌تر عمل کرده است. کاربرد توأمان سولفات روی و قارچ *P. indica* بیشترین تأثیر را در افزایش جذب و غلظت روی ریشه گیاه داشت (شکل۷ و۳).

غلظت روی شاخساره در رقم روشن ۲۰ درصد بیشتر از رقم دوروم بود. جذب روی در ریشه و شاخساره رقم روشن نیز به‌ترتیب ۴۶٪ و ۵۳٪ بیشتر از رقم دوروم بود. قارچ *P. indica* و سولفات روی تأثیر معنی‌داری بر غلظت روی

شاخساره گیاه نداشتند، اما کاربرد همزمان سولفات روی و قارچ *P indica* باعث افزایش غلظت روی شاخساره گیاه شد. جذب روی توسط شاخساره گیاه نیز در شرایط کاربرد همزمان سولفات روی و قارچ *P. indica* بیشتر بود (شکل۸ و۴). در این رابطه گوسال و همکاران مشاهده کردند جذب روی توسط گیاه در شرایط تلقیح با قارچ *P. indica* افزایش یافت (۱۰). قارچ *P. indica* جذب فسفر، آهن، روی، مس و منگنز را در گیاه افزایش می‌دهد (۲۹). این قارچ با انشعاب هیف‌های خود در منطقه ریزوسفر در جاهایی که حتی ریشه‌های ریز هم نمی‌توانند وارد شوند، باعث افزایش جذب عناصر غذایی می‌شود (۱۰).

از نظر جذب و غلظت آهن رقم روشن وضعیت بهتری داشت و جذب آهن در رقم روشن در حدود ۷۴٪ بیشتر از رقم دوروم بود. بنابراین تأثیر رقم در افزایش ویژگی‌های اندازه‌گیری شده بیشتر از قارچ *P. indica* و سولفات روی است (شکل۹ و ۵). در رقم روشن *P.indica* اثر معنی‌داری بر غلظت آهن ریشه نداشت، اما جذب آهن ریشه را افزایش داد. از آنجا که وزن خشک گیاه در حضور قارچ افزایش یافته است، به‌دلیل اثر رقت، غلظت آهن در گیاهان تلقیح شده ۱۱٪ کمتر از گیاهان تلقیح نشده با *P. indica* بود. در رقم دوروم *P.indica* باعث افزایش جذب و غلظت روی ریشه شد، در حالی که سولفات روی غلظت آهن ریشه را کاهش داد، اما بر جذب آهن ریشه تأثیر معنی‌داری نداشت. از آنجا که سولفات روی سبب افزایش وزن خشک گیاه شده است، این مسئله را می‌توان به اثر رقت مربوط دانست (شکل۹ و ۵). رنگل و گراهام (۲۰) در مطالعات خود دریافتند اگرچه کود دهی روی غلظت روی دانه گندم را افزایش می‌دهد اما به‌دلیل اثر رقت سبب کاهش غلظت سایر عناصر غذایی به ویژه آهن می‌شود. در مطالعات گوسال و همکاران (۱۰) گیاه در شرایط بدون تلقیح، تلقیح شده با سودوموناس فلورسنس، تلقیح شده با *P.indica* و تلقیح توأم باکتری و قارچ به‌ترتیب کمترین تا بیشترین جذب آهن را در زیست‌توده خود داشت.

قارچ *P.indica* غلظت آهن شاخساره را فقط در شرایط بدون سولفات روی در رقم دوروم افزایش داد و در سایر موارد تأثیر معنی‌داری بر غلظت آهن شاخساره نداشت (شکل ۱۰). قارچ *P.indica* باعث افزایش معنی‌دار جذب آهن شاخساره در رقم دوروم در شرایط بدون کاربرد سولفات روی شد، در حالی که در رقم روشن کاربرد قارچ *P.indica* به‌همراه سولفات روی سبب افزایش جذب آهن شاخساره شد (شکل ۶). وارما و همکاران (۲۹) بیان کردند تلقیح گیاهان دچار کمبود آهن با قارچ *P.indica* باعث افزایش جذب آهن و مس می‌شود و غلظت آهن در این گیاهان را تا حد کفایت افزایش می‌دهد. قارچ *P.indica* با گسترش هیف‌ها در درون منافذ ریز و اعماق خاک، باعث افزایش جذب فسفر و عناصر کم‌مصرف برای گیاه می‌شود و از این طریق در بهبود رشد، عملکرد و فرایندهای وابسته به انرژی در گیاه تأثیر مثبت می‌گذارد (۸، ۱۰ و ۱۶).

تیمار مصرف خاکی سولفات روی نیز سبب افزایش وزن خشک شاخساره و غلظت و جذب روی توسط گندم شد و این افزایش‌ها به مراتب بیشتر از تیمار قارچ *P. indica* بود، اما کاربرد سولفات روی بر جذب آهن تأثیری نداشت و با توجه به افزایش وزن خشک گیاه و به‌دلیل اثر رقت، غلظت آهن گیاه در شرایط کاربرد سولفات روی کاهش یافت.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی تلقیح ریشه با قارچ *P. indica* سبب افزایش عملکرد وزن خشک و بهبود جذب آهن و روی ریشه و شاخساره هر دو رقم گندم شد. این تأثیر در رقم دوروم که یک رقم حساس به کمبود روی و آهن (روی و آهن- ناکارآ) می‌باشد بیشتر از رقم روشن به‌عنوان یک رقم متحمل به کمبود روی و آهن (روی و آهن- کارآ) بود. اگرچه جذب روی و آهن همچنان در رقم روشن بیشتر از رقم دوروم بود. تلقیح قارچ *P. indica* با ریشه گندم به‌ویژه رقم روشن به همراه مصرف خاکی سولفات روی بهترین نتیجه را از لحاظ افزایش جذب روی و آهن به دنبال داشت. بنابراین به‌نظر می‌رسد

استفاده از همزیستی قارچ *P. indica* می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر سازگار با محیط زیست برای مقابله با کمبود روی و آهن و البته در کنار کود دهی، مورد توجه قرار بگیرد، اگر چه انجام مطالعات تکمیلی در این زمینه ضروری می‌باشد.

منابع مورد استفاده

1. Alikhani, M., B. Khatabi, M. Sepehri, M. K. Nekouei, M. Mardi and G. H. Salekdeh. 2013. A proteomics approach to study the molecular basis of enhanced salt tolerance in barley (*Hordeum vulgare L.*) conferred by the rootmutualistic fungus *Piriformospora indica*. *Mol. BioSyst.* 9(6): 1498-1510.
2. Alloway, B. J. 2004. Zinc in Soils and Ccrop Nutrition, International Zinc Association Brussels, Belgium. 1150.
3. Bagde, U. S., R. Prasad and A. Varma. 2011. Influence of culture filtrate of *Piriformospora indica* on growth and yield of seed oil in *Helianthus annus*. Symbiosis. 53: 83-88
4. Barrow, N. 1993. Mechanisms of Reaction of Zinc with Soil and Soil Components. Springer. PP.15-31. *In*: Robson, A.D. (Ed.), Zinc in soils and plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. The Netherlands.
5. Black, C. A., D. D. Evans and R. C. Dinauer. 1965. Methods of soil analysis. Part 2. Am. Soc. Agron. Madison.
6. Bonfante, P. and S. Perotto 1995. Tansley Review No. 82 Strategies of *arbuscular mycorrhizal* fungi when infecting host plants. New Phytologist 130(1): 3-21.
7. Cakmak, I., A. Yilmaz, M. Kalayci, H. Ekiz, B. Torun, B. Ereno and H. Braun. 1996. Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in Central Anatolia. Plant. Soil 180: 165-172.
8. Clark, R. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. Plant. Soil. 192(1): 15-22.
9. Das, A., I. Sherameti and A. Varma. 2012. Contaminated Soil: Physical, Chemical and Biological Components. PP. 1-15. In: Bio-Geo Interactions in Metal-Contaminated Soils. India.
10. Gosal, S., A. Karlupia, S. Gosal, I. Chhibba and A. Varma. 2010. Biotization with *Piriformospora indica* and *Pseudomonas fluorescens* improves survival rate, nutrient acquisition, field performance and saponin content of micropropagated Chlorophytum sp. Indian. J. Biotech. 9(3): 289-297.
11. Graham, R. D. and R. M. Welch. 1996. Breeding for Staple Food Crops with High Micronutrient Density. Working Papers on Agricultural Strategies for Micronutrients, No. 3. International Food Policy Research Institute, Washington, D.C.
12. Horowitz, W. 1980. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC. Washington DC. 26-29.
13. Khoshgoftarmanesh, AH. RL. Chaney. 2007. Preceding crop affects grain cadmium and zinc of wheat grown in saline soils of central Iran. J. Environ. Qual. 36(4): 1132-1136.
14. Klute, A. 2011. Detection and characterization of secreted proteins from Piriformospora indica during Arabidopsis roots colonization. PP. 20-21. *In*: Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie. JLU GIESSEN.
15. Martens, D. and D. Westermann. 1991. Fertilizer Application for Correcting Micronutrient Deficiencies. PP. 371-425. In: Mortvedi, J. J., F. R. Cox, L., M. Shuman, and R. M. Welch (Eds.)., Micronuttients in Agriculture. SSSA Book Series No. 4. Madison, WI.
16. Meena, K. K., S. Mesapogu, M. Kumar, M. S. Yandigeri, G. Singh and A. K. Saxena. 2010. Co-inoculation of the endophytic fungus *Piriformospora indica* with the phosphate-solubilising bacterium *Pseudomonas striata* affects population dynamics and plant growth in chickpea. Biol. fert. soil. 46(2): 174-169:46.
17. Milani, P., M. Malakouti, Z. Khademi, M. Balali and M. Mashayekhi. 1998. A fertilizer recommendation model for the wheat field of Iran. swri. Tehran, Iran.
18. Nelson, D. W., L. E. Sommers, D. Sparks, A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M. Tabatabai, C. Johnston and M. Sumner. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. Methods. Soil. Anal. 961-1010.
19. Olsen, S. R., C. Cole, F. S. Watanabe and L. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate, US Department of Agriculture Washington, DC. 22-24.
20. Rengel, Z. and R. D. Graham. 1995. Importance of seed Zn content for wheat growth on Zn-deficient soil. Plant. Soil 173: 259-266.
21. Rhoades, J., D. Sparks, A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M. Tabatabai, C. Johnston and M. Sumner. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. Methods. Soil. Anal. 417-435.
22. Shahollari, B., A. Varma and R. Oelmüller. 2005. Expression of a receptor kinase in *Arabidopsis* roots is stimulated by the basidiomycete *Piriformospora indica* and the protein accumulates in Triton X-100 insoluble plasma membrane microdomains. plant physiol. 162(8): 945-958.
23. Singh, A., J. Sharma, K.-H. Rexer and A. Varma. 2000. Plant productivity determinants beyond minerals, water and

light: *Piriformospora indica*-A revolutionary plant growth promoting fungus. Curr. Sci (Bangalore) 79(11): 1548-1554.
24. Sirrenberg, A., C. Göbel, S. Grond, N. Czempinski, A. Ratzinger, P. Karlovsky, P. Santos, I. Feussner and K. Pawlowski. 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. Physiol. Plant. 131(4): 581-589.
25. Sparks, D. L., A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M. Tabatabai, C. Johnston and M. Sumner. 1996. Methods of Soil Analysis. Part 3-Chemical methods, Soil. Sci. Soc. Am. Inc. 126-127.
26. Thomas, G., D. Sparks, A. P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M. Tabatabai, C. Johnston and M. Sumner. 1996. Soil pH and Soil Acidity. Part 3-chemical methods. Methods. Soil. Anal. 475-490.
27. Trevors, J. 1996. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. J. Micobiol. Methods. 26(1): 53-59.
28. Varma, A., S. Verma, N. Sahay, B. Bütehorn and P. Franken. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Appl. Environ. Microbiol. 65(6): 2741-2744.
29. Varma, A., M. Bakshi, B. Lou, A. Hartmann and R. Oelmueller. 2012. Piriformospora indica: A novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. Agric Res. 1(2): 117-131.
30. Varma, A., A. Singh, N. S. Sahay, J. Sharma, A. Roy, M. Kumari, D. Rana, S. Thakran ,D. Deka and K. Bharti. 2001. *Piriformospora Indica*: an Axenically Culturable Mycorrhiza-like Endosymbiotic Fungus. *Fungal*. Assoc. India. 125-150.

J. Water and Soil Sci (Sci. & Technol. Agric. & Natur. Resour.)
Vol. 21, No. 4, Winter 2018, Isf. Univ. Technol., Isf., Iran.

The Effect of *Piriformospora Indica* on Shoot and Root Dry Matter Yield and Zinc and Iron Uptake by Wheat in a Calcareous Soil

M. J. Asadollahzadeh*, A.H. Khoshgoftarmanesh and M. Sepehri[1]

(Received: Nov. 30-2013 ; Accepted: April 29-2017)

Abstract

Iron (Fe) and zinc (Zn) deficiency is common in wheat growing areas of the world particularly in calcareous soils. Soil application of chemical fertilizers is considered as a cost-effective and easy approach to combat micronutrient deficiency. However, due to economic, environmental, and agronomic constrains, efficiency of soil fertilization is low in most calcareous soils. Therefore, finding proper and effective approaches to improve fertilizer use efficiency and/or soil availability of metal nutrients is of great importance. This research was performed to investigate the effect of endophyte fungus *Piriformospora indica* and Zn-sulfate application on root and shoot dry matter yield and uptake of Fe and Zn by wheat. The experiment was set up in a completely randomized factorial design; each treatment contained three replicates. Two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L. cvs. Durum and Rushan) were exposed to two Zn fertilizer rates (0 and 15 mg/kg $ZnSO_4.7H_2O$) and were inoculated with and without *P. indica*. Results showed that inoculation with *P. indica* increased root and shoot uptake of Fe (25 and 27%, respectively) and Zn (46 and 26%, respectively). In general, inoculation of roots with *P. indica* resulted in significant increase of shoot and root dry matter yield and uptake of Fe and Zn by both studied wheat cultivars. Infection of wheat roots with *P. indica* seems to be an effective and environment-friendly approach to improve Fe and Zn uptake in calcareous soil; although further research is needed to clarify all aspects of this approach

Keywords: Fe and Zn deficiency, Piriformospora indica, Zinc sulphate, wheat.

1. Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Isfahan Univ. of Technol., Isfahan. Iran.
*: Corresponding Author, Email: asadollahzade@gmail.com