بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گندم به برهمکنش قارچ میکوریز و براسینولید در شرایط شوری خاک

کبری توفیقی[۱*]، رمضانعلی خاوری نژاد[۱و۲]، فرزانه نجفی[۱]، خدیجه رضوی[۳] و فرهاد رجالی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۷)

چکیده

شوری خاک، رشد، عملکرد و فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و عملکرد گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی، به کاربرد جداگانه و برهمکنش قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus mosseae*) و تنظیم‌کننده رشد براسینولید در شرایط آبیاری گیاه با آب شور به‌منظور افزایش احتمالی تحمل گیاه به این تنش بود. گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی ۱۴ روزه با براسینولید با غلظت صفر و پنج میکرومولار سه‌بار و یک روز در میان اسپری برگی شدند، سپس به‌مدت ۱۰ روز با محلول کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مولار آبیاری و گروهی در مرحله رویشی جهت بررسی مقدار گلیسین بتائین و قند احیا کننده برگی و گروهی پس از پایان رشد به‌منظور بررسی وزن هزار دانه، وزن سنبله، مقدار پروتئین، ضریب سختی و رطوبت دانه، برداشت شدند. در بین تیمارها، پارامترهای مورد بررسی از جمله درصد پروتئین دانه، وزن هزار دانه بر تیمارهای برهمکنش، تفاوت معنی‌دار نشان داد که می‌تواند به‌دلیل افزایش معنی‌دار گلیسین بتائین و قند احیا کننده در این تیمار و کمک به حفظ شیب پتانسیل آب درون سلول باشد، همچنین تفاوت معنی‌دار در برهمکنش قارچ و براسینولید نسبت به کاربرد جداگانه این دو تیمار در شرایط شوری محیط می‌تواند به‌دلیل تأثیر جداگانه هر تیمار در کاهش اثرات شوری خاک در گیاه و یا اثر افزایشی آنها با تداخل احتمالی بین هورمون‌های داخلی باشد.

واژه‌های کلیدی: براسینواستروئید، تنش اسمزی، *Glomus mosseae*، گندم، پاسخ فیزیولوژیکی

۱. گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران
۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
۳. پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، شهرک پژوهش، تهران
۴. مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشکین دشت، کرج
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: tofighi86@gmail.com

مقدمه

غلظت بالای نمک در خاک و آب آبیاری، از مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش‌های اسمزی در زمین‌های کشاورزی سراسر جهان از جمله ایران (۲۰ درصد زمین‌های کشور) با اقلیمی گرم و خشک محسوب می‌شود (۴). تنش شوری خاک، رشد، عملکرد و فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی گیاهان به‌ویژه محصولات زارعی را تحت تأثیر قرار داده و از این‌رو از مهم‌ترین مشکلات بخش کشاورزی درنظر گرفته می‌شود. شوری می‌تواند موجب کاهش پتانسیل اسمزی خاک، اختلال در جذب عناصر غذایی از ریشه و سمیت سلولی در گیاه شود (۱). این امر خود موجب کاهش پتانسیل آب و کاهش توسعه و رشد سلول می‌شود (۱۷). تغییرات ایجاد شده در هومئوستازی سلولی به نوبه خود موجب تولید انواع اکسیژن فعال (ROS)، اختلال در ساختار غشاها و ماکرومولکول‌ها و آسیب دستگاه فتوسنتزی می‌شود (۳). گیاهان سازوکارهای متنوعی را به‌منظور کاهش اثرات مخرب شوری به‌کار می‌برند که از جمله می‌توان به تجمع مواد سازگار کننده اسمزی و یونی و نیز تقویت سیستم آنتی اکسیدانی در گیاه، اشاره کرد (۶ و ۲۸). امروزه، به‌منظور افزایش تحمل گیاهان به شوری راهکارهای مختلفی از جمله انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری، آبشویی خاک‌های شور، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و کودهای بیولوژیک، کاربرد روزافزونی پیدا کرده است (۳). از راهکارهای حائز اهمیت و کم هزینه‌تر در مقایسه با روش‌های متداول اصلاحی، می‌توان به تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با ایجاد شبکه هیفی وسیع، جذب آب و عناصر غذایی کم‌مصرف و پرمصرف، بهبود ساختمان خاک، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، تغییرات هورمونی و تجمع مواد آلی سازگار اسمزی، اشاره کرد که نقش مهمی در بالاتر رفتن تحمل گیاه به شوری محیط ایفا می‌کند (۱۱). از سوی دیگر، براسینواستروئیدها به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های رشد استروئیدی که اولین بار از گرده *Brassica napus* L. جداسازی شد، نقشی مهم در دامنه وسیعی از فرایندهای فیزیولوژیکی و نموی و پاسخ‌های تنشی گیاه بر عهده دارند (۱۹). تحقیقات نشان داده است که براسینواستروئیدها به‌ویژه با تعدیل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، افزایش کارایی فتوسنتزی و محتوای آب نسبی تحمل گیاه به تنش شوری محیط را بهبود می‌بخشند (۱). اُزدمیر و همکاران (۲۳) گزارش کردند که کاربرد ۲۴- اپی براسینولید در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) موجب افزایش تحمل این گیاه به شوری محیط از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش میزان اسمولیت پرولین و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه می‌شود. از سوی دیگر، تحقیقات انجام شده بر روی گیاه گندم تحت تنش اسمزی نشان داد که کاربرد *Glomus clariodeum* می‌تواند موجب افزایش پایداری غشای سلول و رشد گیاه شود (۵). فنگ و همکاران (۱۳) بهبود تحمل گیاه ذرت میکوریزی را به تجمع بالاتر قندهای محلول در ریشه‌ها مرتبط دانستند. با توجه به آنچه که گفته شد، هدف از انجام این پژوهش بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و عملکرد گیاه گندم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی با تحمل نسبی به شوری (آستانه تحمل شوری حدود ۶۰ میلی‌مولار) به برهمکنش قارچ میکوریز آربوسکولار و تنظیم کننده رشد براسینواستروئیدی در شرایط آبیاری گیاه با آب شور به‌منظور افزایش احتمالی تحمل گیاه به این تنش است (۴).

مواد و روش‌ها

این مطالعه در گلخانه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشگاه خوارزمی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به اجرا درآمد. بذرهای گندم رقم پیشتاز از بخش غلات مؤسسه اصلاح نهال و بذر محمدشهر کرج تهیه و به‌مدت سه دقیقه توسط هیپوکلریت سدیم پنج درصد ضدعفونی و سپس پنج بار با آب مقطر شستشو شدند. سپس بذرها در ظروف پتری ضدعفونی شده به‌منظور جوانه‌زنی بر روی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. پس از پنج روز گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی با گنجایش دو کیلوگرم منتقل شدند که حاوی خاک ضدعفونی شده شامل مخلوط خاک و پیت (با نسبت ۲۰ به یک) و پرلیت

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

آهن	روی	پتاسیم	فسفر	بافت خاک	نیتروژن	کربن آلی	ظرفیت زراعی	pH	سیلت	رس	شن	هدایت الکتریکی
(mg kg^{-1})					(درصد)				(درصد)			(dS m^{-1})
۲/۹	۱/۳	۱۵۹	۱۲/۵	سیلتی لوم	۰/۰۴	۱/۸	۲۳	۸	۲۱	۱۲	۶۷	۱/۵۴

با نسبت دو به یک بودند. خاک مورد استفاده از منطقه کلاک کرج جمع‌آوری و اتوکلاو شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی کرج طبق جدول (۱) تعیین شد. به‌طورکلی تیمارهای استفاده شده شامل سه تیمار قارچ میکوریزی، براسینواستروئیدی و شوری بود. بدین ترتیب که ابتدا خاک نیمی از گلدان‌ها توسط قارچ میکوریز آربوسکولار پودری شکل حاوی هیف‌ها، وزیکول‌ها و آربوسکول‌های *G. mosseae* (تهیه شده از شرکت زیست‌فناور توران، شاهرود) به‌صورت لایه‌ای در دو سانتی‌متری در محل کاشت بذر، آغشته شدند. پس از دو هفته آبیاری منظم گیاهان توسط آب معمولی، با ظهور سومین برگ و پس از اطمینان از میکوریزه شدن ریشه‌ها، هر دو گروه گیاهان میکوریزه و غیر میکوریزه توسط غلظت‌های صفر و ۵۰ میکرومولار ۲۴- اپی براسینولید (خریداری شده از شرکت شیمیایی سیگما) اسپری برگی شدند. تیمار استروئیدی سه مرتبه و یک روز در میان به‌صورت مه‌پاشی از بالا تا پایین گیاه اعمال شد و از محلول توئین ۲۰ (۰/۰۱ درصد) به‌عنوان سورفاکتانت به‌منظور افزایش سطح جذب استفاده شد. در مرحله آخر پس از تیمار استروئیدی، هر گروه ذکر شده به دو زیر گروه دیگر تقسیم شدند و با محلول کلرید سدیم با غلظت صفر و ۱۵۰ میلی‌مولار به‌مدت ۱۰ روز هر سه روز یکبار آبیاری شدند. بدین ترتیب، هشت تیمار به‌صورت زیر تعریف می‌شود:

۱) شاهد، ۲) شوری، ۳) براسینولید، ۴) قارچ میکوریز، ۵) براسینولید × شوری، ۶) قارچ میکوریز × شوری، ۷) قارچ میکوریز × براسینولید × شوری، ۸) قارچ میکوریز × براسینولید

دو روز پس از آخرین تیمار شوری تعدادی از گیاهان در مرحله رویشی به‌منظور آنالیز برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی برداشت شدند. همچنین گیاهان پس از پایان مرحله رشد برداشت نهایی شده و به‌منظور بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی و عملکرد به آزمایشگاه منتقل شدند.

اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه و بررسی شاخص‌های عملکرد

درصد کلونیزاسیون، با استفاده از روش گریندلاین اینترسکت استفاده شد و رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با روش فیلیپس و هیمن (۲۴) انجام شد به‌منظور رنگ‌آمیزی ریشه‌ها، حدود یک گرم نمونه ریشه‌ای به‌مدت یک ساعت در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد در حمام بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس، ریشه‌ها پس از شستشو در درون محلول آب‌اکسیژنه قلیایی ۱۰ درصد به‌مدت ۲۰ دقیقه جهت رنگ‌بری قرارگرفتند و پس از آن به محلول لاکتوگلیسرین- تریپان‌بلو به‌منظور رنگ‌آمیزی به‌مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند. پس از این مدت، قطعاتی از ریشه بر روی لام به‌منظور بررسی آلودگی سلول‌ها منتقل و با میکروسکوپ نوری (مدل Ziess) مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین درصد کلونیزاسیون، ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شد و درصد کلونیزاسیون با شمارش قطعات آلوده قرار گرفته بر یک پتری مشبک و تلاقی خطوط مشبک توسط یک لوپ آزمایشگاهی (مدل) طبق روش گریندلاین اینترسکت و با استفاده از رابطه ۱ تعیین شد:

$$F\ (\%) = \frac{N - N_0}{N} \times ۱۰۰ \qquad [۱]$$

که در آن: N، فراوانی میکوریزایی به درصد؛ N_0، تعداد قطعات بدون آلودگی و N، تعداد کل قطعات مورد بررسی است.

به‌منظور بررسی عملکرد گیاه، وزن هزار دانه و وزن سنبله اندازه‌گیری شد، همچنین، مقدار پروتئین، ضریب سختی و رطوبت دانه با استفاده از دستگاه NIR (Near -infrared reflectance) مدل Perten ۳۱۷۰ سوئیس اندازه‌گیری و به‌صورت درصد بیان شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

برای سنجش مقدار قندهای احیا کننده برگی از روش سوموگی و نلسون (۲۶) و از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد. جهت اندازه‌گیری قندهای احیا کننده، یک میلی‌لیتر عصاره و یک میلی‌لیتر از معرف مس را درون لوله آزمایش ریخته و به‌خوبی به‌هم زده شد. سپس لوله‌ها را در حمام آب جوش به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از سرد شدن لوله‌ها به دمای اتاق، یک میلی‌لیتر معرف آرسنو مولیبدات نلسون به لوله‌ها اضافه شد و جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل شیمادزو (*Shimadzu UV/VIS* 1201) در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و در نهایت غلظت قندهای احیا کننده به‌صورت میلی‌گرم در گرم وزن خشک محاسبه شد. اندازه‌گیری مقدار گلیسین بتائین طبق روش گریو و گراتان (۱۶) و با استفاده از نمودار استاندارد گلیسین بتائین انجام شد. بدین ترتیب که ۰/۲۵ گرم پور خشک گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و برای مدت ۲۴ ساعت تکان داده شد. پس از صاف کردن ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره صاف شده با ۲۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک دو نرمال درون لوله آزمایش مخلوط شده و به‌مدت یک ساعت در حمام یخ قرار داده شد. در مرحله بعد، ۲۰۰ میکرولیتر معرف یدید پتاسیم سرد ($KI-I_2$) به لوله اضافه و با ورتکس هم زده شد. لوله‌ها به‌مدت ۱۶ ساعت در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس محلول دی‌کلرواتان به‌منظور حل کردن کمپلکس پری‌یدید در محیط سرد اضافه شد. پس از تشکیل دو لایه، از لایه رنگی پایینی استفاده شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر در مقابل آب مقطر به‌عنوان شاهد خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های صفر، ۲۰، ۵۰، ۹۰، ۷۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر گلیسین بتائین استفاده شد و مقدار نمونه‌ها به‌صورت میلی‌گرم در گرم وزن خشک، بیان شد.

تجزیه و تحلیل و محاسبات آماری

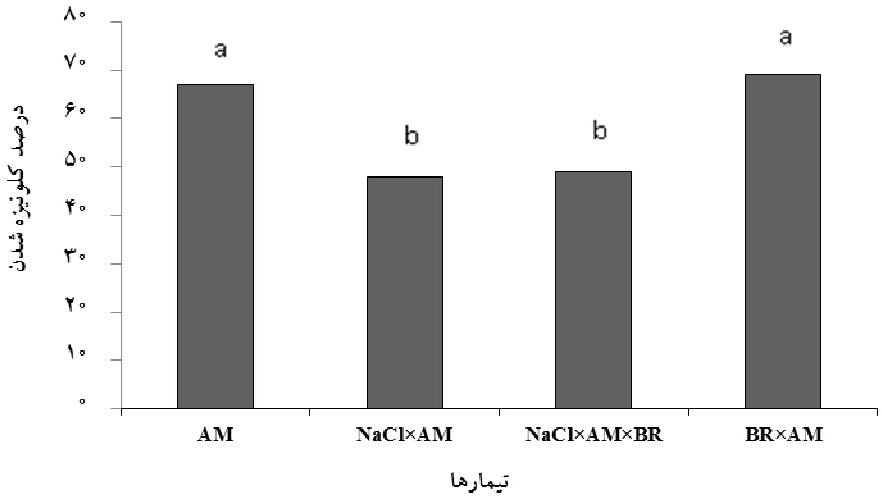
تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد. میانگین تیمارها توسط آزمون دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بررسی تغییرات مربوط به میکوریزاسیون نشان داد که شوری محیط موجب کم شدن درصد کلونیزه شدن ریشه می‌شود (شکل ۱). درحالی‌که در برخی مطالعات افزایش کلونیزاسیون ریشه، با بالا رفتن غلظت شوری مشاهده شده است (۷)، با این وجود در اکثر موارد کاهش درصد کلونیزه شدن در شرایط شوری محیط گزارش شده است که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد (۲۰ و ۲۴).

با این وجود تغییر معنی‌داری در درصد کلونیزه شدن ریشه به‌هنگام کاربرد براسینولید به‌همراه قارچ در شرایط شوری مشاهده نشد. همچنین نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین‌ها و تجزیه واریانس داده‌ها نشان دهنده کاهش وزن هزار دانه و سنبله گیاه در شرایط آبیاری با محلول حاوی کلرید سدیم بود (۷۱/۹) (جدول‌های ۲، ۳ و ۴). کاربرد براسینولید موجب افزایش معنی‌دار وزن سنبله (۳۸/۲۰ درصد) نسبت به شرایط شوری شد. در گیاهان میکوریز شده تحت تیمار کلرید سدیم، وزن هزار دانه (۲۱/۷۱)، وزن کاه‌وکلش (۲۱/۷۹) و وزن سنبله (۴۹ درصد) نسبت به شرایط تیمار کلرید سدیم بهبود پیدا کرد.

همچنین، رطوبت، ضریب سختی و به‌ویژه پروتئین دانه (۳۰ درصد) در شرایط شور کاهش معنی‌دار نشان داد (جدول ۲ و ۳). کاربرد براسینولید، قارچ میکوریز و برهمکنش آنها، موجب افزایش معنی‌دار پروتئین دانه شد که بالاترین آنها ۲۶/۶۰ درصد در تیمار برهمکنش قارچ و براسینولید بود. درحالی‌که در بین



شکل ۱. تأثیر جداگانه و برهمکنش شوری (NaCl) (۱۵۰ میلی‌مولار)، اپی‌براسینولید (BR) (پنج میکرومولار) و تلقیح *Glomus mosseae* (AM) بر درصد کلونیزه شدن در گیاه گندم. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن در چهار تکرار است

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های برخی شاخص‌های عملکرد گیاه گندم در تیمارهای جداگانه و برهمکنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، اپی‌براسینولید (پنج میکرومولار) و تلقیح *Glomus mosseae* در گیاه گندم

تیمارها	وزن سنبله	وزن هزار دانه	رطوبت بذر	ضریب سختی بذر	پروتئین بذر
	(گرم)		(٪)		
شاهد	۲/۷۵^{b}	۴۲^{bc}	۱۳^{a}	۸۷^{c}	۸/۲^{c}
شوری	۱/۰۱^{d}	۳۶/۲۵^{d}	۸^{c}	۷۷/۴۵^{e}	۵/۷۵^{g}
براسینولید	۲/۹۱^{b}	۳۸/۹^{cd}	۱۳^{a}	۸۹^{b}	۸/۷^{b}
قارچ میکوریز	۳/۹۱۶^{a}	۵۳/۷^{a}	۱۴/۷^{a}	۹۳/۰۹^{a}	۱۰/۱^{a}
براسینولید × شوری	۱/۴^{c}	۴۱/۰۵^{bcd}	۸/۵^{bc}	۷۸^{e}	۶/۳۸^{f}
قارچ میکوریز × شوری	۱/۵۱^{c}	۴۴/۱۲^{b}	۱۲/۵^{a}	۸۳/۴^{d}	۷/۰۱۵^{e}
قارچ میکوریز × براسینولید × شوری	۱/۵۵^{c}	۵۰/۷۵^{a}	۱۲^{ab}	۸۴^{d}	۷/۵۹^{d}
قارچ میکوریز × براسینولید	۴/۰۶^{a}	۵۵^{a}	۱۴^{a}	۹۳/۱^{d}	۱۰/۴^{a}

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن در چهار تکرار است.

تیمارهای اعمال شده، تنها تیمار میکوریزی موجب افزایش ۱۰ درصدی ضریب سختی و افزایش ۱۹/۰۴ درصدی رطوبت دانه در مقایسه با شاخص‌های مورد بررسی در شرایط شوری شد و در تیمار برهمکنش میکوریز و براسینولید افزایش معنی‌داری نسبت به‌کاربرد جداگانه این دو تیمار مشاهده نشد. در مورد شاخص‌های فیزیولوژیکی مورد بررسی، هم مقدار قندهای احیا کننده و هم گلیسین بتائین در تیمار کلرید سدیم افزایش نشان داد (شکل ۲ و جدول ۴).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی شاخص‌های عملکرد گیاه گندم در تیمارهای جداگانه و برهمکنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، اپی‌براسینولید (۵ میکرومولار) و تلقیح *Glomus mosseae* در گیاه گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن سنبله	وزن هزار دانه	رطوبت بذر	درجه سختی بذر	پروتئین بذر
		(گرم)		(درصد)		
شوری	۱	۳۳/۳۱**	۱۵۱/۹**	۹۳/۸۴**	۷۷۳/۶۲**	۵۶/۸۱**
براسینولید	۱	۰/۲۶**	۴۶/۳۶*	۰/۲۴^{ns}	۴/۹۷^{ns}	۲/۰۲**
قارچ میکوریز	۱	۴/۳۹**	۱۰۲۹/۲۱**	۵۷/۲۴**	۲۴۴/۹۷**	۱۸/۴۸**
شوری × براسینولید	۱	۰/۰۰۸^{ns}	۸۷/۵۱**	۰/۲۴^{ns}	۰/۳۷۴^{ns}	۰/۰۸^{ns}
قارچ میکوریز × شوری	۱	۱/۳۹**	۵۲/۳۲*	۱۴/۰۴^{ns}	۱/۵۴^{ns}	۰/۶۲*
شوری × براسینولید × قارچ میکوریز	۱	۰/۰۵^{ns}	۳/۳^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۲/۰۹۱^{ns}	۰/۰۱^{ns}
براسینولید × قارچ میکوریز	۱	۰/۰۶^{ns}	۱۹/۴^{ns}	۱/۴۴^{ns}	۱/۸۷۲^{ns}	۰/۰۳^{ns}
خطا	۲۴	۰/۰۳	۱۰/۳۹	۵/۹۲	۱/۶۲	۰/۱

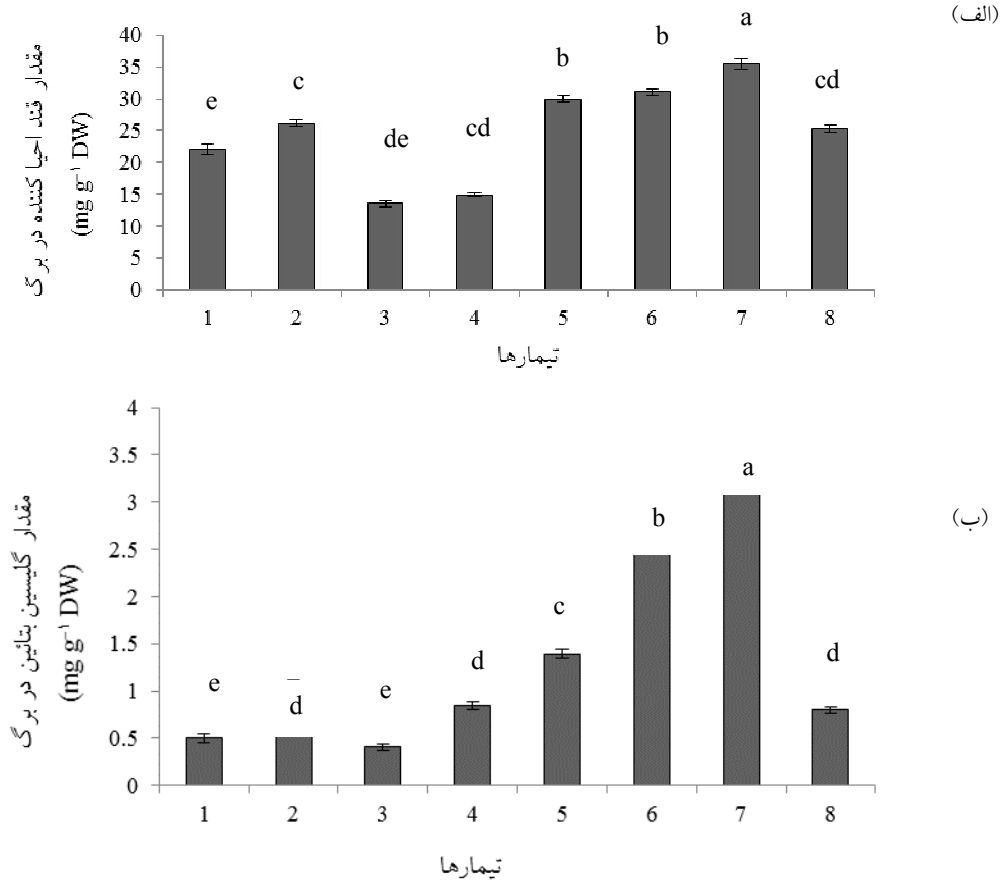
ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی شاخص‌های عملکرد و بیوشیمیایی گیاه گندم در تیمارهای جداگانه و برهمکنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، اپی‌براسینولید (۵ میکرومولار) و تلقیح *Glomus mosseae* در گیاه گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	گلیسین بتائین اندام هوایی	قند احیا کننده اندام هوایی
شوری	۱	۱۹/۵۳**	۳۶۸/۳۵**
براسینولید	۱	۰/۴۷**	۵۱/۷۹**
قارچ میکوریز	۱	۱۰/۷۱**	۱۱۲/۱۶**
شوری × براسینولید	۱	۰/۷۸**	۲۱/۱۱**
قارچ میکوریز×شوری	۱	۴/۹۶**	۱۷/۱۵**
شوری × براسینولید × قارچ میکوریز	۱	۰/۰۹^{ns}	۱/۳۸^{ns}
براسینولید × قارچ میکوریز	۱	۰/۱۳^{ns}	۰/۲۱^{ns}
خطا	۲۴	۰/۰۴	۱/۴۴

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

کاربرد براسینولید به‌ترتیب موجب افزایش قندهای احیا کننده (۳۰/۰۳ درصد) و گلیسین بتائین (۲۹/۹ درصد) برگ در شرایط شوری شد. به‌طور مشابهی در تیمار میکوریزی افزایش قندهای احیا کننده (۱۸/۹۷ درصد) و گلیسین بتائین (۲/۵۹ برابر) در تنش شوری نسبت به تیمار آبیاری با کلرید سدیم مشاهده شد. در تیمارهای برهمکنش قارچ و براسینولید، افزایش معنی‌دار در قندهای احیا کننده (۳۵/۹ درصد) و گلیسین بتائین (۳/۳۳ برابر) نسبت به تیمار شوری و کاربرد جداگانه این دو تیمار، دیده شد. نتایج مشابهی نشان دهنده اثر بهبود دهنده قارچ به‌هنگام تلقیح گندم ارقام *Henta*، *Moaya* و *Samma* با *G.clarum* تحت سطوح شوری ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ گرم در کیلوگرم خاک، با بهبود تجمع مواد غذایی و برخی اسمولیت‌ها مشاهده گردید (۹). بهبود اجزای عملکرد و پروتئین دانه به‌هنگام کاربرد قارچ‌های میکوریزی را می‌توان با افزایش هدایت هیدرولیکی، جذب آب



شکل ۲. تأثیر جداگانه و برهمکنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، اپی‌براسینولید (۵ میکرومولار) و تلقیح *Glomus mosseae* بر: الف) مقدار قند احیا کننده و ب) گلیسین بتائین در گیاه گندم. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن در چهار تکرار است (و تیمارها عبارت است: ۱: شاهد ۲: شوری، ۳: براسینولید، ۴: قارچ میکوریز، ۵: شوری × براسینولید، ۶: شوری × قارچ میکوریز، ۷: شوری × براسینولید × قارچ میکوریز، ۸: قارچ میکوریز × براسینولید)

و عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن و فسفر و نیز افزایش فعالیت آنزیم احیا کننده نیترات یعنی نیترات ردوکتاز مرتبط دانست (۱۸). افزایش درصد پروتئین دانه به‌عنوان شاخصی کیفی حائز اهمیت است و بالاتر بودن سختی دانه با افزایش کیفیت نان در ارتباط است (۱۵). براسینولید می‌تواند با افزایش فتوسنتز، پایداری غشاها و حفظ آب سلول در شرایط تنش شوری اثر بهبود دهنده داشته باشد (۲). همچنین، نتایج به‌دست آمده با یافته‌های العیوا و همکاران (۱۰) مطابقت داشت که در آن کاربرد ۲۴- هوموبراسینولید موجب افزایش شاخص‌های عملکرد در مقایسه با گیاهان در معرض شوری به‌هنگام برداشت شد. به‌نظر می‌رسد، معنی‌دار بودن وزن هزار دانه و پروتئین دانه در تیمار برهمکنش میکوریز و براسینواستروئید، مرتبط با توزیع بیشتر متابولیت‌ها در تشکیل دانه نسبت به بخش‌های رویشی گیاه است. از سوی دیگر، تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین و گلیسین بتائین با تنظیم اسمزی سلول در شرایط تنش شوری و اسمزی و نیز پایداری غشاها و فعالیت آنزیم‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد شده در شرایط شوری محیط، موجب کم شدن اثرات مخرب آن می‌شود

(۲۷). اسمولیت گلیسین بتائین از ترکیبات کواترنری آمونیوم و مشتقات N- متیله اسیدهای آمینه محسوب می‌شود که موجب حفظ شیب پتانسیل آب و حفاظت آنزیم‌ها و به‌ویژه غشاهای تیلاکوئیدی در مقابل یون‌های سمی سدیمی می‌شود (۸). بنابراین، بالاتر رفتن مقدار گلیسین بتائین طی تیمار براسینولیدی، نشان دهنده تنظیم اسمزی در برگ طی تنش شوری است. پاسخ قندهای احیا کننده گیاه در پاسخ به شوری متفاوت است. اما در اکثر مطالعات انجام شده، افزایش سطح قندهای احیا کننده و محلول طی تنش شوری مشاهده شده است (۴). قندها با تنظیم اسمزی و حفظ غشاها، می‌توانند نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه داشته باشند. افزیش قندهای احیا کننده به‌هنگام اسپری برگی براسینولیدی در تنش شوری با افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه و تثبیت دی‌اکسید کربن مرتبط است که موجب سنتز بیشتر این قندها و یا تغییر توزیع این ترکیبات در بخش‌های مختلف گیاه می‌شود. نتایج به‌دست آمده این تحقیق در راستای اثر افزایشی مشاهده شده در گیاه گندم بود (۲ و ۱۴). قارچ‌های میکوریزی نیز به‌طور مشابهی می‌توانند با افزایش کارایی فتوسنتزی و یا تجزیه نشاسته، موجب بالاتر رفتن بیوسنتز قندهای احیا کننده در گیاه و افزایش تحمل آن به تنش شوری شوند که این افزایش با یافته‌های این تحقیق همخوانی داشت (۱۲ و ۲۰). معنی‌دار بودن مقدار گلیسین بتائین و قندهای احیا کننده در برهمکنش قارچ و براسینولید نسبت به کاربرد جداگانه این دو تیمار در شرایط شوری محیط، می‌تواند به‌دلیل تأثیر ذکر شده جداگانه هر تیمار در کاهش اثرات شوری در گیاه و یا اثر افزایشی آنها با تداخل احتمالی بین هورمون‌ها مانند جاسمونیک اسید باشد که به‌تازگی گزارش شده است که غلظت بالاتری در گیاهان میکوریزه دارد (۲۱)، همچنین ممکن است تأثیر براسینواستروئید با تحریک بیوسنتز جاسمونات‌ها همراه باشد (۲۵)، از این‌رو، با توجه به اینکه براسینولید، تأثیری بر درصد کلونیزاسیون در مرحله پایان رشد نداشت، تأثیر برهمکنشی قارچ و براسینولید را نه به افزایش کلونیزه شدن ریشه در حضور براسینولید بلکه به تغییرات و برهمکنش‌های احتمالی هورمونی و یا تأثیر بهبود دهنده جداگانه هر تیمار می‌توان نسبت داد.

نتیجه‌گیری

شوری خاک موجب کاهش اجزای عملکرد و افزایش پارامترهای فیزیولوژیکی شامل قندهای احیا کننده و گلیسین بتائین به‌عنوان شاخص‌های تنش شوری شد. در تیمار برهمکنش قارچ میکوریز و براسینولید از بین اجزای عملکرد، وزن هزار دانه افزایش معنی‌دار پیدا کرد. قندهای احیا کننده و گلیسین بتائین نیز به‌طور مشابهی افزایشی معنی‌دار نشان دادند. تفاوت معنی‌دار در برهمکنش قارچ و براسینولید نسبت به کاربرد جداگانه این دو تیمار در شرایط شوری محیط می‌تواند به‌دلیل تأثیر جداگانه هر تیمار در کاهش اثرات شوری خاک در گیاه و یا اثر افزایشی آنها با تداخل احتمالی بین هورمون‌ها مانند جاسمونیک اسید و همچنین افزایش تحمل گیاه با حفظ پتانسیل آب سلول از طریق افزایش قندهای احیا کننده و گلیسین بتائین باشد.

منابع مورد استفاده

1. Acosta-Motos, J. R., M. F. Ortuno, A. Bernal-Vicente, P. Diaz-Vivancos, M. J. Sanchez-Blanco and J. A. Hernandez. 2017. Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy* 7: 18-56.
2. Alyemeni, M. N., S. Shamsul Hayat, L. Wijaya and A. Abdullah Anaji. 2013. Foliar application of 28-homobrassinolide mitigates salinity stress by increasing the efficiency of photosynthesis in *Brassica juncea*. *Acta Botanica Brasilica* 27(3): 502-505.
3. Ashraf, M. and P. J. C. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 166: 3-6.
4. Ashraf, M. 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13: 7-42.
5. Beltrano, J., M. G. Ronco and E. R. Montaki. 1999. Drought stress syndrome in wheat is provoked by ethylene

evolution imbalance and reversed by rewatering, aminoethoxy vinylglycine or sodium benzoate. *Journal of Plant Growth Regulation* 18: 54-64.
6. Beltrano, J. and M. G. Ronco. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus clariodeum* effects on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20: 29-37.
7. Copeman, R. H., C. A. Martin and J. C. Stutz. 1996. Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or non-saline soils. *Horticultural Science* 31: 341-344.
8. Duke, E. R., C. R. Johnson and K. E. Koch. 1986. Accumulation of phosphorus, dry matter and betaine during NaCl stress of split-root citrus seedlings colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on zero, one or two halves. *New Phytologist* 104: 583–590.
9. El Amri, S. M., M. H. Al-Whaibi, G. M. Abdel-Fattah and M. H. Siddiqui. 2013. Role of mycorrhizal fungi in tolerance of wheat genotypes to salt stress. *African Journal of Microbiology Research* 7(14): 1286-1295.
10. El Eiwa, M. E., S. O. Bafeel and S. A. Ibrahim. 2011. Influence of brassinosteroids on wheat plant (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(5): 49-57.
11. Evelin, H., R. Kapoor and B. Giri. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. *Annals of Botany* 104: 1263–1280.
12. Ezz, T. and N. Amr. 1994. Salinity and mycorrhizal association in relation to carbohydrate status, leaf chlorophyll and activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes in sour orange seedlings. *Alexandria Journal of Agricultural Research* 39: 263–280.
13. Feng, G., F. S. Zhang, X. I. Li, C. Y. Tian, C. Tang and Z. Rengel. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by *Arbuscular mycorrhizal* is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.
14. Fuji, S. and H. Saka. 2001. Distribution of assimilates to each organ in rice plants exposed to a low temperature at the ripening stage and the effect of brassinolide on the distribution. *Plant Production Science* 4: 136–144.
15. Greffeuille, V., J. Abecassis, M. Rousset, F. Oury, A. Faye and A. Lullien-Pellerin. 2006. Grain characterization and milling behavior of near-isogenic lines differing by hardness. *Theoretical and Applied Genetics* 114: 1–12.
16. Grieve, C. M. and S. R. Grattan. 1983. Rapid assay for the determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil* 70: 303–307.
17. Hasegawa, P. M., R. A. Bressan, J. K. Zhu and H. J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 463-499.
18. Hirrel, M. C. and J. W. Gerdemann. 1980. Improved growth of onion and bell pepper in saline soils by two vesicular *Arbuscular mycorrhizal* fungi. *Soil Science Society of America Journal* 44: 654-655.
19. Krishna, P. 2003. Brassinosteroid-mediated stress responses. *Journal of Plant Growth Regulation* 22: 353-364.
20. Marschner, H. and B. Dell. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159: 89-102.
21. Nair, A., S. P. Kolet, H. V. Thulairam and S. Bhargava. 2015. Systematic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternate*. *Plant Biology* 17: 625-631.
22. Ojala, J. C., W. M. Jarrell, J. A. Menge and E. L. V. Johnson. 1983. Influence of mycorrhizal fungi on the mineral nutrition and yield of onion in saline soil. *Agronomy Journal* 75: 255-259.
23. Özdemir, F., M. Bor, T. Demiral and I. Turkan. 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 42: 203-211.
24. Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Impoved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transction of British Mycological Society* 55: 158-161.
25. Schaller, F., C. Biesgen, C. Müssig, T. Altmann and E. W. Weiler. 2000. 12-Oxophytodienoate reductase 3 (OPR3) is the isoenzyme involved in jasmonate biosynthesis. *Planta* 210(6): 979-84.
26. Somogy, M. and N. Nelson. 1952. Notes on sugar determination. *Journal of Biology and Chemistry* 195: 19-29.
27. Subbarao, G. V., R. M. Wheeler, L. H. Levine and G. W. Stutte. 2001. Glycinebetaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting levels of sodium supply. *Journal Plant Physiology* 158:767–776.
28. Zhang, H. J., H. Z. Dong, W. J. Li and D. M. Zhang. 2011. Effects of soil salinity and plant density on yield and leaf senescence of field-grown cotton. *Journal of Agronomy and Crop Science* 198 (1): 27-37.

Journal of Water and Soil Science (Science and Technology of Agriculture and Natural Resources)
Vol. 22, No. 2, Summer 2018, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Interaction Effects of Applying *Mycorrhiza* and Brassinolide on the Physioloical Parameters of Wheat under Soil Salinity

C. Tofighi[1*], R. A. Khavari-Nejad[1,2], F. Najafi[1], KH. Razavi[3] and F. Rejali[4]

(Received: March 14-2016 ; Accepted: July 8-2017)

Abstract

Salinity adversely affects crops metabolism and yield. The present work was conducted to evaluate the singular and interaction influences of *Arbuscular mycorrhizal* (AM) fungi and brassinolide, as an active group of (brassinosteroids) BRs, on some physiological parameters of wheat plants to cope with salt stress14-day old mycorrhizal (*Glomus mosseae*) and non- mycorrhizal wheat (*Triticum aestivum* L.). Plants were foliar sprayed with 0 and 5 µM epibrassinolide 3 times once every two days. Then, each group was treated with 0 and 150 mM NaCl once every 3 days for 10 days. After salt treatment, some plants were harvested to estimate the leaf reducing sugar and glycine betaine contents. After the final growth, all wheat plants were harvested to measure some yield parameters. Synergistic influence of brassinolide and AM fungi was observed in protein and 1000-grain weight. It seemed that this was rooted in the increased accumulation of reducing sugars and glycine betaine, both helping to maintain osmotic potential in cells under high salinity in soil.

Keywords: Brassinosteroid, *Glomus mosseae,* Wheat, Salt stress, Physiological responses

1. Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
2. Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
3. National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Shahrak-e Pajoohesh, Tehran, Iran.
4. Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension, Meshkindasht, Karaj, Iran.
*: Corresponding Author, Email: tofighi86@gmail.com