[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]

[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]

اثر قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* بر افزایش مقاومت گیاه جوبه فلز سرب

فاطمه کریمی شرودانی*، مژگان سپهری، مجید افیونی و محمدعلی حاج عباسی[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۹/۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۲۹)

چکیده

قارچ‌های اندوفایت به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گروه میکروارگانیسم‌های خاک با ایجاد تغییرات ژنتیک، فیزیولوژیک و اکولوژیک در گیاهان میزبان خود نقش مؤثری در تحریک رشد گیاه و نیز افزایش توان تحمل گیاه نسبت به تنش‌های زیستی وغیرزیستی ایفا می‌نمایند. این‌تحقیق با هدف ارزیابی تأثیر قارچ *Priformospora indica*بر افزایش توان تحمل گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) به فلز سرب انجام شده است. بدین‌منظور آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به‌صورت فاکتوریل با دو سطح قارچ (تلقیح شده و تلقیح نشده) و ۵ سطحفلز سرب (۵۰۰ ،۱۰۰ ،۵۰ ،۲۵ ،۰ mg/kg) در سه تکرار انجام شد. اندازه‌گیری وزن خشک زیست توده اندام هوایی و ریشه نشان داد که عملکرد گیاهان تیمار شده با قارچ در تمامی سطوح اعمال شده سرب به میزان معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۵$) بالاتر از گیاهان فاقد قارچ بود. همچنین غلظت کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* بیشتر از گیاهان شاهد (تلقیح نشده) بود. بررسی غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه گیاهان بیان‌گر افزایش تجمع سرب در ریشه گیاهان تلقیح شده و کاهش غلظت این عنصر در اندام هوایی گیاهان مذکور می‌باشد.

واژه‌های کلیدی:*Priformospora indica*، سرب، جو

۱. گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:fatemeh.karimi@rocketmail.com

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]

[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]

مقدمه

گیاهان در رویشگاه‌های طبیعی و یا در شرایط زراعی غالباً در معرض عوامل محیطی زنده و یا غیرزنده‌ای قرار می‌گیرند که به‌دلیل ایجاد اختلال یا توقف در فعالیت‌های زیستی و در نتیجه کاهش رشد و عملکرد آنها به‌عنوان عوامل تنش‌زا شناخته می‌شوند. گیاهان هرگز نخواهند توانست خود را از شرایط تنش‌زای محیطی دور نگه دارند، لذا به‌ناچار استراتژی‌های مختلفی جهت سازش با شرایط محیطی نامطلوب و خنثی‌نمودن اثرات تنش اتخاذ می‌نمایند. تولید گیاهان تراریخته (Transgenic) مقاوم به تنش‌های زیستی و غیرزیستی از طریق مهندسی ژنتیک مانندستکاری در DNA نوترکیب علی‌رغم صرف وقت و هزینه زیاد از موفقیت چندانی برخوردار نبوده است. لذا کاربرد روش‌های بیولوژیک مانند استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید و دارای توان همزیستی با گیاهان مانند باکتری‌های محرک رشد گیاه Plant Growth Promoting Rhizobacteria(PGPR) و قارچ‌های اندوفایت جهت افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی ازجمله شوری، خشکی، سرما و آلودگی خاک به فلزات سنگین محققان را در نیل به کشاورزی پایدار امیدوارتر نموده‌است. *Priformospora indica*یکی از قارچ‌هایاندوفایت شبه میکوریزی است که توسط وارما و همکاران از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی‌پسند کهور (*Prosopis juliflora*)و کنار (*Zizyphu snummularia*) از صحرای تار (Thar) ایالتراجستان کشور هندوستان کشف شد. قارچ *P. indica*با کلنیزاسیون ریشه گیاهان میزبان مختلف سبب تحریک رشد و افزایش مقاومت آنها به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌گردد. این قارچ برخلاف قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (AM) کههمزیستاجباری گیاهان میزبان هستند، همزیست اختیاری است و به‌آسانی در محیط‌های کشت مصنوعی قادر به رشد می‌باشد (۳، ۲۰). از اینرو بهره‌گیری از توان این قارچ در افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی از جمله فلزات سنگین (کادمیم، مس، سرب و...) از اهمیت به‌سزایی برخوردار است.

سرب عنصری بسیار سمی است و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های مهم محیط زیست محسوب می‌گردد. میانگین فراوانی سرب در پوسته زمین حدود ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک تخمین زده شده است. سرب غالباً به شکل Pb^{2+} برای گیاه قابل استفاده است. سنگ‌های مادری، عمده‌ترین منبع طبیعی سرب موجود در خاک‌ها می‌باشند، اما احتراق بنزین سرب‌دار، صنایع فراوری فلزات، کارخانه‌های باطری‌سازی، کاربرد ضایعات شهری و کاربرد لجن فاضلاب از دیگر منابع ورود این فلز به محیط به‌شمار می‌روند (۴ و ۹). وجود کمپلکس‌های پایدار آلی دارای سرب در خاک‌های آلوده، مواد آلی را به‌عنوان منبع مهم سرب در چنین خاک‌هایی معرفی می‌کند (۱۱). ورود سرب به خاک، راه ورود آن به‌چرخه غذایی انسان و سایر جانوران زنده را هموار خواهدکرد، زیرا علی‌رغم عدم وجود این عنصر به‌صورت محلول و قابل دسترس گیاه در خاک، مقادیر زیادی از آن می‌تواند از طریق ریشه‌های موئین جذب و در دیواره‌های سلولی گیاه تجمع یابد (۱۳). زیمدال و کوئپ (۲۴) اظهار نمودند که فرآیند اصلی مؤثر در تجمع سرب در ریشه، ساقه و برگ‌های گیاه، رسوب این عنصر به‌صورت پیروفسفات در طول دیواره‌های سلول گیاهی می‌باشد.

کاباتاپنـدیاس و پنـدیاس(۹) نشان دادند که ذرت (*Zea mays*) و آفتابگردان (*Helianthus annus*) قادرند مقادیر زیادی از سرب را در ریشه‌های خود انباشته کنند. تحقیقات نشان داده است که غلظت‌های پایین سرب دارای اثراتبازدارنده بر متابولیسم گیاه است. این تحقیقات همچنین بر اثرات سمی سرب بر فرآیندهایی هم‌چون تقسیم میتوز ، فتوسنتز و جذب آب اشاره دارند (۱۹).

علائم سمیت سرب در گیاه چندان اختصاصی نیستند، این‌عنصر با ایجاد اختلال در واکنش‌های انتقال الکترون، بر فرآیندهای فتوسنتز و تنفس گیاه اثر سوء برجای می‌گذارد. زیمدال (۲۳) نشان داد که وجود یک میلی‌گرم در کیلوگرم سرب در میتوکندری ذرت، واکنش‌های انتقال الکترون و فتوسنتز را دچار اختلال می‌کند. غلظت سرب در ریشه‌ها با

مقدار سرب خاک همبستگی داشته که این موضوع ، جذب زیاد سرب توسط گیاه را نشان می‌دهد.

تاکنون تحقیقات متعددی در مورد نقش قارچ *P. indica*در بهبود رشد و عملکرد گیاهان مختلف و همچنین افزایش تحمل گیاه به تنش‌های زیستی (بیماری‌های گیاهی) و غیرزیستی از جمله شوری و خشکی (۱۵،۲) صورت گرفته است. علی‌رغم وجود گزارشاتی در مورد نقش قارچ *P. indica* در افزایش مقاومت گیاه به فلزات سنگین، هنوز تحقیق جامعی در این مورد صورت نگرفته است. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر قارچ *P. indica* در افزایش مقاومت گیاه جو (*Hordeum vulgare*) به سرب و نیز تأکید بر خاصیت تحریک کنندگی رشد این قارچ صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی توان قارچ *P. indica* در تحریک رشد گیاه جو و همچنین مطالعه تأثیر آن بر افزایش مقاومت این گیاه به تنش آلودگی خاک به فلز سرب آزمایش گلخانه‌ای در گلدان‌های یک کیلوگرمی با استفاده از مخلوطی از ماسه و پرلیت استریل (۲:۱v/v)در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل با ۳ تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل۲ سطح قارچ *P. indica*(تلقیح و عدم‌تلقیح)، ۵ سطح فلز سرب (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) بودند. بدین‌منظور بذور جو (رقم Pallas تهیه شده از دانشگاه گیسن آلمان) به‌ترتیب با الکل ۹۸٪ به‌مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۷٪ به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و در پتری‌های حاوی آب- آگار ۱٪ جوانه‌دار شدند. پس از آن‌که طول ریشه‌چه بذور جوانه‌دار شده به‌حدود ۲ سانتی‌متر رسید، با محلول آب-توئین ۲٪ حاوی 5×10^{6} mL^{-1} اسپور تلقیح و تعداد ۴ عدد گیاه‌چه تلقیح شده در هر گلدان کاشته شدند. لازم به‌ذکر است که درمورد تیمارهای شاهد بذرهای جوانه‌دار شده جو با محلول آب-توئین فاقد اسپورهای قارچ آغشته و در گلدان‌های حاوی بستر کشت کاشته شدند. گلدان‌ها پس‌از کشت،به گلخانه با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعته و با حداکثر دمای روزانه ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه حداقل ۱۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰٪، شدت روشنایی ۱۰۰۰۰ لوکس منتقل و طی دوره رشد به‌مدت پنج هفته با محلول غذایی Wuxal Top N (N/P/K:12/4/6) آبیاری شدند. پس از یک هفته از کاشت، نمونه‌برداری از ریشه گیاهان تلقیح شده جهت اطمینان از برقراری همزیستی و تعیین میزان کلنیزاسیون ریشه صورت پذیرفت. اعمال تنش ناشی از آلودگیسرب پس از گذشت ده روز از کاشت گیاهان انجام گرفت و به‌منظور جلوگیری از شوک ناگهانی ناشی از اثرات تنش، اعمال تنش به‌صورت تدریجی و در طی یک هفته توسط محلول نیترات سرب ($PbNO_3$)صورت پذیرفت. ۴ هفتهپس از اعمال تنش‌های مورد نظر و مشاهده اختلاف ظاهری در رشد گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* در شرایط طبیعی و تنش، قبل از برداشت گیاهان، غلظت کلروفیل با استفاده از دستگاه اسپد(Spad) اندازه‌گیری شد. در هنگام برداشت، گیاهان از محل طوقه قطع و وزن تر اندام هوایی آنها اندازه‌گیری شد.

همچنین ریشه‌ها با دقت از خاک خارج گردیدند و پس از شستشو با آب و جدا نمودن تمام ذرات شن و پرلیت چسبیده به آنها در پاکت‌های کاغذی قرار داده شدند. همچنین وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه با قرار دادن نمونه‌های گیاهی در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انجام پذیرفت. جهت تعیین مقدار سرب موجود در اندام هوایی و ریشه گیاه، نمونه‌های گیاهی آسیاب شده به‌مدت ۲ ساعت در حرارت ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد در کوره سوزانده شدند و پس از عصاره‌گیری با اسیدکلریدریک ۲ نرمال در بالن ۵۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شدند و غلظت سرب آنها با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Perkin-Elmer 3030 قرائت شد.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SASو مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد از نظر آماری انجام شد.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات صفات ارزیابی شده در سطوح مختلف سرب و تلقیح قارچ *P.indica*

		میانگین مربعات صفات مورد مطالعه					
منبع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	تعداد پنجه	غلظت کلروفیل	غلظت سرب اندام هوایی	غلظت سرب ریشه
تکرار	۲	۰/۰۰۲۱^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}	۰/۹۴*	۳۴/۸۳^{ns}	۲۲/۷۵^{ns}	۸۸۸۱/۰۵^{ns}
تنش سرب	۱	۰/۰۰۷۱*	۰/۰۰۱***	۰/۳۲۸^{ns}	۹۰/۹۹^{ns}	۶۲۰۵/۹۹***	۳۳۶۲۷۰***
تلقیح	۴	۰/۴۰۱***	۰/۰۹۶***	۳/۸۸***	۳۵۴/۳۲**	۴۹۲/۰۷*	۸۲۶۸۷/۵*
سرب × تلقیح	۴	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۲***	۰/۲۹^{ns}	۲۱/۴۸^{ns}	۴۰۶/۵۳**	۱۷۱۶۷^{ns}
خطای آزمایش		۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۲۳	۳۵/۳	۸۴/۹۲	۱۲۷۲۴
CV		۶/۹۴	۳/۴۲	۹/۷۸	۱۸/۱۵	۳۲/۰۱	۵۸/۶۷

*، **، *** و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵، ۱، ۰.۱ درصدو عدم اختلاف معنی‌دار

نتایج

بررسی توان آلوده‌سازی ریشه توسط قارچ *P. indica*

مطالعه میکروسکوپی صورت گرفته روی ریشه‌های تلقیح شده با قارچ *P.indica* نشان داد که این قارچتوانایی بالایی در کلنیزاسیون ریشه گیاه میزبان مورد آزمایش داشته،به‌طوری که درصد کلنزاسیون ریشه‌های مذکور بین ۹۰-۸۰ درصد بود. مشاهدات میکروسکوپی، انبوهی از هیف‌های برون‌ریشه‌ایحاصل از رشد اسپورهای قارچ مذکور را در سطح خارجی و کورتکس ریشهنشان داد.

مقایسه شاخص‌های فیزیولوژیک گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ *P. indica* در شرایط آلودگی خاک به سرب

مقایسه صفات فیزیولوژیک گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ در سطوح مختلف سرب مستلزم بررسی و مطالعه اثرات متقابل تیمارهای آزمایش (قارچ و سرب) بر صفات مذکور است. تجزیه واریانس یافته‌های این پژوهش (جدول ۱) نشان می‌دهد که از بین صفات فیزیولوژیکی مختلف، اثرات متقابل سرب و قارچ بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه و غلظت سرب اندام هوایی معنی‌دار شده‌است که به بررسی و تفسیر آنها پرداخته می‌شود.

وزن خشک اندام هوایی

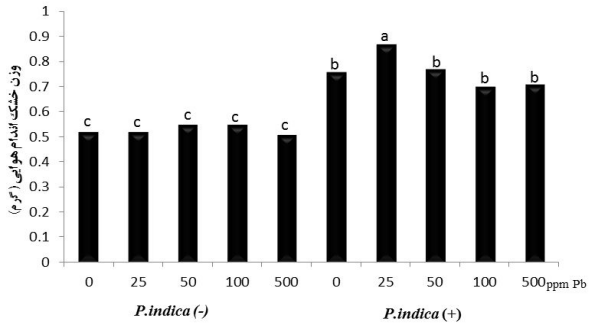
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر قارچ، سرب و اثر متقابل آنها بر وزن خشک اندام هوایی گیاهان معنی‌دار شده است (جدول ۱). همان‌طور که نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد (جدول ۲) وزن خشک اندام هوایی گیاهان شاهد (عدم تلقیح با قارچ) در تیمار فاقد سرب و سایر سطوح این فلز، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. اما در گیاهان تلقیح شده با قارچ به استثناء تیمار ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، سایر سطوح این فلز فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد می‌باشند. افزایش مقدار سرب از سطح ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم به ۵۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم تأثیر کاهشی قابل توجهی (۲۲ درصد) بر وزن خشک بخش هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ داشته است. درحالی‌که درمورد گیاهان شاهد،

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با قارچ *P. indica*

صفت مورد مطالعه		سطوح مختلف سرب (میلی‌گرم برکیلوگرم)					میانگین
		۰	۲۵	۵۰	۱۰۰	۵۰۰	
وزن خشک اندام هوایی	شاهد	۰/۵۲^{c}	۰/۵۲^{c}	۰/۵۵^{c}	۰/۵۵^{c}	۰/۵۱^{c}	۰/۵۳^{b}
	تلقیح شده	۰/۷۶^{b}	۰/۸۷^{a}	۰/۷۷^{b}	۰/۷^{b}	۰/۷۱^{b}	۰/۷۶^{a}
وزن خشک ریشه	شاهد	۰/۳۸^{c}	۰/۳۵^{cd}	۰/۳۱^{e}	۰/۳۵^{cd}	۰/۳۱^{e}	۰/۳۴^{b}
	تلقیح شده	۰/۴۶^{a}	۰/۴۲^{b}	۰/۴۶^{a}	۰/۴۷^{a}	۰/۴۶^{a}	۰/۴۵^{a}
تعداد پنجه	شاهد	۳/۹۱^{e}	۴/۲^{de}	۴/۲۵^{de}	۴/۰۸^{de}	۴/۱۶^{de}	۴/۱۳^{b}
	تلقیح شده	۴/۵۸^{cd}	۵^{bc}	۵^{bc}	۵/۵۸^{a}	۵/۳^{ab}	۵/۱^{a}
غلظت کلروفیل	شاهد	۳۴/۹۳^{abc}	۲۴/۵۶^{d}	۳۱/۰۱^{bcd}	۳۰/۰۶^{bcd}	۲۵/۸۳^{cd}	۲۹/۲۹
	تلقیح شده	۴۱/۳^{a}	۳۷/۸۶^{ab}	۳۶/۸^{ab}	۳۵/۷^{abc}	۲۹/۱^{bcd}	۳۶/۱۶
غلظت سرب اندام هوایی	شاهد	۰^{d}	۸^{cd}	۱۸/۱۶^{c}	۱۷/۱۶^{c}	۸۰/۳۳^{a}	۲۴/۷۳^{b}
	تلقیح شده	۰^{d}	۷/۶۶^{cd}	۲۰/۱۶^{c}	۵۴/۶۶^{b}	۸۱/۶^{a}	۳۲/۸۳^{a}
غلظت سرب ریشه	شاهد	۰^{e}	۵۸^{de}	۷۴/۱۷^{cde}	۷۶/۶۷^{de}	۴۹۰^{b}	۱۳۹/۷۷^{b}
	تلقیح شده	۰^{e}	۴۰/۶۷^{de}	۲۱۷/۵^{cd}	۲۸۱^{c}	۷۰۴^{a}	۲۴۴/۷۷^{a}

میانگین‌هایی با حروف یکسان تفاوت معنی‌دار از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.



شکل ۱. وزن خشک اندام هوایی گیاهان جو تلقیح شده با قارچ *P.indica* در مقایسه با گیاهان شاهد در سطوح مختلف سرب

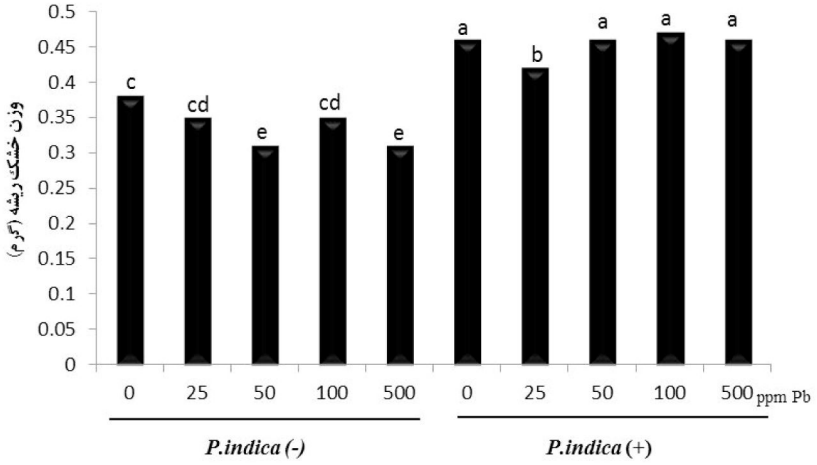
اختلاف صفت مذکور در این سطوح از سرب تنها ۲ درصد است.

شکل ۱ به‌خوبی بیان‌گر آن است که کمترین مقدار وزن خشک اندام هوایی در گیاهان مورد مطالعه (تلقیح شده و تلقیح نشده) متعلق به بالاترین تیمار سرب است. همچنین در تمام سطوح سرب، وزن خشک اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ به میزان قابل توجهی بالاتر از گیاهان شاهد است. به‌طوری‌که میزان افزایش وزن خشک بخش هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ *P.indica* نسبت به گیاهان شاهد در سطوح صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم سرب به‌ترتیب ۴۶، ۶۷، ۴۰، ۲۷ و ۳۹ درصد است.

وزن خشک ریشه

نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]



می‌دهد که اثر تیمارهای سرب، قارچ و اثر متقابل آنها بر وزن خشک ریشه در سطح ۰/۱ درصد معنی‌دار است. اعمال تیمار ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم سرب سبب کاهش وزن خشک ریشه گیاهان شاهد و تلقیح شده به‌ترتیب به میزان ۸ و ۱۰ درصد نسبت به شرایط فاقد آلودگی سرب گردید. وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم سرب فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر هستند. اما در گیاهان شاهد، تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم سرب با تیمارهای ۵۰ و ۵۰۰ دارای اختلاف معنی‌دار است. همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد، بالاترین وزن خشک ریشه گیاهان شاهد و تلقیح شده مربوط به شرایط فاقد تنش آلودگی سرب است و با اعمال سرب از میزان صفت مذکور کاسته شده است.

شکل ۲ بیانگر آن که وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح شده در هر سطح سرب به‌طور معنی‌داری بالاتر از گیاهان شاهد (تلقیح نشده) بوده‌است، به‌طوری‌که در سطوح ۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به‌ترتیب شاهد افزایش ۲۱، ۲۰، ۴۸، ۳۴ و ۴۸ درصدی صفت مذکور در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد(تلقیح نشده) هستیم.

تعداد پنجه

اثر قارچ بر تعداد پنجه گیاه جو معنی‌دار بوده ولی اثر سرب و اثر متقابل قارچ و سرب بر این شاخص معنی‌دار نشده است. تعداد پنجه در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد به‌میزان ۲۳/۴ درصد افزایش یافته است (جدول ۲).

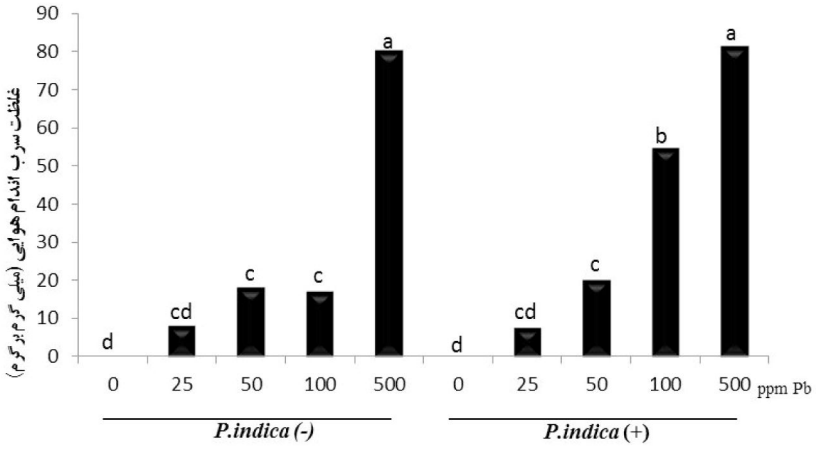
غلظت کلروفیل

اثر قارچ برغلظت کلروفیل برگ گیاهان معنی‌دار بوده است، اما اثر سرب و اثر متقابل قارچ و سرب بر صفت مذکور معنی‌دار نشده است. قارچ *P.indica*باعث گردید که غلظت کلروفیل در برگ گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان شاهد (تلقیح نشده) به‌میزان ۲۳/۴ درصد افزایش یابد.

غلظت سرب گیاه

اثر قارچ و سرب برغلظت سرب اندام هوایی و ریشه معنی‌دار بوده است، اما اثر متقابل تیمارها تنها بر غلظت سرب اندام هوایی معنی‌دار است. افزایش سطح اعمال تیمار سرب، غلظت سرب موجود در اندام هوایی و ریشه گیاه را افزایش داد، به‌صورتی که غلظت سرب ریشه در تمامی سطوح تنش به‌میزان قابل‌توجهی بالاتر از میزان آن در اندام هوایی بود. همچنین غلظت سرب در ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ به‌میزان ۳۲/۳ درصد بیشتر از میزان آن در ریشه گیاهان شاهد بدون تلقیح است. اختلاف معنی‌دار غلظت سرب اندام هوایی نسبت به سطح صفر در گیاهان شاهد و تلقیح شده درسطوح ۵۰، ۱۰۰ و

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]



۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)غلظت سرب اندام هوایی گیاهان شاهد و تلقیح شده همگام با افزایش سطح تنش اعمال شده سرب در بستر کشتافزایش یافته است. همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌دار غلظت سرب اندام هوایی نسبت به پایین‌ترین سطح تیمار سرب (۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) در گیاهان شاهد تنها در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرمبرکیلوگرم و در گیاهانتلقیح شده در تیمارهای ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وجود دارد. همچنین، شکل ۳ بیان‌گر آن است که غلظت سرب اندام هوایی گیاهان تلقیح شده و گیاهانشاهد (تلقیح نشده) تنها در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشد. به‌طوری که در این سطح، غلظت سرب گیاهان تلقیح شده به‌میزان ۲۱۸ درصد بالاتراز گیاهان شاهد می‌باشد. اگرچه غلظت سرب در اندام هوایی گیاهان تلقیح شده در سطح ۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم نیز بالاتراز گیاهان شاهد می‌باشد، اما این اختلاف معنی‌دار نشده است.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان‌داد که قارچ *P.indica*دارای توان بالایی در اشغال ناحیه کورتکس ریشه گیاه میزبان می‌باشد. نحوه کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ *P.indica* به‌این‌صورت است که هیف‌های قارچ مذکور ابتدا در سطح ریشه کلونی تشکیل‌داده وازطریق ایجاد ساختاری شبیه به اپریسوریوم (برجستگی نوک هیف یا لوله جوانه که قبل از نفوذ خود را به‌میزبان می‌چسباند) از سلول‌های غشایی ریشه عبورکرده و وارد سلول‌های کورتکس ریشه می‌شوند. سپس ساختارهایی شبیه وزیکول یا اسپور را در داخل و خارج سلول‌های کورتیکال تشکیل می‌دهند. هیف‌های قارچ *P.indica* همانند آربوسکولار میکوریز در بافت‌های کورتیکال میزبان تکثیر یافته و هرگز وارد بافت اندودرم ریشه نمی‌شوند و از طریق بافت‌های آوندی به قسمت هوایی (ساقه و برگ) گیاه هجوم نمی‌برند. مطالعات نشان داده است که هیف‌های قارچ *P.indica* از طریق تولید آنزیم‌های کربوکسیل متیل سلولاز، اکسیلاناز و پلی‌گالاکتونازبه سلول‌های ریشه گیاه میزبان نفوذ می‌کنند. به‌طورکلی، نفوذ این قارچ به دیواره سلولی ریشه گیاه میزبان از طریق تولید آنزیم‌هایهیدورلیتیک یا فشار مکانیکی یا ترکیب این دو انجام می‌پذیرد (۲۰).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق بیانگر نقش مهم قارچ *P.indica* در تحریک رشد و افزایش مقاومت گیاه جو به آلودگی فلز سرب است. مقایسه وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاها ن تلقیح شده با قارچ نسب به گیاهان شاهد در شرایط فاقد آلودگی سرب به‌خوبی بر اثر تحریک کنندگی رشد گیاه توسط قارچ *P.indica* دلالت دارد، به‌طوری‌که تلقیح ریشه جو با این‌قارچ سبب افزایش مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشه به‌ترتیب به‌میزان ۴۶ و ۲۱ درصد نسبت به‌شرایط بدون تلقیح گردید.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]

تأثیر تلقیح قارچ *Piriformospora indica* در افزایش زیست‌توده یا بیومس گیاهان ذرت (*Zea mays*)، تنباکو (*Nicotiana tabaccum*)، جعفری (*Petroselinum crispum*)، آرتمیزیا (*Artemisia annula*) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri*) توسط وارما و همکاران (۲۰) مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آنها حاکی‌از افزایش زیست‌توده قسمت‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ به‌میزان دو برابر نسبت به گیاهان شاهد تلقیح نشده بوده است. رای و وارما (۱۶) افزایش رشد گیاه دارویی *Adhatodavasica* در اثر تلقیح با قارچ *P.indica*را گزارش کردند. علاه‌بر توان تحریک‌کنندگی رشد گیاه جو توسط قارچ *P.indica*، نتایج تحقیق حاضر به‌خوبی بر نقش مؤثر این قارچ در افزایش مقاومت گیاه جو نسبت به تنش سرب اشاره دارد، به‌طوری‌کهتلقیح قارچ *P.indica* باعث افزایش عملکرد ریشه و اندام هوایی گیاهان جو تحت تنش سرب شد. این یافته‌ها مطابق با نتایج به‌دست آمده برای نخود (۱۸)کرفس (۱۰) لوبیا (۲۱)، ذرت (۱۷) و شبدر (۱۴) تلقیح شده با قارچ آربوسکولار میکوریز که تحت تنش فلزات سنگین قرار گرفته بودند، می‌باشد.

فلزات سنگین مانند کادمیم، سرب، و نیکل از طریق جایگزینی با فلز منیزیم مرکزی موجود در ساختار کلروفیل مانع دریافت نور شده و بدین طریق به فتوسنتز آسیب می‌رسانند. قارچ‌های میکوریز با فراهم کردن منیزیم بیشتر می‌توانند سبب افزایش غلظت کلروفیل شوند و از این طریق متضمن انجام فتوسنتز گیاهی و تولیدزیست‌توده بیشتری گردند(۱۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقدار کلروفیل تنها در سطوح بالای سرب به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. شایان ذکر است که غلظت کلروفیل برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ *P.indica* به‌صورت قابل‌توجهی بالاتراز گیاهان شاهد فاقد آلودگی قارچی بود.

نتایج این پژوهش حاکی‌از بالاتر بودن غلظت سرب در بافت ریشه نسبت به اندام هوایی بود. همچنین مقدار سرب موجود در ریشه گیاهان تلقیح شده بالاتر از گیاهان فاقد آلودگی قارچی بود. این نتایج مطابق با یافته‌های قبلی موجود در مورد قارچ‌های میکوریزی است (۱، ۷، ۱۰، ۱۸و ۱۹). بالاتر بودن غلظت سرب در اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با قارچ *P.indica*مطابق با نتایج به‌دست آمده توسط چن و همکاران (۵) بود که به مطالعه اثر قارچ میکوریز بر مقاومت پنج‌گونه شبدر تحت تنش سطوح صفر، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم سرب در محیط کشت شنی پرداخته بودند.

راهکارهای مقاومت به فلزات سنگین در قارچ‌های میکوریزا هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است. میکروارگانیسم‌ها از راهکارهای مختلف مانند: جلوگیری از جذب یا خنثی نمودن اثرات سمیت فلزات سنگین از طریق پیوند دادن فلز با دیواره سلولی، ذخیره فلزات سنگین درواکوئل‌ها، افزایش انتشار فلز به خارج سلول یا تولید مواد کلات‌کننده فلزات سنگین مثل کمپلکس‌های آلی پروتئینی (لوتیونین‌ها (Lothioneines) و فیتوکلاتین‌ها) و غیرپروتئینی (سیترات‌ها) و کمپلکس‌های غیرآلی (سولفیدها) جهت تحمل مقادیر زیاد فلزات سنگین استفاده می‌نمایند (۱۲). پیوند فلزات با دیواره سلول‌های گیاهی یکی از استراتژی‌های پیشنهاد شده است که به موجب آن گیاهان می‌توانند غلظت فلزات سنگین را تا سطوح سازگار فیزیولوژیکی در بافت‌ها کاهش دهند. راهکار دیگری که گیاهان در افزایش مقاومت به فلزات سنگین اتخاذ می‌نمایند، به دام انداختن عناصر فلز سنگین در واکوئل سلول توسط مولکول‌هایی مانند متالوتیونین‌ها (Metalothioneines) و فیتوکلاتین‌ها است (۱۰). سلول‌های میکروبی از طریق نگه‌داشت فلزات سنگین در خود موجب کاهش انتقال آنها به سلول‌های ریشه گیاه می‌شوند. نتایج تحقیقات نشان داده است که هیف‌های خارجی قارچ‌ها قادر به انتقال کادمیوم از خاک به ریشه‌ها می‌باشند اما انتقال این فلز از قارچ به گیاهان محدود است (۱۲ و ۸). میسلیوم‌های قارچ آربوسکولار میکوریز نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها ظرفیت بالاتری جهت جذب فلزات سنگین دارند (۸). کاپور و باتناگار (۱۰) غلظت بالاتر فلزات سنگین در ریشه‌های گیاهان کرفس تلقیح شده با میکوریز را به رسوب فلزات سنگین در ساختارهای قارچی موجود در

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]

سلول‌های کورتکس ریشه نسبت دادند. محبوس شدن فلزات توسط ترکیبات ترشح شده از قارچ‌ها، رسوب در گرانول‌های پلی‌فسفات در خاک و کلاته شدن فلزات در درون قارچ‌ها نیز از راهکارهای پیشنهاد شده توسط گاورو و ادهولیا (۶) جهت توضیح چگونگی افزایش مقاومت گیاهان دارای همزیستی میکوریزی در شرایط حضور فلزات سنگین می‌باشند.

گلومالین یک پروتئین نامحلول است که توسط قارچ‌های آربوسکولار میکوریز ترشح می‌شود و قادر به برقراری پیوند با فلزات سنگین می‌باشد. پروتئین مذکور به همراه مقادیر قابل‌توجهی فلزات سنگین از خاک‌های تحت کشت گیاهان دارای همزیستی میکوریزی، عصاره‌گیری شده است. همچنین پیوند فلزات سنگین با کیتین موجود در دیواره سلولی قارچ‌های میکوریز و جذب غیرفعال آنها به هیف‌ها، موجب کاهش موضعی غلظت این فلزات در خاک می‌شود (۸).

هونگ زانگ (۱۸) دلیل کاهش غلظت فلزات سنگین در اندام هوایی گیاهان تلقیح شده با میکوریزا را به موارد زیر نسبت داد:

- اختصاصی بودن بیشتر ناقل‌های فلزی موجود در غشاء سلولی میکوریزا
- جزءبندی فلزات در واکوئل‌های قارچی و در نتیجه کاهش انتقال آنها به گیاه
- ظرفیت بالای ریشه‌های میکوریزی جهت محبوس نمودن فلزات سنگین در پیوند با دیواره‌های سلول

با توجه به‌شباهت‌های زیادی که قارچ *P.indica* با قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار دارد احتمالاً راهکار مقاومت این قارچ به فلزات سنگین نیز مشابه با قارچ‌های AM است، لذا بررسی چنین راهکارهایی در قارچ *P.indica* ضروری به نظر می‌رسد. جهت بررسی دقیق راهکار افزایش مقاومت گیاهان به فلزات سنگین در اثر تلقیح با قارچ *P.indica* می‌توان از تکنیک‌های پیشرفته مولکولی بهره گرفت و بدین طریق به‌شناخت و بررسی وظایف ژن‌ها و پروتئین‌های دخیل در این فرآیند و طرز عمل آنها پرداخت.

منابع مورد استفاده

1. Aery, N. C. and B. L. Jagetiya. 1997. Relative toxicity of cadmium, lead, and zinc on barley. J. Soil Sci. Plant Anal. 28: 949-960.
2. Blackstock, W. P. and M. P. Weir. 1999. Proteomics: quantitative physical mapping of cellular proteins. J. Trends Biotechnol. 17: 121-127.
3. Blechert, O. G. Kost., A. Hassel, R. H. Rexer and A. Varma. 1999. A First remark on the symbiotic interactions between *Pifrormosporaindica* and terrestrial orchid. PP. 683-688. *In*: Varma, A. and Hock, B. (Ed.), Mycorrhizae. Springer Verlag, Germany.
4. Brune, A.,W. Urbach., KJ.Dietz. 1994. Compartmentation and Transport of Zinc in Barley Primary Leaves as Basic Mechanisms Involved in Zinc Tolerance. J. Plant Cell Environ. 17:153-162.
5. Chen, X., C. Wu, J. Tang, S. Hu. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. J. Chemosphere. 60: 665-671.
6. Gaur A., A. Adholeya. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. J. Current Sci. 86:528-534.
7. Janouskova, M., D. Pavlıkova, M. Vosatka. 2006. Potential contribution of arbuscularmycorrhiza to cadmium immobilisation in soil. J. Chemosphere. 65: 1959-1965.
8. Joner, EJ., R. Briones, C. Leyval. 2000. Metal-binding capacity of arbuscularmycorrhizal mycelium. J. Plant Soil. 226: 227-234
9. Kabata Pendias, A. and H. Pendias. 2000. Trace elements in soils and plants thirded. PP. 15-38. CRC Press, Bocaration, London, New York Washington, D. C.
10. Kapoor, R., AK. Bhatnagar. 2007. Attenuation of cadmium toxicity in mycorrhizal celery (*Apium graveolens* L.) . J. Microbial. Biotechnol. 23: 1083-1089.
11. Khoshgoftarmanesh, A. H. and M. Kalbasi. 2002. Effect of municipal waste leachate on soil properties and growth and yield of rice. J. Soil Sci. 33: 2011-2020.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]

12. Leyval, C., K. Turnau, K. Haselwandter. 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. J. Mycorrhiza. 7:139-153
13. Limura, K., H. Ito, M. Chino, T. Morshite and H. Herata. 1997. Behaviour of contaminant heavy metal in soil- plant system. J. Soil Biol. Biochem. 31: 820–851.
14. Medina, A., N. Vassilev, JM. Barea, R. Azcon. 2005. Application of *Aspergillus niger*-treated agrowaste residue and *Glomusmosseae* for improving growth and nutrition of Trifoliumrepens in a Cd- contaminated soil. J. Biotechnol. 116:369-378
15. Pattanagul, W. And M. A. Madore. 1992. Water deficit effects on raffinose family oligisaccaride metabolism of coleus. J. Plant Physiol. 121: 987-993.
16. Rai, M. and A. Varma. 2005. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformosporaindica*, which promotes the growth of *Adhatodavasica*. J. Biotechnol. 8: 107-111.
17. Rauser, W.E. 2000. Roots of maize seedlings retain most of their cadmium through two complexes. J. Plant Phisiol. 156: 545-551.
18. Rivera-Becerril, F., C. Calantzis, K. Turnau, J.P. Caussanel, A.A. Belimov, S. Gianinazzi, RJ. Strasser, V. Gianinazzi-Pearson. 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisums ativum* L. genotypes. J. Exp. Bot. 53:1177–1185.
19. Tulio M., F. Pierandrei, A. Salerni, E. Rea. 2003. Tolerance to Cadmium of vesicular arbuscular mycorrhizae spores isolated from a Cadmium-polluted and unpolluted soil. J. Biol. Fertile Soil 37: 211-214.
20. Varma, A., S. Savita, N. Sahay, B. Butehorn and P. Franken. 1998. *Piriformos poraindica*, A cultivable plant-growth-promoting root endophyte. J. Appl.Environ. Microbiol. 65: 2741-2744.
21. Weigel H. J., HJ Jager. 1980. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants. J. Plant Phisiol. 65: 480-482.
22. Zhang, X. H. 2009.Arbuscular mycorrhizal colonisation increases copper binding capacity of root cell walls of *Oryza sativa* L. and reduces copper uptake. J. Soil Biol. Biochem. 41: 930–935.
23. Zimdahl, R. L. 1975. Entry and movement in vegetation of lead from air and soil sources. Proceeding of 68th agree meeting of the air population control association. June 15. Boston, MA.
24. Zimdal, R. L. and D. E. koeppe. 1997. uptake by plants, PP. 93-134. *In*: W . R .Boggess , B . G .wixson, (Ed.), Lead in pHe environment, Matianal Science Foundation, washington, DC.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-06-30]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1394.19.71.27.5]
[DOI: 10.18869/acadpub.jstnar.19.71.311]