# ارزیابی اثر قارچ *Piriformospora indica* برمقاومت گیاه برنج به تنش شوری تحت شرایط هیدروپونیک

علی رئیسی [۱]، مژگان سپهری [۲]،امیرحسین خوشگفتارمنش [۳]، مهدی قبولی [۴]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشدگروه علوم خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲-استادیار گروه علوم خاک دانشگاه شیراز ۳-استاد گروه علوم خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، ۴- استادیار گروه زراعت دانشگاه ملایر

## چکیده
تنش شوری به عنوان یکی از تنش‌های غیر زنده طیف گسترده‌ای از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و کاهش عملکرد را در گیاهان زراعی موجب می‌شود. قارچ شبه مایکوریزی *P.indica* توانایی تحریک رشد وافزایش مقاومت گیاهان میزبان به تنش‌های زیستی وغیر زیستی را دارد.هدف از این پژوهش بررسی تاثیر این قارچ بر رشد وعملکردوهمچنین نسبت Na/kریشه واندام هوایی گیاه برنج تحت شرایط تنش شوری می باشد.بدین منظور،گیاهچه‌ها با قارچ تلقیح شده و ۱۴ روز بعد از تلقیح،۳سطح تنش شوری(نرمال،۵۰mMو ۱۰۰mM)در آنها القاء شد. ۳۵روز بعد ازتلقیح،پارامترهای مؤثر در رشد وافزایش زیست توده مانند وزن خشک و تر ساقه وهمچنین وزن تر وخشک ریشه ونسبت سدیم به پتاسیم ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری و با گیاهان شاهد مقایسه شد.نتایج این پژوهش نشان داد که قارچ *P.indica* باعث افزایش رشد و مقاومت گیاهان برنج به تنش شوری می‌گردد.

واژه‌گان کلیدی: تنش‌های غیر زیستی، *P.indica*، زیست توده

## مقدمه
رشد و عملکرد گیاهان در بسیاری از مناطق دنیا توسط تنش‌های محیطی زیستی و غیرزیستی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در بین تنش های غیر زیستی، تنش شوری خسارات گسترده ای را موجب می‌شود ( ۲). قارچ‌های اندوفایت موجب افزایش مقاومت گیاهان میزبان در برابر تنش‌های محیطی و بهبود خصوصیات مورفولوژیکی آن‌ها می‌شوند (۵). این قارچ همزیست اختیاری بوده وبه آسانی درمحیط های کشت مصنوعی قادربه رشد است (۱). علاوه برنقش این قارچ دربهبودرشدوعملکرد گیاهان شواهد زیادی مبنی بر نقش این قارچ در افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش های محیطی موجود است (۴). همچنین این قارچ با تاثیری که برمکانیسم هایی مولکولی می گذارد میزان تحمل گیاهان به تنش را افزایش می دهد.

قارچ اندوفایت *P.indica* دارای دامنه وسیعی ازگیاهان میزبان است که با کلنیزاسیون ریشه آنها سبب تحریک رشد آن‌ها می‌گردد گیاهان میزبان شامل انواع خشکی پسند، بوته‌های یکساله وچند ساله ودرختان چوبی می باشند(۸). تأثیر تلقیح قارچ *P.indica* درافزایش بیوماس گیاهانی نظیر جعفری،توتون، و درخت سپیدارتوسط وارماوهمکاران (۱۹۹۸) نیز گزارش شده است (۹). کوماری و همکاران گزارش دادند گیاهان خردل [۱]، کلم [۲] و اسفناج [۳] پس از تلقیح با این قارچ به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش رشد نشان دادند (۶). والر و همکاران (۲۰۰۵)نیز به تأثیر *P.indica* در افزایش عملکرد و مقاومت گیاه به تنش شوری و خشکی اشاره کردند (۱۰). این قارچ تجمع یون ها را درگیاهان به وسیله افزایش نسبت سدیم به پتاسیم تعدیل میکند و پاسخ سیستماتیک گیاهان را به تنش شوری ازطریق تغییردرپاسخ فیزیولوژیک فزایش می‌دهد و در نهایت باعث افزایش رشد گیاه می‌گردد که این افزایش رشد را می توان به عنوانی معیاری از افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری وخشکی در نظر گرفت (۳). روش های بیولوژیک مبتنی براستفاده از پتانسیل ارگانیسم های مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان نقش مؤثری در افزایش مقاومت گیاه به تش های محیطی بر عهده دارند.پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر قارچ *P.indica* بر زیست توده گیاه و نسبت سدیم به پتاسیم شاخساره هوایی گیاه برنج به عنوان معیارهایی از افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری انجام شده است.

## مواد وروش ها
### تهیه،وتکثیرمایه تلقیح *P.indica*
جدایه قارچ به مدت ۴ هفته در دمای ۲۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور نگهداری شد. به منظورتهیه مایع تلقیح،مقدار ۳۰-۲۰ محلول آب توپین ۲۰ به هرپتری دیش اضافه شدو پس از جمع‌آوری اسپورهای قارچ،تعداد آنهابا استفاده از لام نئوبار شمارش( $۵\times۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر)شد.

### کشت گیاهان واعمال تیمارها
به منظورانجام این پژوهش،آزمایش گلخانه‌ای در ظرف‌های کشت با استفاده از محلول غذایی یوشیدا در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳تکراردرگلخانه پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد.فاکتورهای آزمایش شامل ۳سطح شوری(۵۰، ۰، ۱۰۰ میلی‌مولار *NaCl*) ودوسطح قارچ *P.indica*(تلقیح وعدم تلقیح)بودند.بذورسالم ویکنواخت برنج به صورت دستی جدا وبوسیله اتانول وهیپوکلریت سدیم ضدعفونی گردیدند.بذرهای جوانه‌دار شده برنج رقم هاشمی با محلول حاوی اسپورهای قارچ به مدت ۲-۱ ساعت بر روی شیکر با دور آرام(۸۰-۷۰*rpm*) قرار داده شدندتا امکان اتصال اسپورها به سطح ریشه‌چه فراهم شود. سپس گیاه‌چه‌ها

به ظرف‌های حاوی محلول یوشیدا انتقال داده شده ودربیشینه دمای روزانه ۲۴-۲۳ درجه سانتی‌گراد ودمای شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد ورطوبت نسبی ۶۰درصد به مدت ۵ هفته قرار گرفتند.یک هفته پس از کاشت نمونه‌برداری از ریشه گیاهان تلقیح شده برای تعیین میزان کلنیزاسیون انجام شد.اعمال تنش شوری ۱۴روز پس از کشت انجام شد. جهت جلوگیری از شوک ناشی از اثرات اسمزی مربوط به تنش شوری اعمال تنش به صورت تدریجی واز غلظت ۲۵ میلی‌مولار آغازشد.پس ازگذشت ۳هفته از اعمال تنش ومشاهده اختلاف ظاهری دررشد گیاهان تلقیح شده با قارچ *P.indica* در شرایط نرمال وتنش،نمونه‌برداری از اندام هوایی صورت گرفت.

**اندازه‌گیری وزن خشک وتر اندام هوایی**

پس از گذشت ۳ هفته از اعمال تنش نمونه‌برداری از بخش هوایی گیاه انجام شد.پس ازتعیین وزن تر نمونه‌های گیاهی برداشت شده،نمونه‌های مذکور به مدت ۴۸ساعت در آون با دمای ۶۵درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها نیز محاسبه شد.

**اندازه گیری میزان سدیم وپتاسیم اندامهواییگیاه**

اندازه‌گیری سدیم وپتاسیم به وسیله دستگاه فلیم‌فوتومتر و با روش پراساد و همکاران(۱۹۹۷) انجام شد (۷).

**نتایج وبحث**

**وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاهان شاهد و تلقیح شده تحت تنش شوری**

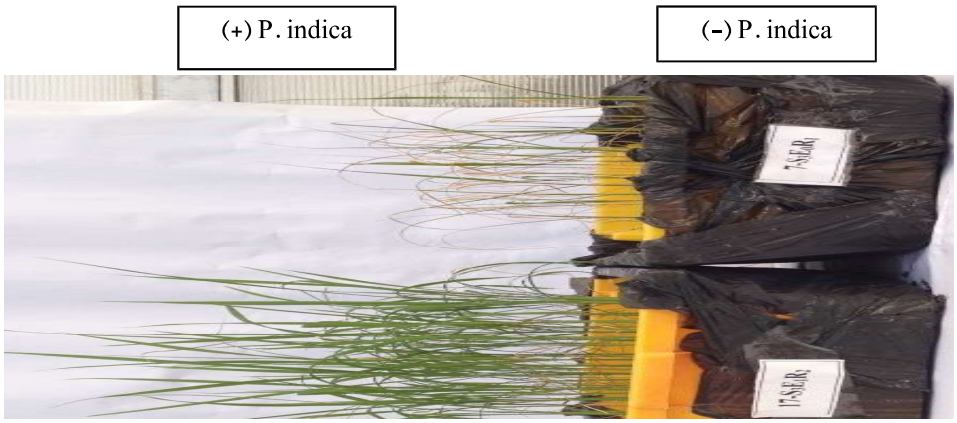
گیاهانتلقیحیافتهباقارچ *P.indica*ازرشدبیشتریبرخورداربودند(شکل ۱). پنج هفته پس از رشد در شرایط نرمال (عدم تنش)، وزن خشک ساقه و ریشه در گیاهان تلقیح شده به ترتیب ۲۷/۱ و ۳۶/۱ برابر گیاهان شاهد بود(شکل ۳).وقتی گیاهان شاهد و تلقیح شده به مدت سه هفته در معرض تنش شوری متوسط و بالا قرار گرفتند،کاهش رشد در هر دو گروه از گیاهان قابل مشاهده بود،اما کاهش رشد در گیاهان تلقیح شده کم‌تر از گیاهان شاهد بود، طوری که میزان وزن خشک ساقه و ریشه در گیاهان تلقیح شده در شرایط تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار نمک) نسبت به شرایط نرمال به ترتیب ۳۷/۱ و ۴۴/۱ افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد اگرچه تنش شوری بالا به هر دو گروه از گیاهان مورد بررسی تأثیر گذاشته اما میزان اثرات سوء آن در گیاهان تلقیح شده کم‌تر است.این مطالب بیان‌گر اثرات مثبت قارچ بر گیاهان تلقیح شده در شرایط تنش شوری می‌باشد.

**ارتفاع شاخساره هوایی در گیاهان تلقیح شده و شاهد تحت تنش شوری**

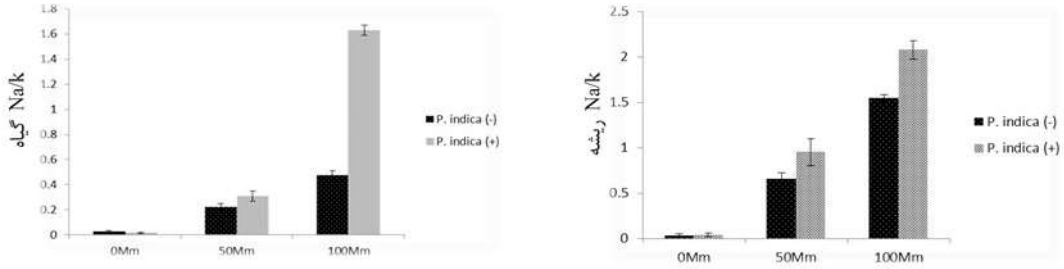
تلقیح گیاهان با قارچ *P.indica* باعث افزایش در ارتفاع اندام هوایی شد. پنج هفته پس از رشد در شرایط عدم تنش، ارتفاع اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده ۱.۱۳ برابر گیاهان شاهد بود(شکل ۴). وقتی گیاهان شاهد و تلقیح شده به مدت ۳ هفته تحت تنش شوری (۵۰ و ۱۰۰ میلی مولارنمک) قرار گرفتند در هر دو گروه کاهش رشد مشاهده گردید، اما این کاهش رشد در گیاهان تلقیح شده کم تر از گیاهان شاهد بود (شکل ۱)، به طوری که میزان ارتفاع اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده تحت تنش (۵۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میلی‌مولار نمک) به ترتیب ۱۷/۱ و ۲۴/۱ برابر گیاهان شاهد بود (شکل ۴). این نتایج نشان می‌دهد اگرچه تنش شوری بالا مانع رشد گیاهان می‌شود ولی در گیاهانی که با قارچ تلقیح شده‌اند این کاهش رشد کم‌تر است. این مطلب بیان‌گر کاهش اثرات شوری وافزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش و افزایش عملکرد گیاهان توسط قارچ *P.indica*است.

**نسبت سدیم به پتاسیم ریشه و اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده و شاهد تحت تنش شوری**

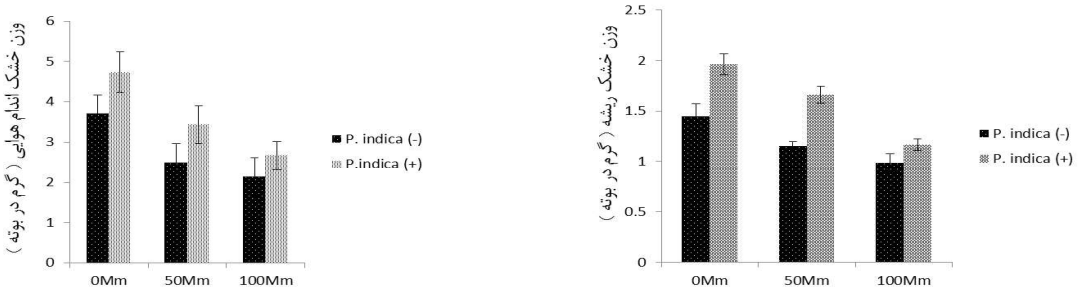
تلقیح گیاهان با قارچ *P.indica* باعث افزایش نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و اندام هوایی گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد گردید(شکل ۲). افزایش تنش شوری باعث افزایش Na/k در ریشه و اندام هوایی گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد شد، به طوری که Na/k، اندام هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده تحت تنش (۵۰ میلی مولار نمک)، به ترتیب ۱.۲۴ و ۱.۴۴ برابر گیاهان شاهد بود(شکل ۲). در شرایط تنش شوری، افزایش Na/k باعث افزایش تعادل یونی در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد می‌شود. گیاهان تلقیح شده نسبت سدیم به پتاسیم بیشتر و هم چنین رشد بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند. بنابراین این قارچ باافزایش نسبت سدیم به پتاسیم و بالا بردن تعادل یونی سبب افزایش رشد گیاه در شرایط تنش شوری می‌گردد.




درسطح ۱۰۰ میلی‌مولارکلریدسدیم*P. indica* شکل ۱.مقایسه‌رشدگیاهانشاهد (تلقیحنشده) وتلقیحشده‌باقارچ

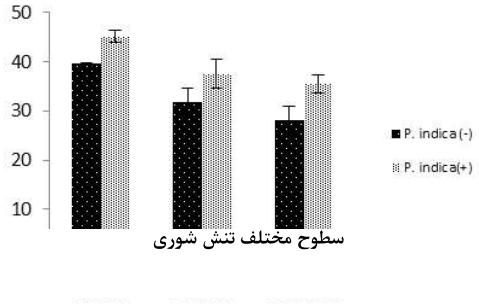



.اندام هوایی **Na/*k*** :ریشه ؛ چپ**Na/k**:گیاهانتیماروشاهدتحتشرایطتنش شوری. راست**Na/k** شکل ۲. مقایسه




سطوح مختلف تنش شوری

***شکل ۳. مقایسه وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان تیمار و شاهد تحت شرایط تنش شوری. راست: وزن خشک ریشه؛ چپ: وزن خشک گیاه.***




**شکل ۴. مقایسه ارتفاع اندام هوایی گیاهان تیمار و شاهد تحت شرایط تنش**

## منابع

[۱] کشاورز، پیمان. ۱۳۸۰. اثر منابع و مقادیر ازت بر رشد و غلظت کلر و سدیم در گندم تحت شرایط شور. مجله پژوهشی خاک و آب. موسسه تحقیقات خاک و آب، ۱۵(۲): ۲۴۰-۲۳۲.

[۲] میرمحمدی میبدی، س. ع. م. و ب. قره یاضی. ۱۳۸۱ . جنبه‌های فیزیولوژیك و بهنژادی تنش شوری گیاهان . انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

[۳] Alikhani M., Khatabi B., Sepehri M., Nekouei M. K., Mardi M.and Salekdeh G. H. ۲۰۱۳. A proteomics approach to study the molecular basis of enhanced salt tolerance in barley (Hordeum vulgare L.) conferred by the root mutualistic fungus *Piriformospora indica*. Molecular BioSystems,۹(۶): ۱۴۹۸-۱۵۱۰.

[۴] Blackstock W. P. and . Weir M. P. ۱۹۹۹. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. Trends Biotechnol, ۱۷:۱۲۱-۱۲۷.

[۵]Friedrich M; Grosser R. J; Kern E. A; Inskeep W. P. and Ward. D. M. ۲۰۰۵. Hydrocarbon phytoremediation field trial. Appl. Environ. Microbiol, ۶۹: ۴۳۸-۴۸۹. Hooda P. S. and Alloway B. J. ۱۹۹۳. Effects of time and temperature on the bioavailability of Cd and Pb from sludge-amended soils. J. Soil Sci. ۴۴: ۹۷-۱۱۰.

[۶]Moco s;Vervoot J; Moco S; Bino R. J; Vos De. R. C. and Bino R. ۲۰۰۷. Metabolomics technologies and metabolite identification. Trac Trend Anal. Chem,۲۶۵:۸۵۵-۸۶۶.

[۷]Prasad A; Kumar D;Singh D. V; Prasad A. and Jain D. C. ۱۹۹۷. Rsponse of Artemisia annual. To soil salinity.Herbs spic. Med Plant, ۵: ۴۹-۵۵.

[۸]Singh A., Sharma J., Rexer K. H., and Varma A. ۲۰۰۰. Plant productivity determinants beyond minerals,
Verma S., Varma A., Rexer K. H., Hassel A., Kost G., Sarbhoy A., Bisen P., Bü tehornB., and Franken
Waller F; Achatz B; and H. Baltruschat. ۲۰۰۵. The endophytic fungus *Piriformospora indicia* reprograms Barley to salt stress tolerance, disease resistance and higher yield.PNAS, ۱۰۲:۱۳۳۸۶-۱۳۳۹۱.

[۹]Verma S., Varma A., Rexer K. H., Hassel A., Kost G., Sarbhoy A., Bisen P., Bü tehorn B., and Franken
P. ۱۹۹۸. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. Mycologia, ۸۹۶-۹۰۳.

[۱۰] Waller F; Achatz B. and Baltruschat H. ۲۰۰۵. The endophytic fungus *Piriformospora indicia* reprograms Barley to salt stress tolerance, disease resistance and higher yield.PNAS, ۱۰۲:۱۳۳۸۶-۱۳۳۹۱.

**Abstract**

Salinityas one of theabioticstressesextensiverangeofphysiological and biochemicalchangesandwillresult inyield lossesincrops. . The Micoriza-like fungus, Piriformospora Indica, has the ability of motivating the growth and increasing the resistance of host plants against biological and non-biological stress. The aim of this study is to evaluate the effect of this fungus on the growth and also Na / k of the roots and the aerial organs of rice plants under salt stress conditions. Thus, the seedlings are inoculated with fungus and ۱۴ days after inoculation with ۳ levels of salinity (normal, ۵۰ mM and ۱۰۰ mM) they were induced. ۵ weeks after inoculation, the parameters influencing on the growth and the increase of biomass as dry stems weight also as dry weight of the root and the ratio of sodium to potassium of the root and the aerial organ was measured and compared with the control plants. The results of this study showed that the P.Indica fungus causes an increase in the growth and the resistance of rice plants against salinity stress.