

اثر تلقیح قارچ *Piriformospora indica* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و وضعیت آبی گیاه ذرت تحت تنش‌های جداگانه و ترکیبی خشکی و مکانیکی

فاطمه حسینی^۱ و محمد رضا مصدقی^۲

۱ و ۲- به ترتیب پژوهشگر پسادکتری و استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

چکیده

در این پژوهش اثر تلقیح قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و وضعیت آبی گیاه ذرت تحت تنش مکانیکی در سه سطح (مقاومت فروری ۱/۰۵، ۴/۲۳ و ۶/۳۴ مگاپاسکال) و تنش خشکی در سه سطح (شاهد، تنش متوسط با پتانسیل اسمزی ۰/۳- مگاپاسکال و تنش شدید با پتانسیل اسمزی ۰/۵- مگاپاسکال) بررسی شد. برای اعمال تنش مکانیکی از روش بار مرده (قرار دادن وزنه‌های مختلف بر سطح بستر رشد) و برای اعمال تنش خشکی از محلول PEG-6000 استفاده گردید. بذر ذرت تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با قارچ در بستر رشد شنی کشت شده و به مدت یک ماه تحت شرایط تنش نگهداری شد. محتوای نسبی آب (RWC) و پتانسیل آب برگ (LWP) سه بار و فعالیت آنزیم‌های CAT و APX در انتهای دوره آزمایشی اندازه‌گیری شد. نتایج این پژوهش نشان داد که اعمال تنش مکانیکی و خشکی به صورت جداگانه و ترکیبی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش مقادیر RWC و LWP می‌شود اما در حالت ترکیبی، تنش مکانیکی کنترل‌کننده وضعیت آبی گیاه است. همچنین تلقیح قارچ اندوفیت سبب تخفیف تنش اکسیداتیو (کاهش فعالیت CAT و APX) و بهبود وضعیت آبی گیاه به ویژه در شرایط تنش شدید شد.

واژه های کلیدی: قارچ اندوفیت، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، وضعیت آبی گیاه، PEG-6000.

مقدمه

گیاهان زراعی با تنش‌های مختلف محیطی مانند خشکی، مقاومت مکانیکی بالا و تراکم خاک، دمای بالا یا کم و تهویه ضعیف روبرو هستند که می‌تواند سبب کاهش رشد و توسعه گیاهان و در نتیجه کاهش باروری آنها شود (Farooq et al., 2012). از این میان، ارتباط معنی‌داری بین مقاومت مکانیکی و رطوبت خاک وجود دارد. در خاک خشک، همراه با کاهش رطوبت، نیروهای موئینه سبب افزایش مکش ماتریک خاک شده و در اغلب اوقات مقاومت مکانیکی خاک سریعاً افزایش می‌یابد (Reichert et al., 2009). بنابراین مقاومت مکانیکی بالا و خشکی خاک می‌توانند دو محدودیت مهم در برابر رشد و توسعه ریشه در خاک‌های مناطق خشک باشند. تنش‌های محیطی علاوه بر ایجاد اختلالات متابولیسم، موجب تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۱ و ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی نیز می‌شوند. تولید و انباشت زیاد ROSها، فرآیندهای اکسیداتیو مخربی مانند بی‌رنگ شدن کلروفیل، پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک را در گیاه باعث می‌شود (Suzuki and Mittler, 2006). سلول‌های گیاهی جهت مقابله با آثار منفی تنش‌های محیطی از مکانیسم‌های دفاعی ویژه آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گویاکول پراکسیداز) و غیرآنزیمی (کاروتنوئیدها و اسید آسکوربیک) بهره می‌گیرند (رحمانی ایرانشاهی و همکاران، ۱۳۹۴). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله‌کننده در برابر حملات ROS به شمار می‌آیند. از دیگر راه کارهای گیاه برای مقابله با تنش‌های محیطی می‌توان به مواردی مانند بهبود و گسترش جذب آب از خاک با توسعه سیستم ریشه‌ای، کاهش تلفات ناشی از تبخیر و تعرق با بسته‌شدن روزنه‌ها، تنظیم اسمزی و نگهداشت تعادل یونی با تولید متابولیت‌های سلولی مانند پرولین، اسیدهای آمینه و قندهای محلول، ترشح اتیلن و تغییر آرایش میکروفیبریل‌های سلولزی دیواره سلولی اشاره نمود (Farooq et al., 2012; Bengough et al., 2011).

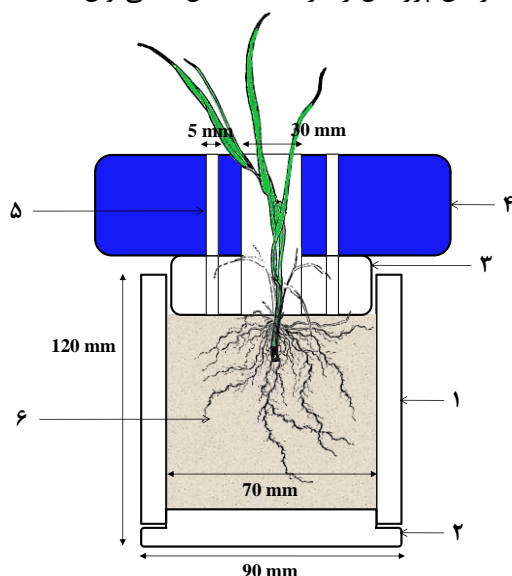
¹ Reactive oxygen species

گیاهان برای افزایش توان مقابله خود در برابر تنش‌های محیطی به ریزجانداران وابستگی بیش‌تری دارند (Khan et al., 2016). قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* که با ریشه بسیاری از گیاهان تک‌لپه و دولپه‌ای تشکیل رابطه هم‌زیستی می‌دهد، در شاخه بازیدیومیکوتا و رده *Hymenomyces* قرار می‌گیرد (Singh et al., 2009). از مزایای هم‌زیستی گیاهان با قارچ *P. indica* می‌توان به مواردی مانند قابلیت کاربرد در تلقیح گیاهان به دلیل رشد در محیط‌های کشت مصنوعی، افزایش رشد و عملکرد گیاه، افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های خشکی، شوری و عوامل بیماری‌زا و افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و گلوتامین اشاره کرد (Gill et al., 2016). از آنجایی که اثر مثبت قارچ *P. indica* بر افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی در پژوهش‌های بسیاری به اثبات رسیده است، و وقوع تنش‌های خشکی و مکانیکی در طبیعت اغلب به صورت هم‌زمان است، بنابراین می‌توان گفت که حضور قارچ اندوفیت در گیاه سبب افزایش تحمل گیاه به تنش‌های جداگانه و ترکیبی خشکی و مکانیکی می‌شود. در این راستا، هدف اصلی این پژوهش بررسی اثر قارچ *P. indica* بر وضعیت آب و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه ذرت تحت تنش‌های جداگانه و ترکیبی خشکی و مکانیکی است.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد بررسی در این آزمایش ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ (*Zea mays* cv. Single cross 704) بود. پس از ضدعفونی بذرهای ذرت توسط اتانول ۷۰ درصد و محلول هیپوکلریت سدیم (۲ درصد کلر فعال)، بذرها بر روی کاغذ صافی مرطوب در پتری‌دیش قرار داده شد تا جوانه‌دار شوند. زمانی که طول ریشه‌چه بذرها به حدود دو سانتی‌متر رسید، برخی از آنها در مایه تلقیح قارچ *P. indica* که با غلظت مناسب (تعداد 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) تهیه شده بود قرار داده شد و بذرها به مدت ۱۲۰ دقیقه در این مایه غوطه‌ور شده و تکان داده شدند. سپس بذرهای ریشه‌دار تلقیح‌شده با قارچ (+P) و تلقیح‌نشده با قارچ (-P) به گلخانه انتقال داده شد تا برای کشت مورد استفاده قرار گیرند.

به منظور اعمال تنش مکانیکی از روش ارائه‌شده توسط Materechera و همکاران (۱۹۹۱) که تحت عنوان تکنیک بار مرده^۱ شناخته می‌شود، استفاده شد. نمای کلی از محفظه رشد گیاه طراحی شده در این پژوهش را در شکل ۱ می‌توان دید.



شکل ۱- شمای کلی از محفظه رشد گیاه برگرفته از پژوهش Materechera و همکاران (۱۹۹۱). قسمت‌های مختلف دستگاه به این شرح است: ۱: محفظه پلی‌اتیلنی، ۲: درب انتهایی محفظه، ۳: پایه پلی‌اتیلنی نگهدارنده وزنه، ۴: وزنه فلزی، ۵: روزنه تعبیه‌شده برای اندازه‌گیری مقاومت مکانیکی بستر شنی، ۶: بستر

محفظه استوانه‌ای شکل پلی‌اتیلنی این دستگاه با استفاده از شن مرطوب‌شده با محلول غذایی نیم جانشون (رطوبت حجمی ۳۱ درصد و تخلخل تهویه‌ای ۱۲ درصد) پر شده و در هر محفظه دو بذر ریشه‌دار شده P+ یا P- کشت شد. دو هفته پس از رشد گیاهان در شرایط بهینه و استقرار کامل ریشه، تنش خشکی با استفاده از ترکیب پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG-6000) در سه سطح بدون تنش، تنش خشکی متوسط (پتانسیل اسمزی ۳/۰- مگاپاسکال) و تنش خشکی شدید (پتانسیل اسمزی

¹ Dead load technique

۵/۰- مگاپاسکال) اعمال شد. پس از گذشت ۱۰ روز و اعمال تنش خشکی به صورت تدریجی، تنش مکانیکی نیز در سه سطح بدون تنش (بدون قرار دادن وزنه) و قرار دادن وزنه‌های ۳/۵ و ۵/۰ کیلوگرمی بر روی سطح شن با استفاده از پایه‌های نگهدارنده وزنه وارد شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقاومت فروروی بستر رشد شنی با استفاده از ریزفروسنج مخروطی با قطر ۳ میلی‌متر تا عمق ۴ سانتی‌متری از سطح شن (منطقه با بیش‌ترین تراکم ریشه گیاه) در پایان دوره کشت نشان داد که میانگین مقاومت فروروی بستر شنی در حالت بدون وزنه و تحت وزنه‌های ۳/۵ و ۵/۰ کیلوگرمی به ترتیب ۱/۰۵، ۴/۲۳ و ۶/۳۴ مگاپاسکال بوده که با توجه به مقاومت فروروی بحرانی برای رشد گیاه (برابر ۲ مگاپاسکال)، این مقادیر نشان می‌دهند که انتخاب وزنه‌های ۳/۵ و ۵/۰ کیلوگرمی بازه مناسبی از تنش مکانیکی را ایجاد کرده و می‌توان اثر آن را بر وضعیت آب و ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه بررسی کرد.

پس از اعمال تنش‌های مکانیکی و خشکی، گیاهان به مدت یک ماه در شرایط بهینه از نظر نور، دما و رطوبت نگهداری شدند. از آنجایی که میزان رطوبت بستر شنی بر مقاومت مکانیکی آن مؤثر است، در تمام مدت آزمایش سعی شد که مقدار رطوبت با وزن کردن روزانه و افزودن آب از دست‌رفته ناشی از تبخیر و تعرق در یک حد ثابت نگهداری شود. مقادیر محتوای نسبی آب برگ (RWC) به روش Barrs and Weatherley (۱۹۶۲) و پتانسیل آب برگ (LWP) با استفاده از دستگاه محفظه فشاری (Soilmoisture Equipment Corp., Model 3115) سه بار در ابتدا، اواسط و انتهای دوره تنش اندازه‌گیری شد. هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز (APX) به روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) و کاتالاز (CAT) با استفاده از روش دیندسا و همکاران (۱۹۸۱) در انتهای دوره تنش اندازه‌گیری شد. برای بررسی اثر سه تیمار آزمایشی وضعیت اندوفیت (در دو سطح)، تنش خشکی (در سه سطح) و تنش مکانیکی (در سه سطح) و در ۲ تکرار بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. اندازه‌گیری پتانسیل آب (LWP) و محتوای نسبی آب برگ (RWC) در سه زمان در طول دوره آزمایش انجام گرفت؛ بنابراین برای بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر این ویژگی‌ها از آزمون کرت‌های خردشده در زمان در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها به روش LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش‌های مکانیکی و خشکی بر فعالیت آنزیم APX، RWC و LWP اثر معنی‌دار داشتند ($P < 0.001$). نتایج مقایسه میانگین در جدول ۱ نشان می‌دهد که افزایش تنش‌های مکانیکی و خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم APX و کاهش مقادیر RWC و LWP در گیاه ذرت شد.

به عنوان مثال، با افزایش سطح تنش مکانیکی از حالت بدون تنش مکانیکی به وزنه ۵/۰ کیلوگرمی فعالیت آنزیم APX در حدود ۴ برابر افزایش داشته است. هم‌چنین افزایش تنش خشکی از حالت شاهد به تنش شدید سبب افزایش ۳ برابری فعالیت آنزیم APX گردید. چنین نتیجه‌ای بوسیله دیگر پژوهش‌گران نیز گزارش شده است (Zeid and Shedeed, 2006). در شرایط تنش محیطی، میزان فتوسنتز به دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد. با پیشرفت خشکی، بدلیل تغییرات بیوشیمیایی در کلروپلاست، تثبیت گاز دی‌اکسید کربن کاهش بیش‌تری پیدا می‌کند (Pinheiro et al., 2004). در چنین شرایطی کاهش تثبیت گاز دی‌اکسید کربن باعث احیای شدید زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و نشت الکترون به مولکول اکسیژن می‌گردد. در نتیجه انواع ROS تشکیل می‌شود و بنابراین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد (Bhattacharjee, 2005). هم‌چنین بر اساس پژوهش‌های انجام‌شده مشخص شده است که افزایش مقاومت مکانیکی خاک سبب کاهش حجم ریشه، ضخیم‌شدن و چوبی‌شدن ریشه‌ها و در نتیجه کاهش جذب آب توسط ریشه می‌شود (Alameada and Villar, 2012).

جدول ۱: مقایسه میانگین اثر تنش خشکی (DS0): بدون تنش، DS1: پتانسیل اسمزی ۳/۰- مگاپاسکال و DS2: پتانسیل اسمزی ۵/۰- مگاپاسکال) و تنش مکانیکی (MS0): بدون وزنه، MS1: وزنه ۳/۵ کیلوگرمی و MS2: وزنه ۵/۰ کیلوگرمی) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و مقادیر پتانسیل آب (LWP) در گیاه ذرت.

LWP (MPa)	RWC	APX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)	تنش مکانیکی
-1.32 ^C	76.2 ^A	0.46 ^B	MS0
-1.70 ^B	71.8 ^B	0.82 ^B	MS1
-1.89 ^A	67.0 ^C	1.89 ^A	MS2
تنش خشکی			
-1.28 ^C	79.3 ^A	0.64 ^B	DS0
-1.71 ^B	73.3 ^B	0.67 ^B	DS1
-1.93 ^A	62.5 ^C	1.86 ^A	DS2

در هر ستون اعداد دارای حروف مختلف تفاوت معنی دار دارند (LSD, $p < 0.05$).

تلقیح قارچ اندوفیت *P. indica* اثر معنی داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT و APX و هم‌چنین وضعیت آبی گیاه ذرت داشت ($P < 0.001$). نتایج (جدول ۲) نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم‌های CAT و APX در گیاهان ذرت P+ کم‌تر از گیاهان P- بود. هم‌چنین حضور اندوفیت سبب بهبود وضعیت آبی گیاه تحت شرایط تنش شد و مقادیر RWC و LWP در گیاهان ذرت P+ بیش‌تر از گیاهان P- است. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان P+ نشان می‌دهد که این گیاهان در شرایط رویارویی با تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی و یا مقاومت مکانیکی بالای خاک با تنش اکسیداتیو کم‌تری روبه‌رو شده و در واقع حضور قارچ اندوفیت در این گیاهان با افزایش جذب آب و بهبود وضعیت آبی گیاه، سبب تعدیل آثار ناشی از تنش‌های محیطی و کاهش تشکیل و انباشت ROSها در گیاه می‌شود. Kumar و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کرده‌اند که در گیاهان ذرت مبتلا به انگل ریشه *Fusarium verticillioides*، تلقیح قارچ *P. indica* سبب کاهش ۶ برابری فعالیت آنزیم CAT می‌شود که این پدیده می‌تواند به معنای اثر مثبت قارچ اندوفیت بر کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از عامل بیماری‌زای *F. verticillioides* باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر تلقیح قارچ اندوفیت *P. indica* (P+): تلقیح‌شده با قارچ و P-: تلقیح‌نشده با قارچ) بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و مقادیر پتانسیل آب برگ (LWP) گیاه ذرت.

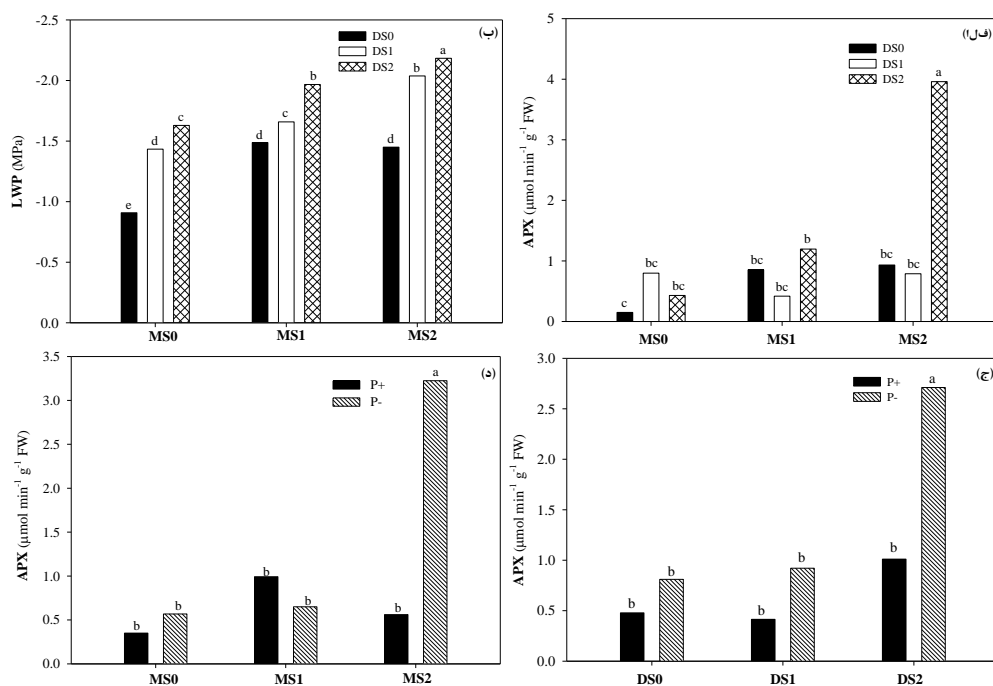
LWP (MPa)	RWC	APX ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)	CAT	وضعیت تلقیح
-1.55 ^B	74.0 ^A	0.63 ^B	0.025 ^B	P+
-1.73 ^A	69.4 ^B	1.48 ^A	0.054 ^A	P-

در هر ستون اعداد دارای حروف مختلف تفاوت معنی دار دارند (LSD, $p < 0.05$).

اثر برهم‌کنش تنش خشکی و تنش مکانیکی بر فعالیت آنزیم APX نشان می‌دهد که تنش مکانیکی سبب تشدید آسیب اکسیداتیو حاصل از تنش خشکی شده و در نتیجه فعالیت آنزیم APX به یک‌باره افزایش یافته است (شکل ۲ الف). از آنجایی که در طبیعت خشک‌شدن خاک اغلب با افزایش مقاومت مکانیکی آن همراه است، این موضوع دارای اهمیت است و در درک آثار تنش خشکی بر گیاهان باید در نظر گرفته شود. از سوی دیگر، اثر برهم‌کنش تنش مکانیکی و تنش خشکی بر وضعیت آبی گیاه ذرت نشان داد که تنش مکانیکی اثر مهم‌تری بر وضعیت آبی گیاه دارد (شکل ۲ ب). به عبارت دیگر در تیمار بدون وزنه، وجود تنش خشکی شدید (پتانسیل اسمزی ۵/۰- مگاپاسکال) سبب کاهش ۷۹ درصدی LWP در گیاه ذرت شد، در حالی که با افزایش تنش مکانیکی، اثر تنش خشکی بر مقادیر این ویژگی‌ها محدودتر شد. کاهش مقدار LWP در اثر تنش خشکی شدید

پتانسیل اسمزی ۰/۵- مگاپاسکال) در تیمارهای تحت وزنه‌های ۳/۵ و ۵/۰ کیلوگرمی برای گیاه ذرت به ترتیب ۳۲ و ۴۹ درصد بوده که در مقایسه با شرایط بدون تنش مکانیکی بسیار کم‌تر است. این یافته نشان می‌دهد که در شرایط وجود هم‌زمان تنش‌های خشکی و مکانیکی، تنش مکانیکی کنترل‌کننده اصلی وضعیت آبی گیاه است.

اثر برهم‌کنش‌های دوگانه تنش خشکی در تلقیح قارچ اندوفیت و تنش مکانیکی در تلقیح قارچ اندوفیت بر فعالیت آنزیم APX معنی‌دار شد ($P < 0.001$). نتایج شکل ۲ نشان می‌دهد فعالیت APX گیاه ذرت در سطوح بالای تنش خشکی در گیاهان P+ به شدت کاهش یافته است، به گونه‌ای که بیش‌ترین فعالیت آنزیم APX ذرت در گیاهان P- و در سطح تنش خشکی شدید (پتانسیل اسمزی ۰/۵- مگاپاسکال) و کم‌ترین مقدار آنها در تیمار بدون تنش خشکی و در گیاهان P+ دیده شد. همین روند در گیاهان تحت تنش مکانیکی نیز دیده شد (شکل ۲د). در واقع می‌توان گفت اثر مثبت قارچ اندوفیت در تعدیل آثار منفی ناشی از تنش محیطی با افزایش سطوح تنش‌های خشکی و مکانیکی آشکارتر شده است.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تنش مکانیکی (MS0: بدون وزنه، MS1: وزنه ۳/۵ کیلوگرمی و MS2: وزنه ۵/۰ کیلوگرمی) و تنش خشکی (DS0: بدون تنش، DS1: پتانسیل اسمزی ۰/۳- مگاپاسکال و DS2: پتانسیل اسمزی ۰/۵- مگاپاسکال) بر الف) فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) و ب) پتانسیل آب برگ (LWP)، ج) اثر برهم‌کنش تنش خشکی و تلقیح قارچ اندوفیت (P+): تلقیح‌شده با قارچ و P-: تلقیح‌نشده با قارچ) و د) اثر برهم‌کنش تنش مکانیکی و تلقیح قارچ اندوفیت بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

منابع

رحمانی ایرانشاهی، د. م. سپهری، ا.ح. خوشگفتارمنش، ح. عشقی‌زاده، و. جهان‌دیده مهجن آبادی. ۱۳۹۴. اثر تلقیح قارچ اندوفیت (*Piriformospora indica*) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تحمل گندم در شرایط کمبود فسفر در سیستم هیدروپونیک.

مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۲۴: ۷۵-۸۶.

Alameda D., and Villar R. 2012. Linking root traits to plant physiology and growth in *Fraxinus angustifolia* Vahl seedlings under soil compaction conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 79: 49-57.

Barrs H.D. and Weatherley P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15: 413-428.



- Bengough A.G., McKenzie B.M., Hallett P.D. and Valentine T.A. 2011. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. *Journal of Experimental Botany*, 62: 59–68.
- Bhattacharjee S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal. *Current Science*, 89: 1113–1121.
- Farooq M., Hussain, M., Wahid A., and Siddique K.H.M. 2012. Drought stress in plants: an overview. In: Aroca, R. (ed). *Plant Responses to Drought Stress. From Morphological to Molecular Features*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp: 1–33.
- Gill S.S., Gill R., Trivedi D.K., Anjum N.A., Sharma K.K., Ansari M.W., Ansari A.A., Johri A.K., Prasad R., Pereira E., Varma A., and Tuteja N. 2016. *Piriformospora indica*: potential and significance in plant stress tolerance. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1–20.
- Khan Z., Rho H., Firrincieli A., Hung S.H., Luna V., Masciarelli O., Kim S., and Doty S.L. 2016. Growth enhancement and drought tolerance of hybrid poplar upon inoculation with endophyte consortia. *Current Plant Biology*, 6: 38–47.
- Kumar M., Yadav V., Tuteja N. and Johri A.K. 2009. Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. *Microbiology*, 155: 780–790.
- Materechera S.A., Dexter A.R. and Alston A.M. 1991. Penetration of very strong soils by seedling roots of different plant species. *Plant and Soil*, 135: 31–41.
- Pinheiro H.A., DaMatta F.M., Chaves A.R., Fontes E.P. and Loureiro M.E. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science*, 167: 1307–1314.
- Reichert J.M., Suzuki L.E.A.S., Reinert D.J., Horn R. and Håkansson, I. 2009. Reference bulk density and critical degree-of-compactness for no-till crop production in subtropical highly weathered soils. *Soil & Tillage Research*, 102: 242–254.
- Singh A., Sharma J., Rexer K.H. and Varma A. 2000. Plant productivity determinants beyond minerals, water and light: *Piriformospora indica*-A revolutionary plant growth promoting fungus. *Current Science*, 79: 1548–1554.
- Suzuki N., and Mittler R. 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia Plantarum*, 126: 45–51.
- Zeid I.M., and Shedeed Z.A. 2006. Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Biologia Plantarum*, 50: 635–640.

Effect of *Piriformospora indica* symbiosis on maize water status and antioxidant enzymes activities under individual and combined drought and mechanical stresses

F. Hosseini¹ and M.R. Mosaddeghi²

1, 2- Postdoctoral Fellow and Professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, respectively.

Abstract

We aimed to investigate the effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* on antioxidant enzymes activities [catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX)] and maize water status under mechanical stress in three levels (i.e., penetration resistances of 1.05, 4.23 and 6.34 MPa) and drought stress in three levels (control, moderate and severe stresses with osmotic potentials of -0.3 and -0.5 MPa). The mechanical stress was applied using dead load technique (i.e., placing a weight on the sand surface) and the drought stress was induced using PEG-6000 solution. The inoculated (colonized) and non-inoculated (uncolonized) seeds were sown in sand growth chambers and were kept under stresses for one month. The relative water content (RWC) and leaf water potential (LWP) were measured three times during the experiment. At the end of the growth period, CAT and APX activities were determined. The results indicated that exposure to individual and combined drought and mechanical stresses led to higher APX activity and lower RWC and LWP values. However, when plants exposed to combined drought and mechanical stresses, the mechanical stress plays dominant role in controlling plant water status and physiological responses. Moreover, the endophyte presence alleviated the adverse effects of abiotic stresses and P+ plants experience lower oxidative damage (i.e., lower CAT and APX activities), and had greater values RWC and LWP, especially under severe stressful conditions.

Keywords: Endophytic fungus, Catalase, Ascorbate peroxidase, Plant water status, PEG-6000