



اثر تلقیح با *Piriformospora indica* بر برخی صفات مورفولوژیک گیاه شنبليله تحت تنش کادمیم در سیستم هواکشت

فاطمه سادات سخائی^۱، زهرا موحدی^{۲*}، مهدی قبولی^۲، احسان محسنی فرد^۴
^{۱،۲،۳} گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر
^۴ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان
*نویسنده مسئول: Zahra_movahedi_312@yahoo.com

چکیده

تنش فلزات سنگین یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان در بسیاری از مناطق دنیا است. قارچ *Piriformospora indica* به عنوان یک قارچ اندوفیت شبه میکوریزی باعث تحریک رشد بسیاری از گونه‌های گیاهی گردیده و همچنین مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهد. هدف از اجرای این پژوهش بررسی تاثیر قارچ اندوفیت *P. indica* بر برخی پارامترهای مورفولوژیکی گیاه شنبليله در شرایط تنش نیترا کادمیم در سیستم هواکشت بود. این پژوهش بصورت آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول: شاهد، ۳ و ۶ میلی‌گرم در لیتر نیترا کادمیم و فاکتور دوم: شاهد، میسلیوم و اسپور) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم، تعداد برگ، طول ریشه، ارتفاع کل، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی روند نزولی دارد و همچنین گیاهان تلقیح شده با قارچ در مقایسه با گیاهان شاهد از رشد و عملکرد بیشتری در شرایط تنش تنش برخوردار بودند که این موضوع بر نقش مؤثر این قارچ در بهبود خصوصیات گیاه شنبليله تحت شرایط تنش فلزات سنگین دلالت داشت.

کلمات کلیدی: اندوفیت، تلقیح، فلز سنگین

مقدمه

امروزه مصرف گیاهان دارویی به اشکال مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند و مصرف آنها روز به روز در حال افزایش است (Ernst, 2002). اکثر افراد فکر می‌کنند که گیاهان دارویی به خاطر طبیعی بودنشان عاری از هر گونه عوارض جانبی هستند (De Smet., 1992)، ولی باید توجه داشت که کادمیم علاوه بر ریشه در برگ‌ها نیز تجمع می‌یابد (Davis et al., 1998). با توجه به ماهیت غیر قابل تجزیه بودن آنها، فلزات سنگین در لایه‌های فوقانی خاک تجمع می‌یابند که خطری جدی برای سلامت انسان و حیوان می‌باشد (Zhuang et al., 2009). روش‌های بیولوژیک مبتنی بر استفاده از موجودات مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، نقش موثری در افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های زنده و غیر زنده بر عهده دارند. همزیستی میکوریزا یکی از مهم‌ترین روابط همزیستی در عالم حیاط در دوره تکامل رشد گیاه است. در طی جریان همزیستی ریشه گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده عمل می‌کنند و از هم سود می‌برند (Krich et al., 2000). امروزه در کشاورزی پایدار از کودهای بیولوژیک جهت دستیابی به افزایش کیفیت و پایداری عملکرد محصولات زراعی و باغی به ویژه در گیاهان دارویی استفاده می‌کنند (Bethlenfalvay et al., 1996). یکی از مهم‌ترین این قارچ‌ها، قارچ *Piriformospora indica* می‌باشد که با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیک و اکولوژیک در گیاهان میزبان خود، عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش می‌دهند (Verma et al., 1998). با توجه به مطالبی که در بالا ذکر شد هدف از این پژوهش بررسی اثر قارچ *Piriformospora indica* بر برخی صفات مورفولوژیکی گیاه شنبليله تحت تنش کادمیم در سیستم هواکشت است.



مواد و روش‌ها

ابتدا بذر گیاه شنبليله از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. سپس بذرها با هیپوکلرید سدیم ۵٪ به مدت دو دقیقه ضد عفونی شده و سه بار با آب مقطر و هر بار به مدت دو دقیقه شستشو داده، سپس با اتانول ۷۰٪ به مدت سه دقیقه ضد عفونی و سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از ضد عفونی جهت جوانه‌زنی داخل پتری دیش قرار داده شدند. پس از اینکه جوانه‌ها به نیم تا یک سانت رسیدند با قارچ تلقیح شده و در زمان دو برگی به سیستم هواکشت انتقال داده شدند. پس از رشد گیاهان تیمار نیترات کادمیوم اعمال شد. این پژوهش بصورت آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول: شاهد، ۳ و ۶ میلی‌گرم در لیتر کادمیم و فاکتور دوم: شاهد، میسلیم و اسپور) با سه تکرار انجام شد.

کشت قارچ و آماده سازی اسپور:

جدایه قارچ *P. indica* در پتری دیش محتوای محیط کشت (حاوی عناصر میکرو، ماکرو، نمک‌ها، پیتون و عصاره مخمر)، کشت داده و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور به مدت ۴ هفته نگهداری شد. پس از گذراندن مدت زمان لازم جهت تولید اسپور، مقدار ۳۰-۲۰ میلی‌لیتر محلول آب توئین ۲۰٪ به هر پتری دیش افزوده شده و پس از جمع آوری اسپورهای قارچ، تعداد آنها با استفاده از لام نئوبار شمارش شدند. سپس جوانه‌های نیم تا یک سانت به مدت نیم ساعت با اسپور شیک داده شده و همزمان هم تیمار شاهد و میسلیم هم درون آب مقطر قرار داده شده تا با هم شیک شوند. دو هفته بعد پس از اعمال تیمار قارچ، گیاهان وارد سیستم هواکشت شده و بعد از اینکه گیاهچه‌ها به مرحله ۶ برگی رسیدند تیمار نیترات کادمیوم اعمال شد و چهار هفته پس از اعمال تیمار، صفات مورفولوژیک مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ هر گیاه، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه سنجیده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* برای صفات ارتفاع گیاه، ارتفاع ریشه، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال ۱٪ بسیار معنی‌دار بود لذا مقایسه میانگین برای این صفات روی اثرات متقابل انجام شد.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* نشان داد که بیشترین مقدار برای صفات ارتفاع گیاه (۵۱/۲ cm)، ارتفاع ریشه (۲۴/۳ cm)، سطح برگ ($310/3 \text{ mm}^2$)، تعداد برگ (۲۱۸/۵)، وزن تر اندام هوایی (۴۳/۴ g)، وزن تر ریشه (۱۱/۳ g)، وزن خشک اندام هوایی در هر گیاه (۸/۹ g) و وزن خشک ریشه در هر گیاه (۲/۳ g) با استفاده از میسلیم قارچ *Piriformospora indica* بدست آمده است (جدول ۱).

در این مطالعه با وجود اثر منفی کادمیم بر پارامترهای رشدی در گیاه شنبليله، تلقیح گیاهان با قارچ *Piriformospora indica* این اثرات منفی را تا حدی کاهش داده است. در مطالعه‌ای گیاهان برنج تیمار شده با قارچ پیریفورموسپرا طول، وزن تر و وزن خشک شاخه بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند (Bagheri et al., 2013). مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط با تأثیر قارچ‌های بر رشد رویشی گیاهان ذکر شده است. قارچ‌های اندوفیت قادرند با استفاده از گسترش ریشه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه را افزایش دهند (James et al., 2008). همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه از طریق جذب آب و عناصر غذایی، سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود رشد، نظیر ارتفاع گیاه می‌گردد (Khalvati et al., 2005).

بطور کلی نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم، تعداد برگ، طول ریشه، ارتفاع کل، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی روند نزولی دارد و همچنین گیاهان تلقیح شده با قارچ در مقایسه با گیاهان شاهد از رشد و عملکرد بیشتری در شرایط تنش تنش برخوردار بودند که این موضوع بر نقش مؤثر این قارچ در بهبود خصوصیات گیاه شنبليله تحت شرایط تنش فلزات سنگین دلالت داشت.



جدول «۱» مقایسه میانگین اثر متقابل نیترات کادمیوم و قارچ *Piriformospora indica* بر صفات مورفولوژیک شنبلیله در سیستم هواکشت

| صفات مورد مطالعه | | | | تیمار ترکیبی | |
|------------------|----------------------------|------------------|------------------|--------------|--------------------|
| تعداد برگ | سطح برگ (mm ²) | ارتفاع ریشه (cm) | ارتفاع گیاه (cm) | قارچ | نیترات کادمیوم |
| ۱۹۶/۲ c | ۲۹۰/۸ c | ۱۹/۲ b | ۴۰/۵ b | شاهد | شاهد |
| ۲۱۸/۵ a | ۳۱۰/۳ a | ۲۴/۳ a | ۵۱/۲ a | میسیلیوم | شاهد |
| ۲۰۶/۸ b | ۲۹۸/۵ b | ۲۱/۳ b | ۴۲/۳ b | اسپور | شاهد |
| ۱۸۳/۴ d | ۲۷۱/۵ d | ۱۶/۵ d | ۳۳/۲ cd | شاهد | ۳ میلی گرم در لیتر |
| ۱۹۳/۷ c | ۲۸۹/۳ c | ۲۰/۷ b | ۳۹/۳ b | میسیلیوم | ۳ میلی گرم در لیتر |
| ۱۸۷/۵ cd | ۲۷۴/۲ d | ۱۸/۸ bc | ۳۵/۱ c | اسپور | ۳ میلی گرم در لیتر |
| ۱۶۸/۵ f | ۲۵۵/۳ e | ۱۴/۳ e | ۲۹/۵ d | شاهد | ۶ میلی گرم در لیتر |
| ۱۸۹/۵ cd | ۲۷۸/۱ d | ۱۷/۹ bc | ۳۳/۱ cd | میسیلیوم | ۶ میلی گرم در لیتر |
| ۱۷۷/۵ e | ۲۷۹/۳ d | ۱۶/۵ d | ۳۲/۲ cd | اسپور | ۶ میلی گرم در لیتر |

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند
ادامه جدول ۱

| صفات مورد مطالعه | | | | تیمار ترکیبی | |
|-------------------|--------------------------|------------------|-------------------------|--------------|--------------------|
| وزن خشک ریشه (gr) | وزن خشک اندام هوایی (gr) | وزن تر ریشه (gr) | وزن تر اندام هوایی (gr) | قارچ | نیترات کادمیوم |
| ۱/۸۳ b | ۷/۳ c | ۹/۳۴ b | ۳۸/۲ c | شاهد | شاهد |
| ۲/۳ a | ۸/۹ a | ۱۱/۳ a | ۴۳/۴ a | میسیلیوم | شاهد |
| ۲/۱۴ a | ۸/۳ b | ۱۰/۷ ab | ۴۰/۷ b | اسپور | شاهد |
| ۱/۵۴ d | ۶/۵ e | ۷/۸ d | ۳۲/۷ e | شاهد | ۳ میلی گرم در لیتر |
| ۱/۸۵ b | ۷/۲ c | ۹/۷ b | ۳۷/۳ c | میسیلیوم | ۳ میلی گرم در لیتر |



| | | | | | |
|--------|-------|-------|--------|----------|--------------------|
| ۱/۷۵ c | ۶/۹ d | ۸/۷ c | ۳۵/۴ d | اسپور | ۳ میلی گرم در لیتر |
| ۱/۲۸ e | ۵/۸ f | ۶/۹ e | ۲۸/۶ f | شاهد | ۶ میلی گرم در لیتر |
| ۱/۷۲ c | ۶/۸ d | ۸/۵ c | ۳۴/۶ d | میسیلیوم | ۶ میلی گرم در لیتر |
| ۱/۴۹ d | ۶/۴ e | ۷/۵ d | ۳۱/۸ e | اسپور | ۶ میلی گرم در لیتر |

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

منابع

- Bagheri, A.A., Saadatmand, S., Niknam, V., Nejadstari, T. and Babaeizad, V. 2013. Effect of endophytic fungus, *Piriformosporaindica* on growth and activity of antioxidant enzymes of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 1(11): 1337-1350
- Bhattacharyya, MH., Wilson, AK., Rajan. SS. and Jonah, M. 2000. Biochemical pathways in cadmium toxicity. In: Zalup RK, Koropatnick J, Eds. *Molecular Biology and Toxicology of Metals*. London: Taylor and Francis, 1-74.
- Davis, R. D. and Calton-Smith, C. 1980. Crops as Indicators of the significance of contamination of soil by heavy metals. WRC, Stevenage. TR 140.
- De smet, P. A. G., Hansel, R. and Chandler, R. F. 1992. Adverse effect of herbal. *Drugs*, Heidelberg: Springer-veriag. 1: 1-72.
- Ernst, E. 2002. Heavy metals in traditional Indian remedies. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 57: 12. 891-896.
- James, B., Rodel, D., Loretta, U., Reynaldo, E. and Tariq, H. 2008. Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of *Senna Spectabilis*. *Pakistan Journal of Botany*: 40(5):2217-2224.
- Khalvati, M. A., Mzafar, A. and Schmidhalter, U. 2005. Quantification of water uptake by arbuscularmycorrhizal hypha and its signification for leaf growth, water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology Stuttgart*:7(6): 706-712.
- Krich, H., R. vera, R. Stella, D. Gollack, F. Quigley, B. J. Barkla. and H. J. Bohnert. 2000. Expression of water channel proteins in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant physiology*. 123: 111.
- Verma, S., Varma, A., Rexer, K.H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Butehorn, B. and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *The Journal of Mycology*. 90(5): 896-903.
- Zhuang, P., Zou, B. and Li, Z. 2009. Heavy metal contamination in soils and food crops around Dbaoshan mine in Guangdong, china: implication for human health. *Environmental Geochemistry and Health*, 31(6): 15-707.



Effect of *Piriformospora indica* inoculation on some morphologic traits of fenugreek under cadmium stress in aeroponic system

Fatemeh sadat Sakhai¹, Zahra Movahedi^{2*}, Mehdi Ghabooli³, Ehsan Mohseni fard⁴

^{1,2,3} Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

⁴ Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran

*Corresponding Author: Zahra_movahedi_312@yahoo.com

Abstract

Heavy metal stress is one of the most important factors limiting the growth and yield of plants in many parts of the world. The fungus *Piriformospora indica*, as a mycorrhizal endophytic fungus, stimulates the growth of many plant species and also increases the resistance to biotic and abiotic stress. The purpose of this study was to investigate the effect of *P. indica* on some morphology parameters of fenugreek plant under Cd stress. This experiment was performed according to a factorial experiment (Factor A: control, 3 mg l⁻¹ and 6 mg l⁻¹ Cd and Factor B: control, Mycelium and Spore) in a completely randomized design (CRD) layout with 3 replications. The results showed that with the increase in concentrations of Cd, leaf number, plant height, root length, root fresh and dry weights, shoot fresh and dry weights showed a downward trend and indicated the effective role of this fungus in improving the characteristics of fenugreek plant under Cd stress conditions. According to these results, it seems that the fungus in addition to colonization of fenugreek also has an effect on its improvement in Cd stress.

Keywords: Endophytic, Heavy metal, Inoculation

