ارتباط میان محتوی تنظیم‌کننده های اسمزی با افزایش مقاومت به خشکی علف‌گندمی بیابانی (*Agropyron desertorum*) آمیخته با مایکوریزا

مریم محمدهاشمی[۱]، علی نیکبخت*[۲]، محمد پسرکلی[۳]، نعمت‌اله اعتمادی[۴]

[۱] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[۲*و۴] دانشیاران، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[۳]- استاد مدرسه علوم گیاهی، دانشگاه آریزونا، ایالات متحده امریکا

*نویسنده مسئول: anikbakht@cc.iut.ac.ir

چکیده

آزمایشی به‌منظور بررسی ارتباط میان محتوی تنظیم‌کننده‌های اسمزی پرولین و قندمحلول با افزایش مقاومت به خشکی علف‌گندمی‌بیابانی (*Agropyron desertorum*) آمیخته با قارچ مایکوریزا اجرا شد. این آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار در طی سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در محوطه اطراف گلخانه‌های پژوهشی-آموزشی دانشگاه صنعتی اصفهان صورت گرفت. تیمارها شامل تلقیح سه ترکیب قارچ (*Glomus intraradices*، *Glomus mosseae* و مخلوط دو گونه قارچ) و اعمال دو سطح آبیاری (آبیاری کامل وقطع آبیاری) بود. بعد از اتوکلاو خاک و افزودن قارچ‌های مایکوریزا به گلدان‌ها کشت بذرها انجام شد. با استقرار چمن‌ها، تنش خشکی (قطع آبیاری) اعمال گردید. نتایج نشان داد تنش خشکی باعث افزایش محتوی پرولین و قندمحلول و کاهش محتوی نسبی آب برگ و افزایش نشت‌یونی گردید اما همزیستی مایکوریزایی با افزایش بیشتر محتوی پرولین و قند محلول باعث حفظ بهتر محتوی نسبی آب برگ و کاهش نشت‌یونی و در نتیجه افزایش مقاومت به تنش خشکی شد. بنابراین استفاده از قارچ مایکوریزا در شرایط خشکی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: **پرولین، خشکی، علف‌گندمی، قندمحلول، مایکوریزا.**

مقدمه

علف‌گندمی بیابانی با نام علمی *Agropyron desertorum L.* چمن فصل سرد است که دارای عمر طولانی می‌باشد و سازگاری خوبی به شرایط آب‌وهوایی خشک و نیمه‌خشک، انواع خاک‌ها به غیر از خاک‌های رسی‌سنگین و یا شنی، سرما و چرای دام دارند (Beard, 1973).

تنظیم‌کننده‌های اسمزی سبب افزایش سازگاری به خشکی می‌گردند. به‌عنوان مثال پرولین می‌تواند به عنوان یک مولکول تنظیمی برای علامت‌دهی عمل نماید و موجب فعال‌سازی پاسخ‌های متعددی شود (Morot-Guadryet *et al.*, 2001). تجمع پرولین در چمن‌ها طی تنش‌خشکی توسط پژوهشگران گزارش شده‌است (Gill and Tuteja, 2010)، (Fariaszewska *et al.*, 2016). قندهای محلول نیز از دیگر اسمولیت‌های سازگار هستند که در شرایط خشکی تجمع یافته و ممکن است به عنوان عامل‌اسمزی عمل نمایند (Ingram and Bartel, 1996). نشت یونی از مهم‌ترین شاخص‌های فیزیولوژیکی جهت ارزیابی سازگاری به تنش‌خشکی می‌باشد (Marcum *et al.*, 1995). تنش خشکی کاهش محتوی‌نسبی‌آب چمن‌ها را به دنبال دارد (Bywater, 2001) اما گزارش شده که مایکوریزا احتمالا از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ، میزان آب بیشتری جذب کرده و باعث بهبود روابط‌آبی گیاه میزبان می‌گردد (Auge *et al.*, 2001).

هدف از این پژوهش بررسی میان محتوی تنظیم‌کننده‌های اسمزی پرولین و قندمحلول با افزایش مقاومت به خشکی علف‌گندمی‌بیابانی (*Agropyron desertorum*) آمیخته با قارچ مایکوریزا بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی ارتباط میان محتوی تنظیم‌کننده‌های اسمزی با افزایش مقاومت به خشکی علف‌گندمی‌بیابانی (*Agropyron desertorum*) آمیخته با مایکوریزا آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاتصادفی با ۵ تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل چهار تیمار قارچ‌مایکوریزا (گونه *G.intraradices*، گونه *G.mosseae*، مخلوط دو گونه قارچ و شاهد) و جنس علف‌گندمی و شرایط تنش خشکی و شاهد بود.

پس از آماده‌سازی مخلوط خاک و ماسه به نسبت ۳:۱، برای اطمینان از عدم وجود میکروارگانیسم های دیگر، خاک موردنظر در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و به صورت مرطوب اتوکلاو شده و بعد به‌طور کامل با کود مایکوریزا مخلوط شد. بدین‌صورت که گلدان‌های شاهد بدون قارچ در نظر گرفته شدند. سایر تیمارها گونه *G.mosseae* ، گونه *G.intraradices* و در نهایت مخلوط هر دو گونه قارچ مورد استفاده قرارگرفت. سپس مخلوط خاک و قارچ در گلدان های استریل به ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۱۶ سانتی‌متر که با شن درشت بادامی استریل‌شده به‌عنوان زهکش پوشانده شده بودند، منتقل شد. کود مایکوریزا از شرکت تعاونی زیست فناور توران واقع در شاهرود و به تعداد ۳۰ اسپور در هر گرم خاک تهیه شد. هر گلدان از ۶ کیلوگرم مخلوط خاک پر شد و برای گلدان‌هایی که با قارچ‌مایکوریزا ارتباط داشتند، خاک با ۳۶ گرم قارچ یا مخلوط قارچی مورد نظر به طور کامل آمیخته شد. گلدان‌ها در شرایط مناسب آبیاری قرار گرفتند تا به طور کامل سطح گلدان‌ها توسط چمن پوشانده شود. در این پژوهش بذر چمن علف‌گندمی از شرکت پاکان‌بذر تهیه شد. این بذرها از منطقه قهیز فریدن جمع‌آوری شده بودند. کاشت در تاریخ ۷ مهر ۹۲ انجام شد و استقرار و پوشاندن کامل سطح گلدان‌ها حدود شش ماه به طول انجامید. شش ماه پس از کاشت بذرها، اعمال تنش خشکی که به صورت قطع آبیاری بود، انجام شد و آزمایش‌های اندازه‌گیری محتوی پرولین و قندمحلول، محتوی نسبی آب برگ و نشت‌یونی در زمان قبل از تنش‌خشکی و۵۰ درصد خشکیدگی چمن صورت پذیرفت.

محتوی نسبی آب برگ از طریق روش Cherki و همکاران (۲۰۰۲) و با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$(FW-DW) / (TW-DW) \times 100$$ رابطه (۱)

در این رابطه، FW وزن تازه قطعات برگی، TW وزن تورژسانس نمونه‌ها (پس از قرار گرفتن برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون پتری دیش حاوی آب‌مقطر) و DW وزن خشک نمونه‌ها بعد از قرارگرفتن درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بود.

اندازه‌گیری پرولین با استفاده از ۱/۰ گرم از نمونه‌های برگی و بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. اندازه‌گیری میزان قندهای ساده محلول در اندام‌هوایی با استفاده از روش Dubios (۱۹۵۶) و با استفاده از۰/۱ گرم برگ های خشک شده در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پایداری غشاءسلولی با اندازه‌گیری نشت الکترولیتی بافت برگ طبق روش Ebercon و Blum (۱۹۸۱) و به کمک رابطه (۲) محاسبه شد.

$$\% EL = (EC_{init} / EC_{max}) \times 100$$ رابطه (۲)

که در آن EL: نشت‌اکترولیتی، EC_{init}: هدایت‌الکتریکی اولیه و EC_{max}: هدایت‌الکتریکی حداکثر می‌باشد.

محتوی پرولین و قندمحلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل [UV-600 A] - ساخت ژاپن) قرائت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه واریانس داده‌های مربوط به هر صفت به کمک نرم‌افزار سیستم پردازش آماری Statistix (نسخه ۸/۱) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون (LSD)[۱] انجام شد. برای انجام محاسبات و رسم نمودارها از نرم افزار اکسل[۲] (نسخه ۲۰۱۰) استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که محتوی قندمحلول و پرولین، میزان نشت‌یونی و محتوی نسبی آب برگ بسته به اثر تنش‌خشکی، گونه قارچ‌مایکوریزا (در سطح ۰/۱ درصد) و هم چنین محتوی پرولین و میزان نشت یونی بسته به اثر متقابل آن‌ها (در سطح ۰/۱ درصد) تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد (جدول۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر قارچ مایکوریزا بر محتوی پرولین، قندمحلول، محتوی نسبی آب برگ و نشت یونی

		میانگین‌مربعات			
منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	قندمحلول	محتوی نسبی آب برگ	نشت یونی
قارچ مایکوریزا	۳	۳۳۸/۵ **	۱/۹۲ **	۱۶۵/۸ **	۶۸/۲ **
تنش خشکی	۱	۲۶۷۹۱ **	۳۸۴/۰۳ **	۲۱۰۶۰/۳ **	۳۳۵۷۰/۴ **
مایکوریزا×خشکی	۳	۲۶۳/۷ **	۰/۴۷ ns	۳۳/۷ ns	۲۵/۸ **
خطا	۲۸	۱۱/۹	۰/۴۱	۳۲/۴	۵/۲
کل	۳۹				
ضریب تغییرات		۹/۱۸	۸/۱	۱۵/۳۲	۶/۴۱

ns عدم وجود اختلاف معنی دار، * اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ** اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ ٪

تنش‌خشکی محتوی قندمحلول را ۲/۳ برابر افزایش و محتوی نسبی آب برگ را ۴/۲ برابر کاهش داد. تلقیح گیاهان با مایکوریزا سبب افزایش پرولین، قندمحلول و کاهش نشت‌یونی شد. به‌عنوان مثال استفاده از *G. mosseae* باعث افزایش ۱۸/۷ درصدی قندمحلول نسبت به شاهد گردید (جدول۲). اثر متقابل مایکوریزا و خشکی نشان داد نشت یونی در گیاهان تلقیح شده با *G. intraradices* در شرایط خشکی ۱۲/۳ برابر گیاهان شاهد در شرایط بدون خشکی شد. هم‌چنین گیاهان تلقیح شده با قارچ در شرایط خشکی حدود ۶/۵ برابر افزایش محتوی پرولین نسبت به گیاهان شاهد در شرایط بدون خشکی را نشان دادند (جدول۳). به‌طور کلی نتایج نشان داد تلقیح گیاهان با قارچ مایکوریزا باعث افزایش پرولین و قندمحلول و در نتیجه حفظ بهتر محتوی نسبی آب برگ و کاهش نشت یونی شد. بنابراین کاربرد قارچ مایکوریزا در شرایط تنش خشکی توصیه می گردد.

[۱] Least Significant difference
[۲] -Excel, version 2010

جدول۲- مقایسه میانگین اثر ساده قارچ مایکوریزا و تنش خشکی

تیمار	نشت یونی(درصد)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوی نسبی آب برگ (درصد)	قند محلول (میلی گرم بر گرم وزن خشک)
M0	۳۷/۹۲ a	۲۸/۷۹ b	۳۱/۱۲۵ b	۷/۴۱ c
M1	۳۷/۵۲ a	۴۰/۱۴ a	۳۹/۹۱ a	۸/۰۳ ab
M2	۳۲/۹۶ b	۴۰/۹۹ a	۳۹/۲۳ a	۸/۸ a
M3	۳۳/۴۸ b	۴۰/۰۴ a	۳۱/۱۳ b	۷/۸۷ bc
LSD	۱/۰۲	۱/۵۴	۲/۵۵	۸/۱
خشکی				
S0	۶/۵ b	۱۱/۶۱ b	۶۰/۱ a	۴/۸۵ b
S1	۶۴/۴۴ a	۶۳/۳۷ a	۱۴/۲۱ b	۱۱/۰۵ a
LSD	۰/۷۲	۱/۰۹	۱/۸	۰/۲

در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSDدر سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.M0: بدون تلقیح قارچ، M1:*G. intraradices*، M2:*G. mosseae*، M3: مخلوط دو گونه قارچ
S0: بدون تنش خشکی، S1: تنش خشکی با قطع آبیاری

جدول۳- اثر متقابل قارچ مایکوریزا و تنش خشکی

تیمار	نشت یونی (درصد)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوی نسبی آب برگ (درصد)	قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)
S0M0	۷/۳۱ c	۱۰/۵۷ c	۵۲/۰۶ b	۴/۲۵ d
S0M1	۷/۳۷ c	۱۲/۰۱ c	۶۵/۲۷ a	۴/۷۴ cd
S0M2	۵/۲۴ c	۱۲/۹۵ c	۶۱/۶۷ a	۵۳/۳۳ c
S0M3	۶/۰۳ c	۱۰/۹ c	۶۱/۴۳ a	۵/۰۸ cd
S1M0	۶۸/۴۸ a	۴۷ b	۱۰/۱۹ c	۱۰/۵۸ b
S1M1	۶۷/۶۸ a	۶۸/۲۷ a	۱۴/۵۶ c	۱۱/۳۳ ab
S1M2	۶۰/۶۹ b	۶۹/۰۳ a	۱۶/۷۸ c	۱۱/۶۳ a
S1M3	۶۰/۹۳ b	۶۹/۱۸ a	۱۵/۳۲ c	۱۰/۶۶ b
LSD	۱/۴۴	۲/۱۸	۳/۶	۰/۴۱

در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSDدر سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.M0: بدون تلقیح قارچ، M1:*G. intraradices*، M2:*G. mosseae*، M3: مخلوط دو گونه قارچ
S0: بدون تنش خشکی، S1: تنش خشکی با قطع آبیاری

منابع

Auge, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11: 3-42.

Bates, L. S., Woldern, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free prolinfor water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Beard, J. B. 1973. Turfgrass: Science and culture. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, N.J.

Blum, A. and Ebercon, A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Sci. 21: 43-47.

Bywater, M. 2001. Plant growth regulator-mode of action. Aust. Turfgrass Management. 3.3. June/July.

Cherki, G. H., Foursy, A. and Fares, K. 2002. Effects of salt stress on growth inorganic ions and prolin accumulation in relation to osmotic adjustmentin five sugerbeet cultivars. Environ. Exp. Bot. 47: 39-50.

Fariaszewska, A., Aper, J., Van Huylenbroeck, J., Baert, J., Riek, J. De., Staniak, M. and Pecio, Ł. 2016. Mild Drought Stress-Induced Changes in Yield, Physiological Processes and Chemical Composition in Festuca, Lolium and Festulolium. J Agro Crop Sci.

Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. Biochem. 48 : 909-930.

Ingram, J. and Bartels, D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annu. Rev. of Plant Physiol. and Mol. Biol. 47: 337-403.

Marcum, K. B., Engelke, M. C., Morton, S. J. and White, R. H. 1995. Rooting charactristics and associated drought resistance of zoysiagrasses. Agron. J. 87: 534-538.

Morot-Guadry, J.F., Job, D. and Lea, P.J. 2001. Amino acid metabolism. In: Lea P.J. and Morot-Guadry, J.F. (eds.), Plant Nitrogen. Berlin. Springer Pp. 167-211.

The Relationship between Regulators of Osmotic Activity with Increased Resistance of Drought Desert Wheatgrass (*Agropyron desertorum*) Inoculated with Mycorrhizal Fungi

Maryam Mohamad Hashemi [1], Ali Nikbakht[1], Mohamad pessarakli [2]*, Nematollah Etemedi [1]

[1] Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology,
[2] School of Plant Sciences, College of Agriculture and Life Sciences University of Arizona America

*Corresponding Author: anikbakht@cc.iut.ac.ir

Abstract

In order to evaluate the relationship between osmoticregulators including proline and soluble sugars with tolerance ofdesert wheatgrass (*Agropyron desertorum*) to drought a pot survey was conducted at Isfahan University of Technology, Iran. The soil was mixed with mycorrhizal fungi. The experiment was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design with 5 replications during the years 2013-2014 The **treatments included 3 mycorrhizal fungi and 2 irrigation conditions. After autoclaving the soil and adding mycorrhizal fungi (*Glomus intraradices, Glomus mosseae* or a mixture of two species of fungi) seeds were planted in pots. After the establishment of grasses, drought stress (no irrigation) were applied on related pots.The results showed that drought stress increased proline content and soluble sugars and thus reduce the relative water content and increased electrolyte leakage, but symbiosis with mycorrhiza increased proline content and soluble sugar resulting in preserved relative water content and reduced ion leakage. These resulted in increased resistance to drought stress. Therefore mycorrhizal fungi inoculation could be considered as a useful toll in dry conditions**

***Keywords*: Mycorrhizal fungi, dry stress, wheatgrass, proline, soluble sugars.**