تعدیل تنش شوری در زردآلو در همزیستی با قارچ مایکوریزا و باکتری محرک رشد

مائده افشاری[۱*]، بهرام بانی‌نسب[۱]، مهدیه غلامی[۱] و مهدی زارعی[۲]
[۱]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
[۲]گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
*نویسنده مسئول: maedeh.afshari92@gmail.com

چکیده

قارچ‌های مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد به‌عنوان عوامل خاکزی در بهبود مقاومت به تنش شوری در گیاه شناخته می‌شوند. به‌منظور بررسی اثر قارچ‌های مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد در بهبود مقاومت به شوری گیاه زردآلو آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. بذرهای زردآلو در زمان کشت به‌صورت خاکی با میکروارگانیسم‌های موردنظر قارچ (*Rhizophagus irregularis*) و باکتری(*Pseudomonas fluorescent*) تلقیح شدند و تحت تیمار شوری (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم) قرار گرفتند. نتایج نشان داد شوری سبب افزایش غلظت سدیم و کاهش غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره گیاهان شد. در مقابل کاربرد انواع کودهای زیستی به‌طور معنی سبب افزایش پتاسیم ریشه و شاخساره شدند. تنش شوری و کودهای زیستی همچنین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ زردآلو در مقایسه با گیاهان شاهد شدند. درمجموع در این آزمایش تلقیح گیاهان با قارچ و باکتری با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ، خسارت اکسیداتیو ناشی از شوری در زردآلو را کاهش دادند.

واژه‌های کلیدی: شوری، مایکوریزا، باکتری محرک رشد

مقدمه

زردآلو از مهم‌ترین درختان میوه است که به خاطر ویژگی‌های ویژه و نیز اهمیت تجارتی در سرتاسر دنیا گسترش دارد. زردآلو ازجمله درختان هسته‌دار حساس به شوری است که عملکرد آن در دهه‌های اخیر به دلیل کاهش بارندگی‌ها و خشک‌سالی که منجر به افزایش شوری و کاهش کیفیت آب آبیاری شده به‌شدت کاهش‌یافته است (Ottman and Byrne, 1988). تنش شوری می‌تواند بر تمام جنبه‌های رشد و نمو گیاه و متابولیسم‌های آن از قبیل جوانه‌زنی بذر، رشد، فتوسنتز، بیان ژن‌ها و تجمع متابولیت‌ها اثرگذار باشد. سطوح بالای سدیم می‌تواند بر فعالیت آنزیم‌ها اثر منفی داشته باشد، منجر به تولید انواع اکسیژن فعال شود، عملکرد غشا را مختل سازد و باعث عدم تعادل اسمزی شود (Muns, 2005). یکی از راهکارهای کاهش خسارت ناشی از شوری در گیاهان استفاده از کودهای زیستی است که می‌تواند رشد و قدرت زنده ماندن گیاه را تحت تنش شوری افزایش دهد ((Souzas, 2015. همزیستی با میکروارگانیسم-های سودمند با افزایش طول و سطح ریشه، افزایش جذب برخی عناصر معدنی و همچنین بهبود هدایت هیدرولیکی در ریشه به جذب آب در شرایط شوری کمک می‌کند دهد(Jeffries *et al*., 2003). باکتری‌های خاکزی (ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه) از طریق تولید و ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مثل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها، فراهم نمودن عناصر غذایی موردنیاز گیاه ازجمله فسفر و نیتروژن و تعدیل یا خنثی نمودن اثرات منفی تنش‌های محیطی باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند Ortiz-Castro(. (*et al*., 2009 مطالعه حاضر به‌منظور بررسی نقش قارچ آربوسکولار مایکوریزا و باکتری محرک رشد در کاهش خسارات ناشی از تنش شوری در گیاه زردآلو و بررسی رشد و نمو دانهال‌های زردآلو تحت تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

بذرهای زردآلوی هلندر (*Prunus armeniaca*) پس از دوره سرمادهی در کیسه‌های پلاستیکی حاوی پرلایت، ماسه و خاک استریل شده با نسبت ۱:۱:۱ کاشته شدند. در تیمار مایکوریزا هنگام کاشت مایه تلقیح قارچ *Rhizophagus irregularis* به میزان ۹۰ گرم (هر گرم از آن حاوی ۱۰ عدد اسپور) در زیر بذرها قرار داده شد. تیمارهای باکتری *Pseudomonas fluorescent* به‌صورت محلول به میزان ۴ میلی‌لیتر (هر میلی‌لیتر حاوی۱۰۷×۱ عدد باکتری) برای هر بذر در ناحیه ریشه مورداستفاده قرار گرفت. پس از برقراری همزیستی میان قارچ و گیاهان، تیمارهای شوری در چهار سطح ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم آغاز گردید. پس از گذشت

یک ماه و ظهور علائم تنش برخی به شرح زیر اندازه‌گیری شد. میزان غلظت عنصر سدیم و پتاسیم با روش خاکستر خشک و استفاده از دستگاه شعله سنج تعیین شد. برای اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ‌های جوان در نیتروژن مایع پودر شده و سپس با یک میلی‌لیتر بافر استخراج به‌طور کامل همگن شد. بافر استخراج از پلی وینیل پیرولیدین یک درصد، تریتون X100 نیم درصد و بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی مولار (pH برابر با ۷/۸) تشکیل‌شده است. عصاره حاصل با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس و به مدت‌زمان ۳۰ دقیقه سانترفیوژ شد. بخش بالایی عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز استفاده شد. (Manafi *et al*., 2021)تجزیه‌وتحلیل داده‌ها انجام و مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، شوری و کاربرد کودهای زیستی اثر معنی‌داری بر غلظت سدیم و پتاسیم برگ و شاخساره در سطح احتمال یک درصد داشت (داده‌ها ارائه نشده است). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش غلظت شوری غلظت سدیم ریشه و شاخساره افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین غلظت سدیم ریشه و شاخساره مربوط به غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود (جدول۱). همچنین اگرچه کاربرد کودهای زیستی قارچ و باکتری به‌صورت مستقل و همچنین کاربرد هم‌زمان آن‌ها سبب کاهش معنی‌دار غلظت سدیم ریشه و شاخساره نسبت به تیمار شاهد شد اما کمترین غلظت سدیم ریشه مربوط به تیمار کاربرد باکتری و سدیم شاخساره مربوط به تیمار کاربرد هم‌زمان قارچ و باکتری بود (جدول۲). اثرات متقابل تیمار شوری و کاربرد کودهای زیستی نیز نشان داد در تیمارهای شوری کاربرد انواع کودهای زیستی سبب کاهش غلظت سدیم شاخساره شد ولی در شرایط بدون تنش تنها کاربرد باکتری باعث کاهش این پارامتر نسبت به شاهد شد (شکل ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش شوری غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت به‌گونه‌ای که کمترین غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره مربوط به غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که نسبت به تیمارهای شاهد به ترتیب کاهش۴۱/۳ و ۳۱/۴۳ درصدی نشان داد. نتایج همچنان نشان داد کاربرد کودهای زیستی تاثیر معنی‌داری در افزایش غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره داشت (جدول۲). در تائید نتایج این پژوهش تاثیر مثبت قارچ و باکتری در بهبود رشد آکاسیا در شرایط تنش شوری نیز قبلاً گزارش‌شده است(Hashem *et al*., 2016).

جدول ۱- اثر سطوح مختلف شوری بر میزان عناصر سدیم و پتاسیم (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) شاخساره و ریشه دانهال زردآلو

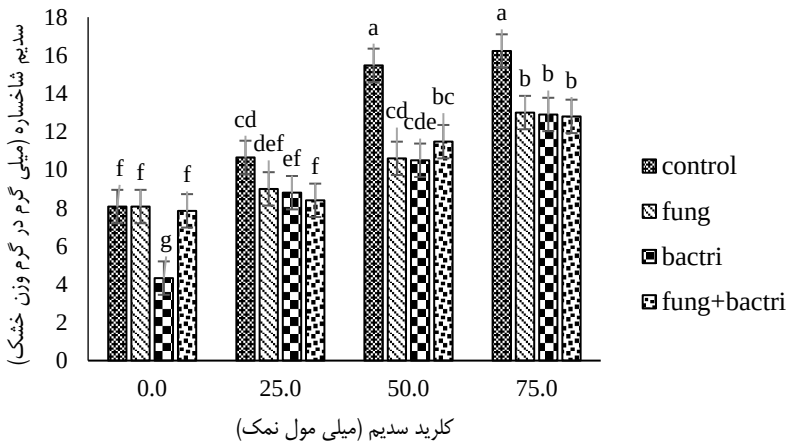
کلرید سدیم (میلی مولار)	پتاسیم شاخساره	سدیم شاخساره	پتاسیم ریشه	سدیم ریشه
۰	۱۹/۸۸a	۷/۰۸d	۱۳/۰۰a	۰/۹۴c
۲۵	۱۸/۳۱b	۹/۲۱c	۱۱/۷۵b	۱/۰۸b
۵۰	۱۵/۲۵c	۱۲/۰۱b	۹/۵۰c	۱/۱۶a
۷۵	۱۳/۶۳d	۱۳/۷۳a	۷/۶۳d	۱/۱۹a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

جدول ۲- اثر کاربرد کود زیستی بر میزان عناصر سدیم و پتاسیم (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) شاخساره و ریشه دانهال زردآلو

کود زیستی	پتاسیم شاخساره	سدیم شاخساره	پتاسیم ریشه	سدیم ریشه
شاهد	۱۳/۹۴c	۱۲/۶۱a	۸/۰۶c	۱/۱۶a
قارچ	۱۸/۹۴a	۱۰/۱۷b	۱۲/۰۶a	۱/۰۶bc
باکتری	۱۶/۶۹b	۹/۱۳c	۹/۵۰b	۱/۰۲c
قارچ و باکتری	۱۷/۵۰b	۱۰/۱۳b	۱۲/۲۵a	۱/۱۲ab

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.



شکل ۱- اثر متقابل تنش شوری و کود زیستی بر میزان سدیم شاخساره دانهال زردآلو. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش شوری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به غلظت ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم بود (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد شوری و کاربرد کودهای زیستی اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد داشت. با افزایش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین فعالیت این آنزیم (۴۸/۷۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که نسبت به تیمار شاهد افزایش ۴۲/۳۴ درصدی نشان داد (جدول۳). کاربرد کودهای زیستی به‌صورت مستقل و یا هم‌زمان بدون تاثیر معنی‌دار نسبت به یکدیگر، باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۴). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد شوری، کاربرد کودهای زیستی و همچنین اثرات متقابل آن‌ها اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز داشت. با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ابتدا کاهش و سپس در بالاترین غلظت شوری به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به میزان ۳۱/۰۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که منجر به افزایش ۶/۴ درصدی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد (جدول۳). همچنین اگرچه کاربرد کودهای زیستی قارچ و باکتری به‌صورت مستقل و همچنین کاربرد هم‌زمان آن‌ها سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد اما بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوط به تیمار کاربرد قارچ بود (جدول ۴). اثرات متقابل تیمار شوری و کاربرد کودهای زیستی نیز نشان داد اگرچه در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم کاربرد هم‌زمان قارچ و باکتری بهترین تیمار در افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود اما در غلظت صفر میلی‌مولار کلرید سدیم کاربرد هم‌زمان قارچ و باکتری اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نداشت (شکل ۲). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد شوری، کاربرد کودهای زیستی و همچنین اثرات متقابل آن‌ها اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز داشت (جدول۴). با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز افزایش یافت. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز به میزان ۲/۷۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که منجر به افزایش ۲/۷ برابری میزان آنزیم گایاکول‌پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد (جدول۳). اگرچه کاربرد کودهای زیستی قارچ و باکتری به‌صورت مستقل و همچنین کاربرد هم‌زمان آن‌ها سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم گایاکول-پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد اما بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز مربوط به تیمار کاربرد هم‌زمان قارچ و باکتری بود که سبب افزایش ۲/۹ برابری میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد (جدول۴). اثرات متقابل تیمار شوری و کاربرد کودهای زیستی نیز نشان داد. در غلظت‌های صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای کاربرد مستقل و هم‌زمان قارچ و باکتری وجود نداشت اما در بالاترین غلظت شوری کاربرد هم‌زمان قارچ و باکتری به‌طور معنی‌داری برترین

تیمار در افزایش فعالیت گایاکول‌پراکسیداز بود (شکل ۲). بهبود فعالیت سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تاثیر کاربرد کودهای زیستی در شرایط شوری در کاهو نیز گزارش‌شده است(Kohler *et al.*, 2009).

جدول ۳- اثر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (U/min.mg Protein)دانهال زردآلو

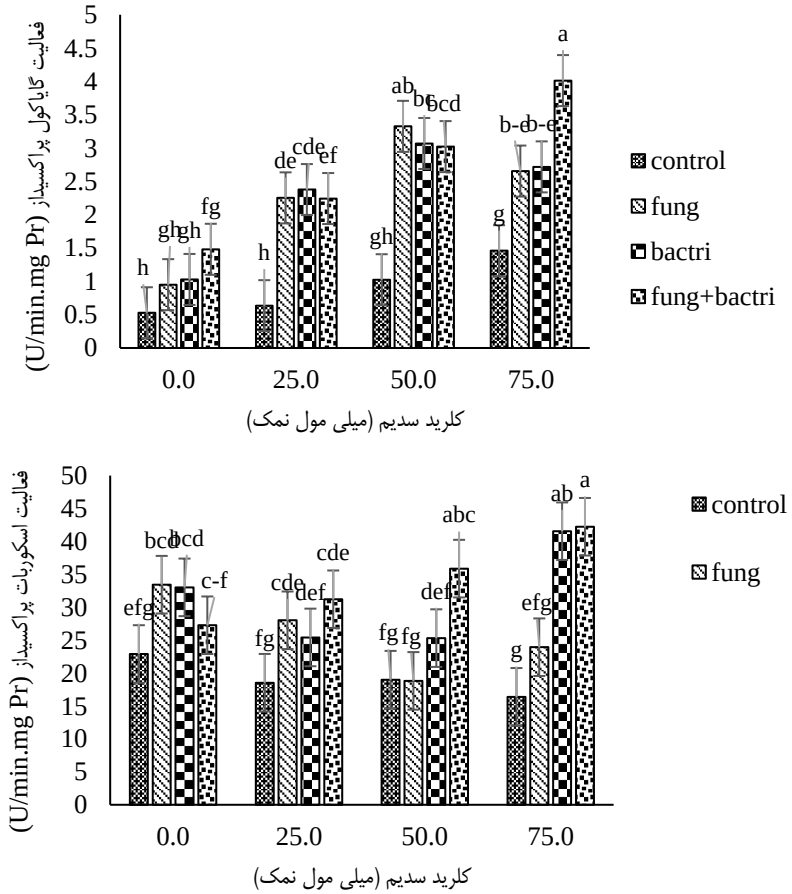
کلرید سدیم (میلی‌مولار)	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	اسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز
۰	۲۹/۷۲b	۲۱/۸۵c	۲۹/۱۵ab	۰/۹۹c
۲۵	۳۳/۲۳b	۵۵/۹۵a	۲۵/۷۸bc	۱/۸۸b
۵۰	۴۰/۶۰a	۴۳/۲۹b	۲۴/۷۵c	۲/۶۱a
۷۵	۴۰/۶۲a	۴۸/۷۳b	۳۱/۰۳a	۲/۷۱a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

جدول ٤- اثر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (U/min.mg Protein)دانهال زردآلو

کود زیستی	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	اسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز
شاهد	۳۶/۷۵a	۳۵/۶۶b	۱۹/۲۱c	۰/۹۱c
قارچ	۳۷/۸۰a	۴۳/۴۹ab	۲۶/۰۵b	۲/۲۹b
باکتری	۳۷/۶۲a	۵۰/۷۶a	۳۴/۱۵a	۲/۲۹b
قارچ و باکتری	۳۲/۳۹a	۵۱/۸۸a	۳۱/۳۳a	۲/۶۹a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.



شکل ۲- اثر متقابل تنش شوری و کود زیستی بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در دانهال زردآلو. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده شوری سبب ایجاد خسارت اکسیداتیو در گیاه شد که نشانه‌های آن شامل افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در مقایسه با تیمار شاهد بود. همچنین شوری باعث کاهش میزان غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره گردید و در مقابل غلظت سدیم ریشه و شاخساره را افزایش داد. تیمار قارچ مایکوریزا توانست میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره را به‌صورت معنی‌داری افزایش دهد. به نظر می‌رسد تیمار باکتری محرک رشد نتوانسته است مقاومت گیاه به شوری را به‌طور معنی‌دار در رابطه با برخی از صفات بهبود ببخشد؛ اما درزمانی که به‌صورت هم‌زمان با قارچ مایکوریزا استفاده شد عملکرد مثبتی را از خود نشان داد. قارچ مایکوریزا و باکتری محرک رشد به علت بهبود نسبی رشد و همچنین افزایش تحمل به شوری می‌تواند به‌عنوان یکی از راه‌حل‌های اصلی جهت کاهش خسارت ناشی از شوری بر دانهال‌های زردآلو مورداستفاده قرار گیرد.

منابع

Hashem, A., Abd_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Al-Huqail, A.A., Wirth, S., Egamberdieva, D. 2016. The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. Frontiers in Microbiology, 7: 1089.

Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea J.M. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils. 37: 1–16.

Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., and Roldán, A. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Environmental and Experimental Botany, 65: 245-252.

Manafi, H., Baninasab, B., Gholami, M., Talebi, M., Khanizadeh, S. 2021. Exogenous melatonin alleviates heat-induced oxidative damage in strawberry (*Fragaria× ananassa* Duch. cv. Ventana) plant. Journal of Plant Growth Regulation, 39: 1-13.

Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytologist, 167: 645-663.

Ortíz-Castro, R., Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., López-Bucio, J. 2009. The role of microbial signals in plant growth and development. Plant Signaling and Behavior, 4: 701-712.

Ottman, Y., Byrne, D.H. 1988. Screening rootstocks of *Prunus* for relative salt tolerance. HortScience, 23: 375-378.

Souza, T. 2015. Handbook of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Cham, Springer.

Amelioration of salt stress by symbiosis with mycorrhizal fungi and growth promoting bacteria in apricot seedlings

Maedeh Afshari[1*], Bahram Baninasab[1], Mahdiyeh Gholami[1], Mehdi zarei[2]
[1]Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology
[2]Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University
[*]Corresponding Author: *maedeh.afshari92@gmail.com*

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi and growth-promoting bacteria are known to be significantly effective in plant stress tolerance. Aim of the study was to investigate the effect of mycorrhizal fungi and growth-stimulating bacteria on the improvement of salinity tolerance of apricot seedlings. The experiment design was 4×4 factorial experiment in a completely randomized design with four replications. The first factor was the inoculation with two micro-organisms (*Rhizophagus irregularies* and *Pseudomonas florescent*) and second factor was the level of NaCl concentrations (0, 25, 50, and 75 µmol). The results indicated that under salinity stress, Na concentration of root and shoot significantly increased. The use of biofertilizers significantly increased the root and shoot K concentrations compared to control (non-inoculated) plants. Salinity stress and biofertilizer application increased the activity of antioxidant enzymes (catalases, ascorbate peroxidase, guaciole peroxidase and superoxide dismutase) in apricot leaves. As concluding remarks, fungi and bacteria application reduced the oxidative damage caused by salinity in apricot, which was due to increase in the activity of leaf antioxidant enzymes.

Keywords: Salinity Stress, Mycorrhizal fungi, Growth-promoting bacteria