نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دوازدهم، شماره ۴۶، تابستان ۱۳۹۶ / صفحات: ۱۰۱-۹۳

تأثیر قارچ میکوریزای *Piriformospora indica* بر روی رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*)

کبری موسی بیگی [۱]، مهین توحیدی[۱]، علی اصغر حاتم نیا[۲]*، آرش بابایی[۳]، مهدی قبولی[۴]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور ایلام، ایران

[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایران

[۳]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ملایر، ایران

[۴]گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۸

چکیده

قارچ میکوریزای *Piriformospora indica* از طریق جذب آب و مواد معدنی باعث تحریک رشد و افزایش زیست توده گیاهان میزبان می‌شود. به‌منظور بررسی اثر قارچ میکوریزای *P. indica* بر روی رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه گشنیز، طرحی در قالب بلوک کامل تصادفی با تیمار گیاهان تلقیح شده با قارچ و گیاهان شاهد با ۱۵ تکرار در سال ۱۳۹۴ در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج نشان داد که طول اندام هوایی، طول ریشه و وزن خشک گیاه در گیاهان تلقیح شده با قارچ به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد قارچ میکوریزای *P. indica* سبب افزایش محتوای پرولین شده، به‌طوری‌که میزان پرولین در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز ۲/۰۹ برابر گیاهان شاهد بود. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که تلقیح گیاه با قارچ میکوریز سبب افزایش میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها نسبت به گیاه شاهد شد و این میزان افزایش تنها در کلروفیل b و کاروتنوئیدها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. به هر حال، نتایج نشان دادند که همزیستی میکوریزایی سبب افزایش رشد و بهبود خصوصیات فیزیولوژیک گیاه گشنیز گشت.

واژه‌های کلیدی: پرولین، قارچ میکوریزا، کلروفیل، کاروتنوئید، گشنیز، همزیستی

مقدمه

گیاه گشنیز متعلق به تیره جعفری یا چتریان (Apiaceae)، با نام علمی *Coriandrum sativum* L. و نام انگلیسی Coriander می‌باشد. با توجه به اینکه امروزه بشر با دخالت‌های غیرمتعارف خود صدمات بسیاری به جامعه گیاهان وارد کرده است، یافتن راهی برای مقابله با این معضلات می‌تواند کمک شایانی به محیط زیست وافزایش محصولات کشاورزی داشته باشد. یکی از این راهکارها مطالعات گسترده برروی همزیستی میکروارگانیسم‌ها با گیاهان می‌باشد. همزیستی در یک تعریف به معنای زندگی موجودات با هم در یک ارتباط نزدیک که در آن هر دو موجود بهره می‌برند. همزیستی گیاهان با میکروارگانیسم‌ها و سایر موجودات زنده موجب حفظ و پایداری گونه‌های گیاهی و حفظ جوامع گیاهی می‌گردد. تنوع قارچ‌های همزیست و روابط پیچیده بین جوامع

*نویسنده مسئول: hatamniya60@gmail.com

گیاهی با جوامع قارچی موضوع مطالعات گسترده ای بوده است. میکوریز یکی از سودمندترین همزیستی‌ها می‌باشد که در آن گیاه میزبان و قارچ‌های همزیست بطور متقابل بهره می‌برند. امروزه مشخص شده است که قارچ‌های میکوریزی به صورت مستقیم سبب بهبود تغذیه گیاهان از طریق جذب عناصر غذایی و همچنین افزایش جذب آب توسط گیاه و به‌صورت غیرمستقیم سبب کاهش تنش‌های زیستی (بیماری‌های گیاهی) و غیر زیستی (شوری، خشکی، فلزات سنگین و غیره) و افزایش رشد گیاه میزبان می‌شوند (Feng et al., 2002).

رابطه همزیستی شکل ویژه‌ای از زندگی است که در آن دو موجود زنده از گونه‌های مختلف در کنار هم و با تماس فیزیکی تقریباً طولانی زندگی می‌کنند. اندازه و پراکندگی جمعیت‌ها تحت تأثیر همزیستی قرار دارد. در هنگام تلقیح گیاه با میکروارگانیسم‌های مختلف که به آن همزیستی می‌گویند، گیاه به دلیل همزیستی با گونه‌های قارچی مثل قارچ‌های میکوریزی و ریزوسپور در مقابل ترکیبات سمی موجود در خاک و همچنین پاتوژن‌های مختلف محافظت می‌شود (Selosse et al., 2004).

تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که آلودگی میکوریزی برای رشد و فعالیت گیاهان مفید بوده و یکی از فواید آن افزایش حلالیت ترکیبات کم محلول فسفر و برخی عناصر کم مصرف خاک است. امروز همزیستی قارچ‌های میکوریزی به عنوان یکی از میکروارگانیسم‌های مفید دامنه‌ی فعالیت خود را در صنایع مختلف گسترش داده است. وابستگی میکوریزایی در بین گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است (Tuffen et al., 2002). همزیستی میکوریزایی یکی از روش‌های مهم جهت توسعه و تکمیل کشاورزی پایدار است (Alizadeh and Alizadeh, 2007).

Ghasemnezhad و Babaeizad (۲۰۱۱) ضمن بررسی تأثیر قارچ *P. indica* بر روی گیاه گنگر فرنگی به این نتیجه رسیدند که تلقیح قارچ سبب افزایش طول و وزن ریشه و همچنین افزایش تعداد و اندازه برگ‌ها می‌شود. Ghabouli و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تأثیر قارچ *P. indica* بر روی گیاه جو نشان دادند که تلقیح این گیاه با قارچ سبب بهبود شرایط فیزیولوژیک جو شده و همچنین باعث افزایش مقاومت گیاه جو به تنش شوری و خاکی می‌شود. Bagheri و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی قارچ *P. indica* بر روی گیاه برنج نشان دادند که گیاهان تلقیح شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد تحت شرایط تنش شوری دارای شرایط رشدی بهتری بودند. مطالعات نشان داد که تأثیر قارچ *P. indica* بر روی گیاه دارویی زردچوبه با عث افزایش خصوصیات مورفولوژیک گیاه تلقیح شده با قارچ نسبت به گیاه شاهد می‌شود (Bajaj et al., 2014).

از آنجا که که گیاه گشنیز یک گیاه خوراکی و دارویی مهم بوده و از طرف دیگر مطالعات خاصی روی همزیستی این گیاه صورت نگرفته است، بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر قارچ میکوریزای *P.indica* روی ویژگی‌های رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی گشنیز از جمله رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین و همچنین وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه گیاه گشنیز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه، تشخیص و تکثیر مایه تلقیح قارچ *P.indica*: جدایه قارچ مورد نظر از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه گردید (جدایه ابتدایی قارچ به صورت کشت خالص بر روی محیط غذایی از دانشگاه گیسن کشور آلمان تهیه شده بود). مقداری از قارچ توسط اسکالپل از سطح محیط کشت

جدا شده و با استفاده از رنگ‌آمیزی فوشین اجسام کروی و میسیلیوم‌های قارچ در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد. تولید مایه تلقیح قارچ برای آلوده ساختن ریشه گیاه، مستلزم وجود تعداد کافی اسپور قارچ است، لذا با تهیه تعداد کافی پتری‌دیش محتوی محیط کشت پیچیده (حاوی عناصر میکرو، ماکرو و نمک‌ها)، جدایه قارچ مذکور کشت داده شد و در دمای ۲۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور به مدت ۴ هفته نگهداری شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم جهت تولید اسپور، به منظور تهیه مایه تلقیح، مقدار ۳۰-۲۰ میلی‌لیتر محلول آب-توئین ۲۰ به هر پتری‌دیش افزوده شد و پس از جمع‌آوری اسپورهای قارچی موجود در هر پتری‌دیش توسط پاروی پلاستیکی، تعداد آنها با استفاده از لام نئوبار شمارش شد. به منظور جلوگیری از هر گونه آلودگی احتمالی تمامی وسایل، ظروف، محلول‌ها و محیط کشت پیش از استفاده ضدعفونی شدند و همچنین کلیه مراحل ذکر شده زیر هود لامینار و در کنار شعله انجام گرفت.

تکثیر قارچ بر روی محیط کشت مصنوعی: در این مطالعه جهت رشد و تکثیر این قارچ از محیط کشت پیچیده که حاوی عناصر پرمصرف و کم مصرف برای رشد قارچ می‌باشد، استفاده شد (Ghabooli et al., 2013).

تهیه بذور و مراحل آماده سازی آنها: بذر گیاه گشنیز از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. نمونه‌های مورد بررسی ابتدا پاک شده و از وجود هر گونه آلودگی(بذور و مواد دیگر) عاری گردیدند. بذرهای تمیز شده تا انجام مراحل بعدی در پاکت‌های پلاستیکی تمیز و خشک در مکانی خشک نگه‌داری شدند. در این پژوهش، از خاک طبیعی که از گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر تهیه شده بود استفاده شد. برای جلوگیری از اثرات ناخواسته سایر میکروارگانیسم‌های موجود در خاک، خاک به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو استریل گردید.

کاشت بذرها و رشد گیاه: به منظور انجام این پژوهش، آزمایش گلخانه‌ای در گلدان‌های ۵ کیلوگرمی (۳۰ عدد) با دو تیمار (شاهد و تلقیح شده) و ۱۵ تکرار و با استفاده از خاک طبیعی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه ملایر انجام شد. در انتخاب بذور جوانه‌دار شده و تقسیم آنها باید نهایت دقت اعمال شود تا بذوری با میزان رشد یکسان انتخاب شده و به صورت تصادفی بین گروه تیمار (تلقیح با قارچ) و شاهد (عدم تلقیح با قارچ) تقسیم شوند، بدین منظور تعداد بیشتری بذر استفاده گردید و سپس بذوری که ریشه چه آنها حدود ۲-۱ سانتی متر رشد کرده بود، انتخاب گردیدند. هدف از این کار کاهش اثر بذر (قدرت جوانه‌زنی و قدرت استقرار) بر نتایج نهایی بود. بذور به دو گروه تقسیم شدند، به نیمی از بذور انتخابی مقدار کافی مایه تلقیح قارچ اضافه گردید، بطوریکه سطح ریشه چه گیاهان را پوشاند، سپس ظروف محتوی بذور تلقیح شده بر روی شیکر با دور آرام (۸۰-۷۰ rpm) به مدت ۲-۱ ساعت قرار داده شدند تا امکان اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه‌چه فراهم گردد. سپس گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ در داخل هر گلدان کاشته شدند. نیمی دیگر هم به عنوان شاهد به مدت ۲-۱ ساعت درون محلول آب- تویین بدون اسپور بر روی شیکر با همان دور قرار داده شده و سپس ۱۰ گیاه درون هر گلدان کاشته شدند.گلدان‌ها پس از کشت، به گلخانه منتقل شدند و طی دوره رشد با آب معمولی و محلول جانسون آبیاری شدند.

عصاره‌گیری: عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد. نمونه گیاهی(کل گیاه) تمیز و توسط آسیاب معمولی آشپزخانه آسیاب شده و در ظرفی در دار و

تیره رنگ با ۱۰ برابر حجم متانول و اتانول مخلوط گردید (به طور مثال ۱۰گرم نمونه با ۲۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول و اتانول). عصاره‌گیری به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر با دور ۲۰۰-۱۵۰ دور در دقیقه انجام شد. سپس مخلوط نمونه و متانول و یا اتانول از صافی کاغذی معمولی آزمایشگاه عبور داده شد و باقیمانده‌ی مواد موجود در لابه‌لای مواد گیاهی، توسط متانول و اتانول تازه و به کمک سونیکاتور حمام آبی استخراج گردید. عصاره‌های متانولی و اتانولی در دمای ۴۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه تبخیر کننده گردان خشک شده و در ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (بسته به مقدار نمونه و میزان حلالیت آن در آب مقطر) سوسپانسیون یکنواختی از آن‌ها تهیه گردید.

تعیین وزن خشک گیاه گشنیز: ابتدا وزن تر در مرحله گلدهی اندازه گیری شد، سپس هر کدوم از آن نمونه‌ها در دستگاه آون با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. سپس وزن خشک نمونه‌های شاهد و تلقیح شده با استفاده از ترازوی دیجیتالی اندازه گیری شدند.

اندازه گیری ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه گشنیز: برای اندازه گیری اندام هوایی و طول ریشه نمونه‌های شاهد با تلقیح شده، هر کدام از نمونه‌های شاهد و تلقیح شده با خط کش اندازه گیری شدند. طول اندام هوایی از یقه تا قسمت انتهای اندام هوایی و طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه در نظر گرفته شد و مقادیر بر اساس سانتی‌متر گزارش شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت. بدین‌ترتیب که ۰/۲ گرم بافت تر درهاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد سائیده و بر روی کاغذ واتمن شماره یک صاف گردید. سپس حجم عصاره به دست آمده با استون به ۱۵ میلی لیتر رسید. شدت جذب نوری عصاره در طول موج‌های۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری خوانده شد. برای تنظیم دستگاه از استون۸۰٪ به عنوان شاهد استفاده شد. غلظت این رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

Chla= (12.25 A663.2-2.79 A646.8)
Chlb= (21.21 A646.8-5.1 A663.2)
ChlT= chla+chlb
Car= [1000 A470-1.8 chla-85.02 chlb] /198

در این فرمول chla، chlb، chlT و car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) می‌باشد (Lichtenthaler, 1987).

سنجش پرولین: برای اندازه‌گیری محتوای پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. بر اساس این روش ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تر برگ توزین شده و با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد درهاون ساییده شد و سپس مخلوط حاصله توسط کاغذ صافی واتمن صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت یک ساعت داخل بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا رنگ آجری نمایان شود. سپس لوله‌ها داخل آب یخ قرار داده شده و به هر کدام از لوله‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید. بعد از بهم زدن محتویات لوله‌ها، دو فاز تشکیل شد و سپس از فاز رویی توسط پیپت پاستور نمونه‌برداری گردید. میزان جذب پرولین با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج nm ۵۲۰ اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آنالیز همه داده‌های مربوط به سنجش‌های انجام شده با نرم‌افزار SAS (۹/۳) و در سطح ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

تاثیر قارچ P.indica بر ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه گیاه گشنیز: نتایج مربوط به ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه گیاه گشنیز در جدول ۱ نشان داده شده است. اختلاف معنی داری در سطح آماری ۵ درصد (p<۰/۰۵) در ارتفاع اندام هوایی بین گیاه گشنیز شاهد با گیاه تلقیح شده با قارچ مشاهده شد، به طوری که ارتفاع گیاه گشنیز تلقیح شده با قارچ ۱/۳۱ برابر گیاه شاهد می‌باشد. نتایج نشان داد که طول ریشه گیاه گشنیز نیز به طور معنی داری تحت تاثیر قارچ میکوریزای *P.indica* قرار گرفته و میزان آن در گیاه گشنیز تلقیح شده ۱/۴۳ برابر افزایش یافته است.

نتایج حاصل از این آزمایشات نشان داد که تلقیح قارچ میکوریزای *P.indica* تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاه داشته است، به‌طوری که وزن خشک گیاه گشنیز تلقیح شده با قارچ ۱/۶۳ برابر گیاه شاهد می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه و وزن خشک در دو گروه گیاهان گشنیز شاهد و تلقیح شده با قارچ میکوریزای *P. indica*. داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

	ارتفاع اندام هوایی(سانتی‌متر)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک (گرم)
گیاه شاهد	۲۸/۹ ±۱/۶۴ b	۷/۰۷ ±۰/۴۳ b	۰/۱۵۶ ±۰/۰۰۹ b
گیاه تلقیح شده	۳۷/۸ ±۱/۸۹ a	۱۰/۱۱ ±۰/۸۴ a	۰/۲۵۴ ±۰/۰۱۳ a

*در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

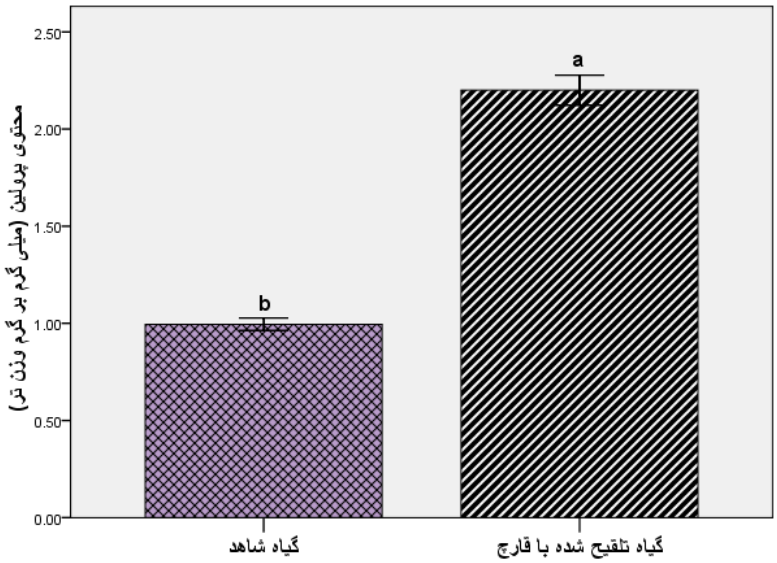
تاثیر قارچ *P.indica* بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه گشنیز: نتایج مربوط به رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تلقیح گیاه گشنیز با قارچ میکوریزای *P. indica* سبب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تلقیح گیاه گشنیز با قارچ میکوریزای *P. indica* سبب افزایش میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها نسبت به گیاه شاهد شده است (به ترتیب ۱/۱۷، ۱/۵۱ و ۱/۲۵ برابر)، نتایج نشان داد که این میزان افزایش در کلروفیل b و کاروتنوئیدها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار ولی در کلروفیل a معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۲).

تاثیر قارچ *P.indica* بر میزان محتوای پرولین گیاه گشنیز: بر اساس نتایج به‌دست آمده از میزان محتوای پرولین گیاه گشنیز، اختلاف معنی‌دار بین گیاه گشنیز شاهد با گیاه گشنیز تلقیح شده با قارچ میکوریز *P. indica* در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده شد (شکل ۱). نتایج نشان دادند که میزان محتوای پرولین در گیاه گشنیز شاهد برابر با ۱/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر می‌باشد که این میزان در گیاه گشنیز تلقیح شده با قارچ میکوریز *P. indica* افزایش یافته و برابر ۲/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر می‌باشد. بنابراین، میزان محتوای پرولین گیاه تحت تأثیر قارچ افزایش معنی‌داری را نشان داده و میزان آن ۲/۱۸ برابر افزایش یافته است.

جدول ۲: میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در دو گروه گیاهان گشنیز شاهد و تلقیح شده با قارچ میکوریزای *P. indica*. داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

	کلروفیل a (میلی‌گرم /گرم ماده تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم /گرم ماده تر)	کاروتنوئید (میلی‌گرم /گرم ماده تر)
گیاه شاهد	۱/۹۷ ±۰/۰۴ a	۰/۹۲ ±۰/۰۷ b	۲/۲۷ ±۰/۰۹ b
گیاه تلقیح شده	۲/۳۲ ±۰/۱۵ a	۱/۳۹ ±۰/۱۸ a	۲/۸۳ ±۰/۱۲ a

*در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.



شکل ۱: میزان پرولین در دو گروه گیاهان گشنیز شاهد و تلقیح شده با قارچ میکوریزای *P. indica*. ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

بحث

با توجه به این نتایج می‌توان گفت که این قارچ با توانایی همزیستی با گشنیز و جذب عناصر غذایی مفید و عناصر کم مصرف مقدار وزن خشک گیاه گشنیز را افزایش داده است. همچنین تأثیر مثبت این قارچ بر روی زیست توده گیاه گشنیز به وضوح نشان داده شد. Rai و Varma (۲۰۰۵) گزارش دادند که قارچ *P. indica* باعث افزایش در رشد و عملکرد گیاه *Adhatoda vasica* می‌شود. محققان در گیاه کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) نشان دادند که قارچ *P. indica* از طریق همزیستی با ریشه گیاهان باعث افزایش معنی‌داری در رشد و عملکرد آنها می‌شود (Ghasemnezhad and Babaeizad, 2011). همچنین Varma و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که طول ریشه و ساقه، وزن، اندازه سطح برگ و تولید بذر در گیاهان دارویی *Withania somnifera* و *Spilanthes calva* در حضور *P. indica* افزایش می‌یابد (Varma et al., 2001). قارچ‌های میکوریزی قادر به برقراری همزیستی مسالمت آمیزی با ریشه اغلب گیاهان هستند. اغلب گیاهان شناسایی شده بر روی کره زمین قادر به برقراری همزیستی با این قارچ‌ها هستند که البته این همزیستی بر اساس ریشه گیاه میزبان و

ویژگی‌های مورفولوژیک قارچ همزیست متفاوت است (Smith and Smith, 1997).

در این پژوهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر قارچ میکوریزای *P. indica* افزایش یافته و این میزان افزایش در کلروفیل b و کاروتنوئیدها معنی‌دار می‌باشد. طبق گزارشات، تلقیح قارچ *P.indica* با گیاه دارویی کنگر فرنگی نشان داد که افزایش پهنای برگ، در واقع منجر به افزایش میزان کلروفیل و در نهایت فتوسنتز برگ شده و از این طریق علاوه بر این که به طور مستقیم سبب افزایش عملکرد اندام رویشی می‌شود، همچنین با افزایش فتوسنتز، افزایش مواد حد واسط را در بر داشته که بیشتر آنها یا به صورت مستقیم در گروه مواد ثانویه قرار دارند و یا اینکه در نهایت به متابولیت‌های ثانویه تبدیل می‌شوند (Ghasemnezhad and Babaeizad, 2011). افزایش در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط تلقیح با قارچ میکوریزا، پیش از این توسط Moraes و همکاران (۲۰۰۴) و همچنین Krishna و همکاران (۲۰۰۵) نیز مورد تأیید قرار گرفته بود. رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان برای جذب نور و عملکرد محصول اهمیت دارند، افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌ها در اثر همزیستی میکوریزی به دلیل افزایش جذب فسفر از خاک توسط این قارچ‌ها می‌باشد. افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان مختلف تحت تاثیر همزیستی با قارچ‌های میکوریزی گزارش شده است (Farooq et al., 2009).

پرولین یکی از پایدارترین اسیدهای آمینه است که در برابر هیدرولیز اسیدی اکسیداتیو مقاومت می‌کند و کمترین اثر بازدارندگی را در رشد سلول‌ها در بین تمام اسیدهای آمینه دارد (Kumar et al., 2009). میزان پرولین در گروه گیاهان تلقیح شده با قارچ *P.indica* نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری را از نظر آماری نشان داد که نشان دهنده تأثیر قارچ مورد نظر بر افزایش میزان پرولین گیاه گشنیز می‌باشد و این نشان می‌دهد که تلقیح گیاه گشنیز با قارچ *P. indica* اثر افزایشی و مثبتی بر رشد و عملکرد گیاهان دارد. پژوهش‌ها نشان داد که قارچ *P.indica* علاوه بر تأثیر مستقیم در رشد گیاه از طریق تحریک رشد و تحریک سیستم دفاعی مقاومت گیاه را در مقابل بیماری‌ها و خشکی افزایش می‌دهد (Deshmukh, et al., 2006). با توجه به اینکه افزایش پرولین در گیاهان در هنگام تنش نوعی مکانیسم دفاعی است و تجمع پرولین به گیاه کمک می کند که در دوره کوتاهی بعد از اعمال تنش خشکی زنده بماند و گیاه بتواند بعد از رفع تنش رشد خود را بازیابی کند، بنابراین اثر مثبت بر عملکرد و رشد گیاه خواهد داشت (Kuznetsov and Shevyakova, 1997)

نتیجه‌گیری نهایی

تأثیر این قارچ بر روی اندازه طول اندام هوایی، طول ریشه و وزن خشک گیاه گشنیز تلقیح شده با قارچ نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد که می‌توان نتیجه گرفت قارچ میکوریزی مورد نظر بر زیست توده گیاه گشنیز یک اثر افزایشی معنی‌دار دارد. تأثیر این قارچ میکوریزا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل b، کاروتنوئید) گیاه گشنیز، در گروه تلقیح شده با قارچ نسبت به گروه شاهد قابل توجه بود. همچنین تأثیر قارچ مورد نظر بر میزان پرولین گیاه گشنیز در گروه آزمایش نسبت به شاهد اختلاف به صورت معنی دار بود، که نشان دهنده مقاومت بیشتر گشنیز نسبت به تنش خشکی بعد از تلقیح با قارچ *P. indica* می‌باشد. با توجه به نتایج آزمایش‌ها و سنجش‌های انجام شده، تلقیح قارچ میکوریزی *Piriformospora indica* با گیاه گشنیز نشان داد که این گیاه قادر به برقراری رابطه همزیستی با قارچ نامبرده می‌باشد.

References

Alizadeh, O. and Alizadeh, A. (2007). Effects of mycorrhiza in different soil moisture condition on absorption of nutrition elements in corn. Journal of Research in Agricultural Science. 3(1): 101-108.

Bagheri, A.A., Saadatmand, S., Niknam, V., Nejadsatari, T. and Babaeizad, V. (2013). Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, 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.

Bajaj, R., Agarwal, A., Rajpal, K., Asthana, Sh., Prasad, R., Kharkwal, A., Kumar, R., Sherameti, I., Oelmüller, R. and Varma, A. (2014). Co-cultivation of Curcuma longa with *Piriformospora indica* enhances the yield and active ingredients. American Journal of Current Microbiology. 2(1): 1-12.

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.

Deshmukh, S., Hückelhoven, R., Schäfer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F. and Kogel, K.H. (2006). The root endophytic fungus Piriformospora indica requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. Proceedings of the National Academy of Sciences. 103(49): 18450-18457.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for sustainable development. 29(1): 185-212.

Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.L., Tian, C.Y., Tang, C. and Rengel, Z. (2002). Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza. 12(4): 185-90.

Ghabooli, M., Khatabi, B., Ahmadi, F.S., Sepehri, M., Mirzaei, M., Amirkhani, A., Jorrín-Novo, J.V. and Salekdeh, G.H. (2013). Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. Journal of proteomics. 94: 289-301.

Ghabouli, M., Shahriary, F., Sepehrin, M., Marashi, H. and Hosseini Salekdeh, G. (2011). An evaluation of the impact of the endophyte fungus *Piriformospora indica* on some traits of barley (*Hordeum vulgare* L.) in drought stress. Journal of Agroecology. 3(3): 328-336.

Ghasemnezhad, A. and Babaeizad, V. (2011). The influence of piri fungus (*Priformospora indica*) on vegetative growth and the content of caffeic acid of leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.) plant. Journal of Plant Production Research. 18(1): 133-140.

Krishna, H., Singh, S.K., Sharma, R.R., Khawale, R.N., Grover, M. and Patel, V.B. (2005). Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during ex vitro acclimatization. Scientia Horticulturae. 106(4): 554-567.

Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N. and Johri, A.K. (2009). Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiology. 155(3): 780-790.

Kuznetsov, V.V. and Shevyakova, N.I. (1997). Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. Physiologia Plantarum. 100(2): 320-326.

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148: 350-382.

Moraes, R.M., De Andrade, Z., Bedir, E., Dayan, F.E., Lata, H., Khan, I. and Pereira, A.M. (2004). Arbuscular mycorrhiza improves acclimatization and increases lignan content of micropropagated mayapple (*Podophyllum peltatum* L.). Plant Science. 166(1): 23-29.

Rai, M. and Varma, A. (2005). Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological

potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica* Nees. Electronic Journal of Biotechnology. 8: 1-6.

Selosse, M.A., Baudoin, E. and Vandenkoornhuyse, P. (2004). Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. Comptes Rendus Biologies. 327: 639-648.

Smith, F.A. and Smith, S.E. (1997). Structural diversity in (vesicular)–arbuscular mycorrhizal symbioses. New Phytologist. 137: 373-388.

Tuffen, F., Eason, W.R. and Scullion, J. (2002). The effect of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of and ^{32}P transfer between *Allium porrum* plants. Soil Biology and Biochemistry. 34(7): 1027-1036.

Varma, A., Singh, A., Sahay, N.S., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Thakran, S., Deka, D., Bharti, K. and Hurek, T. (2001). Piriformospora indica: an axenically culturable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In *Fungal Associations* (pp. 125-150). Springer Berlin Heidelberg.