نقش قارچ اندوفیت *Pirifomospora indica* بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه توت‌فرنگی تحت شرایط کشت هیدروپونیک

حمیدرضا رحمانی[۱]، ابراهیم محمدی گل‌تپه[۱*] و ناصر صفایی[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۳۱)

چکیده

اندوفیت‌های میکروبی که از مهمترین میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیک و اکولوژیک در گیاهان میزبان خود، عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش می‌دهند. قارچ *Pirifomospora indica* از اعضای راسته Sebacinales می‌باشد که باعث افزایش بیومس گیاه و مقاومت آن به تنش‌های زنده و غیرزنده می‌گردد. در تحقیق حاضر، تأثیر غلظت‌های صفر (شاهد)، ۸۰، ۱۶۰، ۲۵۰ و ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر، قارچ اندوفیت *P. indica* بر ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل و شاخه‌زایی گیاه توت‌فرنگی در کشت هیدروپونیک در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۲۸ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. قارچ *P. indica* در غلظت‌های مختلف به صورت روش تزریق پای بوته به گیاهان توت‌فرنگی تلقیح شد. دو ماه پس از مایه‌زنی قارچ، ارتفاع بوته با دستگاه کولیس دیجیتال و شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه SPAD اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان شاخص کلروفیل، شاخه‌زایی و ارتفاع بوته مربوط به تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر به ترتیب با ۱۵، ۳۰ و ۲۴/۵ درصد افزایش نسبت به شاهد می‌باشد. همچنین، بین تیمارهای ۸۰، ۱۶۰ و ۲۵۰ اسپور در میلی‌لیتر در مورد صفات مذکور اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در حالی که تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) داشت. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های زیاد قارچ *P. indica* می‌تواند باعث افزایش صفات مذکور شود و در نتیجه تأثیر مثبت بر رشد و عملکرد گیاه توت‌فرنگی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: *Pirifomospora indica*، توت‌فرنگی، هیدروپونیک، اندوفیت، شاخص کلروفیل، ارتفاع بوته

مقدمه

امروزه در جهان بیش از نیمی از محصولات گلخانه‌ای به روش هیدروپونیک تولید می‌شوند. سیستم کشت گلخانه‌ای بدون خاک (هیدروپونیک) امکان کنترل هر چه بهتر تغذیه گیاهان را فراهم آورده و تحول شگرفی در عرضه محصولات گلخانه‌ای، از جمله توت‌فرنگی ایجاد کرده است (۸). هیدروپونیک به پرورش گیاهان در محیط بدون خاک اطلاق شده که در این روش معمولاً موادی برای حفظ و نگهداری سیستم ریشه‌ای به‌کار می‌رود و تغذیه گیاه از طریق محلول غذایی که به محیط اضافه می‌شود صورت می‌گیرد (۱۱ و ۱۲). توت‌فرنگی گیاهی علفی چندساله، متعلق به خانواده گل سرخیان، با نام علمی *ananasae Fragaria*، یکی از ریزمیوه‌های مناطق معتدل است، که به دلیل غنی بودن از انواع ویتامین‌ها و عناصر معدنی طرفداران زیادی دارد (۱۳). توسعه کشت توت‌فرنگی در اکثر نقاط جهان مورد توجه قرار دارد. در سال ۲۰۱۱، سطح زیر کشت این محصول در جهان حدود ۲۴۲۳۷۱ هکتار با میزان تولید ۴۳۰۸۱۷۹ تن بوده

۱. گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: emgoltapeh@modares.ac.ir

است. بر اساس گزارش FAO، میزان تولید توت‌فرنگی در ایران رقمی برابر ۲۹۵۶۶ تن است که بخش اعظم آن در استان کردستان تولید می‌شود (۱۶). توت‌فرنگی از میوه‌هایی است که جنبه تازه بودن آن بسیار مهم است. بنابراین، کشاورزان برای ماندگاری بیشتر و ایجاد جذابیت برای خریدار، قارچ‌کش‌های قوی به آن می‌زنند که اگر باقیمانده این سموم در زمان استفاده بیشتر از حد مجاز باشد، باعث ایجاد مسمومیت‌های مزمن در افراد خواهد شد. علاوه بر این قارچ‌کش‌های حفاظتی، سموم دیگری در مراحل کاشت تا برداشت علیه آفات و بیماری‌های توت‌فرنگی استفاده می‌شود که به دلیل استفاده بی‌رویه از آنها، این سموم وارد چرخه غذایی مصرف‌کنندگان شده و باعث امراض گوناگونی در طولانی مدت می‌شوند. راه‌حل این مشکل، کشت توت‌فرنگی به صورت اُرگانیک می‌باشد که در آن از هیچ ماده شیمیایی استفاده نمی‌شود (۱). روش‌های بیولوژیک مبتنی بر استفاده از پتانسیل موجودات مفید خاک‌زی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، نقش مؤثری در افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های زنده و غیرزنده بر عهده دارند. یکی از مهمترین روابط همزیستی در عالم حیات که طی دوره تکامل به‌وجود آمده است، همزیستی میکوریزا می‌باشد که در آن، ریشه گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده فعالیت می‌کنند و از یکدیگر سود می‌برند. همزیستی قارچ‌های اندوفیت با گیاهان باعث بهبود رشد، تحمل به تنش‌های محیطی (خشکی، شوری، دمایی)، القاء مقاومت سیستمیک، فراهم کردن مواد غذایی و مقاومت به عوامل بیماری‌زا در گیاه همزیست می‌گردد (۲۳). یکی از مهمترین قارچ‌های اندوفیت، قارچ *Pirifomospora indica* می‌باشد که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران (۴۳) از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی‌پسند کهور (*Prosopis juliflora*) و کنار (*Zyzyphus nummulara*) از صحرای تار (Thar) ایالت راجستان (Rajasthan) کشور هندوستان جداسازی شد. این قارچ براساس آنالیز توالی srRNA ۱۸ در شاخه Basidiomycota، رده Hymenomyces، راسته Sebacinales، خانواده Sebacinaceae، جنس Pirifomospora، گونه *Pirifomospora indica* قرار می‌گیرد (۲۰، ۳۰، ۳۳، ۴۱ و ۴۵).

P. indica دارای دامنه وسیعی از گیاهان میزبان است که با کلونیزاسیون ریشه آنها سبب تحریک شدید رشد میزبان‌های خود می‌گردد. این قارچ به صورت داخل سلولی و بین سلولی رشد کرده و تولید کلامیدوسپورهای گلابی شکل می‌کند که کورتکس ریشه را کلونیزه کرده، اما قادر به حمله کردن به قسمت‌های داخلی بافت‌های ریشه نمی‌باشد (۱۴). قارچ *P. indica* به راحتی روی بسترهای مختلف کشت می‌شود (۴۳) و رشد و تولید بیومس کل گیاهان مختلف از جمله تک‌لپه‌ها (*Zea mays, Oryza sativa, Triticum sativum, Sorghum vulgare*)، دولپه‌ها (*Glycine max, Solanum melongena, Artemissia annua, Nicotiana tabacum, Cicer arietinum*)، درختان و گیاهان دارویی از جمله Bacopa، Monniera و *Artemesia annua* و چندین محصول اقتصادی مهم را به طور فوق‌العاده‌ای بهبود می‌بخشد (۴۰). اثرهای افزایش رشد این قارچ در اُرکیده نیز مشاهده شده است (۹ و ۱۰) که با کلونیزه کردن اُرکیده باعث افزایش رشد و قوه نامیه بذرهای آن می‌گردد (۴۱). عملکرد بیولوژیک قارچ *P. indica* روی گندم، تحت شرایط مزرعه‌ای و گلخانه‌ای، بررسی شده که در آن ریشه گندم پاییزه با این قارچ تلقیح شد. در آزمایش‌های مزرعه‌ای، *P. indica* با کلونیزه کردن ریشه گندم در بسترهای فقیر، باعث افزایش بیومس شد (۳۷). قارچ با جذب بیشتر مواد غذایی برای گیاه، تحمل آن را تحت شرایط تنش آبی، دما و شوری افزایش داده و همچنین با دادن مقاومت سیستمیک به گیاه، آن را در مقابل عوامل بیماری‌زا، حشرات و فلزات سنگین مقاوم می‌کند (۳۵). قارچ *P. indica* با کلونیزه کردن و افزایش رشد ریشه بسیاری از گیاهان، عملکرد آنها را افزایش می‌دهد و رشد محصولات را در خاک‌های فقیر، با کمتر کردن استفاده از آفت-کش‌ها و کودهای شیمیایی، بهبود می‌بخشد (۲۹ و ۴۰).

در مطالعه‌ای، اثر تلقیح قارچ *P. indica* بر بعضی از گیاهان متعلق به خانواده شب‌بو شامل کلم (*Brassica oleracea* L.)، اسفناج (*Spinacia oleracea*) و خردل (*Brassica juncea*) مورد بررسی قرار گرفت. قارچ باعث افزایش رشد و

عملکرد این گیاهان، در مقایسه با گیاهان شاهد، گردید. نتیجه این تحقیق نشان داد که بر خلاف قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار که قادر به ایجاد همزیستی با گیاهان خانواده شب‌بو نمی‌باشند، قارچ *P. indica* نه تنها واجد این توانایی است، بلکه سبب رشد اندام‌های هوایی و حجم ریشه و همچنین گل‌دهی و میوه‌دهی زود هنگام اعضای این خانواده نیز شد (۲۲ و ۲۴).

در یک بررسی، اثر چهار گونه قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus arenarium, Funneliformis caledonius, F. mosseae*, and *Rhizophagus irregularis*) و قارچ اندوفیت *P. indica* روی چهار رقم توت‌فرنگی (Albion, Charlotte, Mara des Bois, and Seascape) در شرایط شوری (0-200 میلی مولار NaCl) مورد بررسی قرار گرفت. این ارقام، پاسخ‌های متفاوتی به مایه‌زنی قارچ در شرایط شوری نشان دادند. *R. irregularis* علائم تنش شوری را در همه ارقام کاهش می‌دهد و کیفیت میوه را یک درجه بالاتر از سایر میکوریزا و قارچ *P. indica* می‌رساند. تلقیح قارچ‌ها به همه ارقام به طور معنی‌داری باعث افزایش وزن‌تر و خشک و مقدار آب ساقه می‌گردد، بجز در رقمMara des Bois که پاسخ رشدی آن نسبت به تمام گونه‌های AMF و *P. indica* منفی می‌باشد. همچنین، همه قارچ‌ها از نظر تولید بیومس میوه اثر معنی‌داری بر ارقام Seascape ، Charloot و Albion دارند؛ اما اثری بر رقمMara des Bois ندارند (۳۹). در تحقیقی که توسط سینگ و همکاران (۳۷) انجام گرفت، گیاهان چریش (*Azadirachta indica*) در کشت گلدانی برای مدت ۱۲ ماه با قارچ میکوریز آربوسکولار نظیر *Glomus mossae*، *Scutellospora gilmorei* و قارچ اندوفیت *P. indica* تلقیح شدند. گیاهانی که با *P. indica* تلقیح شده بودند، در مقایسه با دو قارچ دیگر، رشد بهتری از خود نشان دادند. مطالعه بیش از چند سال نشان می‌دهد که *P. indica* ریشه یکی از پرمصرف‌ترین سبزی‌ها (گوجه‌فرنگی) را کلونیزه کرده و در نتیجه میزان بیومس برگ آن را تا ۲۰٪ افزایش می‌دهد. از همه مهمتر این است که قارچ *P. indica* میزان وزن تر و خشک میوه گوجه‌فرنگی را به ترتیب ۱۰۰٪ و ۲۰٪ تحت شرایط کشت هیدروپونیک افزایش می‌دهد (۱۷). با توجه به افزایش جمعیت و حرکت به سمت استفاده از محصولات اُرگانیک، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ اندوفیت *Pirifomospora indica* بر صفات فیزیولوژیک ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل و شاخه‌زایی و رشد گیاه توت‌فرنگی تحت شرایط کشت هیدروپونیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *P. indica* بر صفات فیزیولوژیک گیاه توت‌فرنگی تحت شرایط کشت هیدروپونیک، در سال زراعی ۱۳۹۲ آزمایشی گلخانه‌ای به صورت طرح کاملاً تصادفی در ۲۸ تکرار انجام شد. این تحقیق در گلخانه توت‌فرنگی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، واقع در کیلومتر ۱۶ تهران-کرج با مختصات جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۴ دقیقه عرض شمالی، ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۳۵۲ متر از سطح دریا اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل غلظت‌های صفر (شاهد)، ۸۰، ۱۶۰، ۲۵۰ و ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر قارچ *P. indica* بودند.

کشت و نگهداری قارچ

قارچ مورد استفاده در تحقیق حاضر از کلکسیون قارچ‌شناسی گروه بیماری‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهیه شد. قارچ اندوفیت ریشه روی محیط جامد کیفر (Kafer medium) (7.0 mM $NaNO_3$, 7.0 mM KCl, 2.1 mM $MgSO_4$, 9.2 mM KH_2PO_4, 0.77 mM $ZnSO_4$, 0.18 mM H_3BO_3, 0.02 mM $MnSO_4$, 0.007 mM $CoCl_2$, 0.0065 mM $CuSO_4$, 0.02 mM $FeSO_4$, 0.02 mM EDTA, 0.001 mM ammonium molybdate, 0.003 mM thiamine, 0.005 mM glycine, 0.002 mM nicotinic acid, 0.0004 mM pyridoxine, 110 mM glucose, 2 g/L peptone, 1 g/L yeast extract, 1 g/L casein hydrolysate, 1% w/v agar, pH 6.5) کشت شدند (۲۱). 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 کیفر، جدایه قارچ مذکور

کشت داده شد و در دمای ۲۴ درجه سلسیوس درون انکوباتور به مدت چهار هفته نگهداری شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم جهت تولید اسپور، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر محلول آب - توئین ۲۰٪ به هر پتری‌دیش افزوده شد و پس از جمع‌آوری اسپورهای قارچ، تعداد آنها با استفاده از لام نئوبار (Haemacytometer lame) ۱۰۵ اسپور در میلی‌لیتر شمارش و تعیین شد (۲۹ و ۴۳).

تعیین دمای بهینه برای رشد قارچ اندوفیت

پس از تهیه محیط کشت کیفر، قطعه‌ای از قارچ در مرکز تشک ۹ سانتی‌متری کشت گردید. تشک‌ها پس از تلقیح تحت دماهای مختلف (۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس) نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۲ – ۱۰ روز، نتایج مورد بررسی قرار گرفت و میزان رشد پرگنه قارچ با خط‌کش اندازه‌گیری و ثبت گردید (۱۹، ۲۶، ۲۷، ۳۰، ۳۴، ۳۸، ۴۳ و ۴۴).

رنگ‌آمیزی ریشه‌ها جهت مشاهده ساختارهای قارچ

اولین بار، گردمان و نیکلسون (۱۸) روشی را برای رنگ‌آمیزی ریشه‌های آلوده به قارچ شبه‌میکوریز پیشنهاد کردند. مطابق این روش، ریشه‌ها چند دقیقه در محلول لاکتوفنل و آبی پنبه جوشانده شده و سپس با محلول لاکتوفنل، تمیز و شفاف شدند. در حالی که فیلیپ و هایمن (۳۱) جوشاندن ریشه‌ها را در محلول پتاس به منظور شفاف کردن بافت ریشه در گیاهان ریشه سیاه یا گیاهانی که ریشه ضخیم دارند و سپس رنگ‌آمیزی آنها در محلول لاکتوفنل تریپان بلو را به عنوان روش مؤثری جهت رؤیت اندام‌های قارچ در بافت ریشه پیشنهاد دادند، که در تحقیق حاضر از این روش برای رنگ‌آمیزی ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* استفاده شد.

کشت گیاه و اعمال تیمارها

برای این پژوهش، ۱۴۰ نهال توت‌فرنگی از گلخانه توت‌فرنگی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهیه گردید و سپس در۱۴۰ گلدان به قطر ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر در بستر پرلیت و کوکوپیت کشت داده شد و با محلول‌های غذایی مخصوص گیاه توت‌فرنگی آبیاری گردید (جدول ۱). در مرحله بعد، دو هفته پس از استقرار ریشه‌ها، تلقیح غلظت‌های مختلف (۸۰، ۱۶۰، ۲۵۰ و ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر) قارچ *P. indica* به پای ریشه گیاه با استفاده از سرنگ انسولین استریل انجام گردید (۴۳). شرایط دمایی و رطوبتی مناسب رشد قارچ در گلخانه توت‌فرنگی فراهم گردید و حدوداً دو تا سه هفته یکبار، گیاهان مورد آزمایش هرس گردیدند (جهت حذف شاخه‌های پیر و مزاحم و آفت زده و ایجاد تعادل بین شاخساره و ریشه) و با محلول‌های غذایی در هر روز سه مرتبه آبیاری شدند.

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

پس از گذشت ۹ هفته از اعمال تیمارهای قارچی، ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل و شاخه‌زایی گیاهان شاهد و تلقیح شده با قارچ اندازه‌گیری و ثبت گردید. برای صفت ارتفاع بوته، طول بلندترین بخش هوایی در بوته از محل مریستم انتهایی تا محل طوقه با استفاده از دستگاه کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت شد. شاخص کلروفیل برگ با دستگاه SPAD (کلروفیل‌متر) مدل ۵۰۲–Minolta برای تمام گلدان‌ها اندازه‌گیری شد. نحوه کار کلروفیل‌متر بدین ترتیب بود که در ابتدا پس از روشن کردن دستگاه، یک بار، بدون قرار دادن برگ در محفظه برگ، قرائت گردید تا دستگاه واسنجی شود و سپس کار قرائت در سه نقطه از هر برگ انجام و سپس میانگین سه نقطه مشخص و یادداشت شد (۲۵). اطلاعات جمع‌آوری شده به نرم افزار Excel منتقل شد و بعد با استفاده از نرم افزار SAS ۹.۱ تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

تعیین دمای بهینه برای رشد قارچ *P. indica*

نتایج حاصل از بررسی میزان رشد پرگنه *P. indica* پس از

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی محلول غذایی و میزان آنها در مراحل مختلف رشدی

ترکیب شیمیایی محلول غذایی	مرحله اول (نشا)	مرحله دوم (بعد از انتقال نشا)	مرحله سوم (قبل از شوک)	مرحله چهارم (شوک فسفری)	مرحله پنجم (نگهداری)
۲۰-۲۰-۲۰ الیت سبز(g)	۱۸	۲۰	۱۴	–	–
نیترات پتاسیم(g)	۱۵	۳۲	۴۰	۵۰	۴۰
مونوفسفات پتاسیم(g)	۱۱	۱۲	۱۹	–	۲۰
الیت سولفات منیزیم(g)	۱۵	۱۷	۲۵	۲۵	۲۲
کود مخصوص گلخانه(mL)	۲	۳	۴	۴	۴
اسید نیتریک(mL)	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
آهن فریشل ۵۴(mL)	–	۲	۲	۰/۲	۲
سولفات منگنز(g)	–	۰/۴	۰/۵	۰/۵	۰/۴
سولفات روی(g)	–	۰/۱	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵

گذشت ۱۲–۱۰ روز در دماهای مختلف (۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس) می‌باشد (جدول ۲ و شکل ۱). بهترین دما برای رشد این قارچ ۲ ± ۳۰ درجه سلسیوس تعیین شد که با سایر مطالعات (۱۹، ۲۶، ۲۷، ۳۰، ۳۴، ۳۸، ۴۳ و ۴۴) مطابقت داشت.

بررسی توان آلوده‌سازی ریشه توسط قارچ

نتایج مطالعات میکروسکوپی صورت گرفته روی ریشه گیاهان تلقیح شده با غلظت‌های مختلف قارچ، حاکی از توان زیاد این قارچ در غلظت‌های زیاد (۳۳۰ و ۲۵۰ اسپور در میلی‌لیتر) در آلوده نمودن ریشه گیاهان میزبان داشت، به طوری که به وضوح و به طور گسترده، انبوهی از ریسه‌های برون‌ریشه‌ای حاصل از رشد اسپورهای قارچ در سطح خارجی و بخش کورتکس ریشه مشاهده شد. همچنین، اندامک‌های کروی قارچ نیز در داخل کورتکس ریشه مشاهده گردید. تعداد ریسه‌ها و کلامیدوسپورها در تیمارهای مختلف متفاوت بود. در تیمارهای ۲۵۰ و ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر، تعداد ریسه‌ها در بخش خارجی ریسه و کلامیدوسپورها در بخش داخلی کورتکس نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (شکل ۲). نتایج این آزمایش با نتایج تحقیقات قبولی و همکاران (۵)، سپهری و همکاران (۴)، موسوی و همکاران (۶)، پراجاپاتی و همکاران (۳۲)، والر و همکاران (۴۴)، دولت آبادی و گل‌تپه (۱۵)، کومار و همکاران (۲۴) و شیفر و همکاران (۳۶) همخوانی داشت.

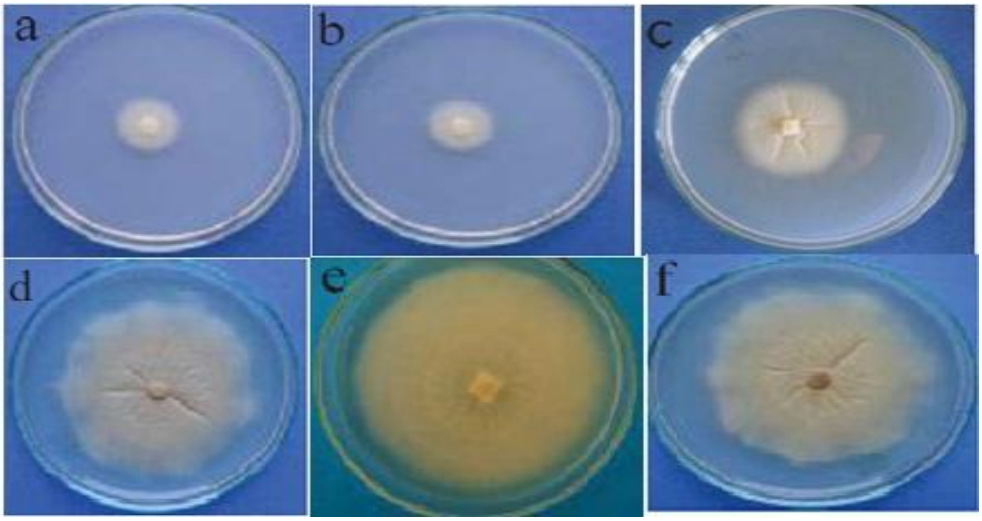
بررسی تأثیر قارچ *P. indica* بر صفات فیزیولوژیک

نتایج به دست آمده از جدول (۳) نشان می‌دهد که بین تیمارهای مختلف در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به طوری که با افزایش غلظت قارچ، میزان کلروفیل، تعداد شاخه و ارتفاع بوته گیاه توت‌فرنگی افزایش یافت که نشان‌دهنده تأثیر مثبت قارچ اندوفیت بر صفات فیزیولوژیک ذکر شده می‌باشد. از نظر تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ روی ارتفاع بوته، تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر با میانگین ۸/۹۴ سانتی‌متر و شاهد با میانگین ۷/۹۱ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را نشان دادند. همچنین، تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر با سایر تیمارها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری نشان داد، در حالی که بین تیمارهای ۸۰، ۱۶۰ و ۲۵۰ اسپور در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما تیمارهای ذکر شده با شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند.

از نظر تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ روی میزان شاخص کلروفیل، تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر با میانگین ۴۸/۶۵ و شاهد با میانگین ۴۶/۲۳ به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را

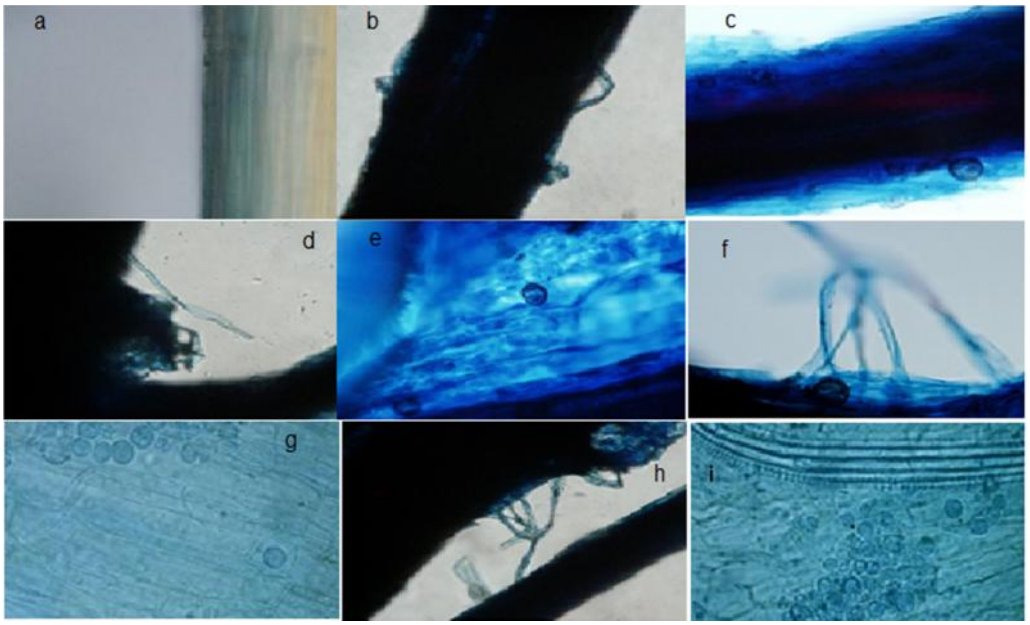
جدول ۲. میزان رشد (بر حسب سانتی‌متر) پرگنه قارچ *P. indica* در دماهای مختلف

	دما (°C)					
	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵
رشد *P. indica*	۱/۲	۳/۲	۴/۶	۶/۸	۸/۴	۸/۴



شکل ۱. میزان رشد پرگنه قارچ *P. indica* در محیط جامد کیفر تحت دماهای مختلف

a: دمای ۱۰ °C، **b**: دمای ۱۵ °C، **c**: دمای ۲۰ °C، **d**: دمای ۲۵ °C، **e**: دمای ۳۰ °C و **f**: دمای ۳۵ °C



شکل ۲. آلوده شدن ریشه با قارچ اندوفیت *P. indica*

a: ریشه فاقد اندام‌های قارچی گیاهان شاهد (تیمار ۱)، **b** و **c**: بافت ریشه آلوده شده با غلظت ۸۰ اسپور در میلی‌لیتر (تیمار ۲)، **d** و **e**: بافت ریشه آلوده شده با غلظت ۱۶۰ اسپور در میلی‌لیتر (تیمار ۳)، **f** و **g**: بافت ریشه آلوده شده با غلظت ۲۵۰ اسپور در میلی‌لیتر (تیمار ۴)، **h** و **i**: بافت ریشه آلوده شده با غلظت ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر (تیمار ۵).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف قارچ *P. indica* بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه توت‌فرنگی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		ارتفاع بوته (cm)	شاخص کلروفیل	تعداد شاخه
غلظت قارچ	۴	۱۲/۴**	۲۷/۴**	۶/۵**
خطای آزمایشی	۱۳۵	۰/۷۹	۴/۹۵	۰/۶۱
Cv (٪)	–	۲۱/۲	۱۱/۲۱	۲۲/۵۱

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪

جدول ۴. مقایسه میانگین مربوط به تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *P. indica* بر صفات گیاه توت‌فرنگی

تیمار	ارتفاع بوته (cm)	میزان کلروفیل	تعداد شاخه
۸۰ spores/ml	۸/۹۴ a	۴۶/۳۱ a	۵/۱۷ b
۱۶۰ spores/ml	۸/۹۵ a	۴۶/۶۵ a	۵/۳۵ b
۲۵۰ spores/ml	۹/۱۱ a	۴۶/۹۵ a	۵/۵۳ ab
۳۳۰ spores/ml	۹/۷۷ b	۴۸/۶۵ b	۵/۸۲ a
شاهد (صفر)	۷/۹۱ c	۴۶/۲۳ a	۴/۵۳c

نشان دادند. بین تیمارهای شاهد، ۸۰، ۱۶۰ و ۲۵۰ اسپور در میلی‌لیتر در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در حالی که تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر با سایر تیمارها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری نشان داد. از نظر تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *P. indica* بر میزان شاخه‌زایی، بیشترین و کمترین اثر را به ترتیب تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر با میانگین ۵/۱۷ و شاهد با میانگین ۴/۵۳ نشان دادند، به‌طوری که تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ داشت (جدول ۴). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر قارچ *P. indica* روی هر یک از صفات فیزیولوژیک گیاه توت‌فرنگی تأثیر بیشتر و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد.

بحث

امروزه، در برنامه‌ریزی برای سامانه‌های کشاورزی پایدار، استفاده از همزیستی میکروارگانیسم- گیاه ضرورتی اساسی تلقی می‌شود. حصول حداکثر بهره‌وری از توان مفید سیستم‌های همزیستی علاوه بر وجود تعداد کافی از سویه‌های میکروبی فعال در ناحیه ریزوسفر، مستلزم افزایش میزان آلودگی ریشه گیاه توسط همزیست میکروبی است تا بتوان از بیشترین توان و ظرفیت آنها استفاده نمود و بازدهی سیستم را افزایش داد (۳۲). نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که قارچ *P. indica* دارای توان زیادی در اشغال ناحیه کورتکس ریشه گیاه میزبان می‌باشد. نحوه کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ *P. indica* به این صورت است که ریسه‌های قارچ پس از برخورد با سلول‌های سطح ریشه منشعب شده و از انتهای هر انشعاب پس از تشکیل ساختاری به‌نام آپرسُریوم [Appressorium (Pl. Appressoria)] (اندامی متورم روی لوله تندش یا هیف جهت تماس با میزبان در مرحله اولیه آلودگی) روی سطح ریشه، ریسه نازکی به درون ریشه نفوذ پیدا می‌کند. پژوهش‌های دیگر، آنزیم‌های هیدرولیتیک مانند کربوکسی متیل سلولاز، گزیلاناز و پلی-گالاکتوناز را عاملی مؤثر در نفوذ قارچ به درون ریشه می‌دانند. از این رو، می‌توان اظهار داشت که نفوذ قارچ به ریشه نتیجه عمل توأم آنزیم‌های مذکور و فشار مکانیکی اعمال شده از طریق آپرسُریوم یا یکی از این دو عمل می‌باشد (۲۸). تأثیر تلقیح قارچ *P. indica* در افزایش زیست‌توده گیاهان دیگری

نظیر ذرت (*Zea mays* L.)، تنباکو (*Nicotiana tabaccum* L.)، جعفری (*Petroselinum crispum* L.)، درمنه (*Artemisia annula* L.) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri*) توسط وارما و همکاران (۴۰) در سال ۱۹۹۹ نیز گزارش شده است. نتایج حاصل از مطالعات آنها حاکی از افزایش زیست‌توده اندام‌های هوایی و ارتفاع بوته گیاهان تلقیح شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد تلقیح نشده بود. میکروارگانیسم‌های خاک، از جمله قارچ‌های اندوفیت، با برقراری روابط همیاری و همزیستی در تعامل با گیاهان بوده و با انجام فعالیت‌هایی نظیر تولید انواع بی‌شماری از متابولیت‌ها، تجزیه ترکیبات مختلف آلی، تثبیت نیتروژن جوی، تولید مواد محرک رشد گیاه و افزایش قابلیت فراهمی عناصر غذایی معدنی برای گیاه، سبب بهبود رشد گیاه می‌گردند (۲۷). بررسی نتایج به‌دست آمده از این پژوهش بیانگر اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *Piriformospora indica* با گیاه توت‌فرنگی در تحریک رشد گیاه در غلظت‌های زیاد قارچ است. مقایسه میزان شاخه‌زایی، شاخص کلروفیل و ارتفاع بوته گیاهان تلقیح شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد در شرایط کشت هیدروپونیک به خوبی تأیید کننده اثر تحریک-کنندگی رشد گیاه توسط قارچ است که با نتایج تحقیقات باگد و همکاران (۹)، دولت آبادی و همکاران (۳)، ورما و همکاران (۴۳)، سپهری و همکاران (۴)، سینگ و همکاران (۳۷) یعقوبیان و همکاران (۷)، حاجی‌نیا و همکاران (۲) و والر و همکاران (۴۴) مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج آزمایش حاضر، بهترین تیمار اثرگذار بر صفات شاخص کلروفیل، شاخه‌زایی و ارتفاع بوته، تیمار ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر قارچ *P. indica* می‌باشد. هر چند با افزایش میزان غلظت قارچ، میانگین صفات اندازه‌گیری شده نیز افزایش یافت، اما این افزایش به اندازه‌ای نبود که بین تیمارهای ۸۰، ۱۶۰ و ۲۵۰ اسپور در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری به وجود بیاورد. همچنین، می‌توان گفت که قارچ *P. indica* در غلظت‌های زیاد به دلیل افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه (جذب عناصر غذایی بیشتر) تأثیر بیشتری بر صفات فیزیولوژیک ذکر شده گیاه توت‌فرنگی دارد. بنابراین، با توجه به دامنه میزبانی این قارچ پیشنهاد می‌گردد که نقش غلظت‌های مختلف قارچ اندوفیت *P. indica* بر گیاهان دیگر، از جمله گیاهان دارویی، تحت کشت هیدروپونیک بررسی گردد تا در صورت تأثیرات مثبت قارچ مذکور، از آن به عنوان کود بیولوژیک در جهت افزایش بهره‌وری از تولیدات گیاهی استفاده گردد. با توجه به نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که تأثیر غلظت‌های زیادتر (بیشتر از ۳۳۰ اسپور در میلی‌لیتر) قارچ *P. indica* بر پارامترهای رشدی گیاه توت‌فرنگی مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از بخش بیماری‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران، بخصوص استاد راهنما و مدیر محترم گروه، به‌خاطر فراهم نمودن تسهیلات لازم جهت انجام این پژوهش، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. ارزانی، ا.، م. مصطفی و ا. نهچیری. ۱۳۸۶. کشت بدون خاک (هیدروپونیک) تجاری و خانگی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، چاپ اول، صفحات ۵۹-۶۲.

۲. حاجی‌نیا، س.، م. ج. زارع، ا. محمدی گل‌تپه و ف. رجالی. ۱۳۹۰. بررسی سودمندی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum* sp. در افزایش تحمل گندم سرداری (*Triticum aestivum*) به تنش شوری. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۴(۱): ۲۱-۲۳.

۳. دولت آبادی، ح. و ا. محمدی گل‌تپه. ۱۳۸۹. اثر بیولوژیکی *Piriformospora* indica، *Sebacina vermifera* و *Trichoderma* spp. علیه بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس در شرایط گلخانه‌ای. فصلنامه گیاه‌پزشکی ۲(۲): ۱۲۷-۱۴۳.

۴. سپهری، م.، ن. صالح راستین، ق. حسینی سالکده و م. خیام نکویی. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) به تنش شوری. مجله علمی پژوهشی مرتع ۳(۳): ۵۰۸-۵۱۸.

۵. قبولی، م.، ف. ا. شهریاری، م. سپهری، ح. مرعشی و ق. حسینی سالکده. ۱۳۹۰. تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی خصوصیات جو (*Hordeum vulgare* L.) در شرایط تنش خشکی. نشریه بوم شناسی کشاورزی ۳(۳): ۳۲۸-۳۳۶.

۶. موسوی، س. م.، ب. شریف نبی، و. ا. بابایی زاد، س. م. علوی، م. ع. تاجیک قنبری و ا. مساح. ۱۳۹۱. بررسی امکان همزیستی و ارزیابی تأثیر قارچ اندومایکوریز *Piriformospora* indica در گیاه برنج. مجله بیماری‌های گیاهی ۴۸(۳): ۴۴۱-۴۴۲.

۷. یعقوبیان، ی.، خ. عالمی سعید، ه. م. پیردشتی، ا. محمدی گل‌تپه، و. فیضی اصل و ع. ا. اسفندیاری. ۱۳۹۲. اثر قارچ‌های *Glomus mosseae* و *Piriformospora* indica و سطوح مختلف مواد آلی بر روابط بین صفات مرتبط با عملکرد گندم. مجله تحقیقات غلات دانشگاه گیلان ۳(۳): ۲۱۱-۲۲۱.

8. Awang, Y.B. and J. Atherton. 1995. Growth and fruiting responses of strawberry plants grown on rockwool to shading and salinity. Sci. Hort. 62: 25-31.
9. Bagde, U.S., R. Prasad and A. Varma. 2013. Impact of culture filtrate of *Piriformospora indica* on biomass and biosynthesis of active ingredient aristolochic acid in Aristolochia elegans Mart. Int J. Biol. DOI: 10.5539/ijb.v6n1p29.
10. Blechert, O., G. Kost, A. Hassel, K.H. Rexer and A. Varma. 1999. First remarks on the symbiotic interaction between *Piriformospora indica* and terrestrial orchids. PP. 683-688. *In:* Varma, A. and B. Hock (Eds.), Mycorrhiza, 2nd edn., Springer, Heidelberg.
11. Bonfante, P. and S. Perotto. 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. New Phytol. 130: 3-21.
12. Böhme, M. 1993. Effects of hydroponics on the development of cucumber growing in ecologically suitable substrates. Int. Symp. on New Cultivation Systems in Greenhouse, 361: 133-140.
13. Bould, C. 1964. Leaf analysis as a guide to the nutrition of fruit crops. V- Sand culture N, P, K, Mg experiments with strawberry (*Fragaria* spp.). J. Sci. Food Agric. 15: 474-487.
14. Das, A., S. Kamal, N.A. Shakil, I. Sherameti, R. Oelmuller, M. Dua, N. Tuteja, A.K. Johri and A. Varma. 2012. The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. Plant Signaling Behav. 7(1): 103-112.
15. Dolatabadi, H. and E.M. Goltapeh. 2013. Effect of inoculation with *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* on growth of selected brassicaceae plants under greenhouse conditions. J. Hort. Res. 21(2): 115-124.
16. FAO. 2011. FAOSTAT. Available at: http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx.
17. Fakhro, A., D.R. Andrade-Linares, S. von Bargen, M. Bandte, C. Buttner, R. Grosch, D. Schwarz and P. Franken. 2010. Impact of *Piriformospora indica* on tomato growth and on interaction with fungal and viral pathogens. Mycorrhiza 20: 191–200.
18. Gerdmann, J.W. and T.H. Nicolson. 1963. Spore of mycorrhizal Engogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46: 235-244.
19. Hill, T.W. and E. Kafer. 2001. Improwed protocols for aspergillus medium: Trace elements and minimum medium salt stock solutions. Fungal Genet. News. 48: 20-21.

20. Hibbett, D.S., M. Binder, J.F. Bischoff, M. Blackwell, P.F. Cannon, O.E. Eriksson, S. Huhndorf, T. James, P.M. Kirk, R. Lu¨cking, H.T. Lumbsch, F. Lutzoni, P.B. Matheny, D.J. McLaughlin, M.J. Powell, S. Redhead, C.L. Schoch, J.W. Spatafora, J.A. Stalpers, R. Vilgalys, M.C. Aime, A. Aptroot, R. Bauer, D. Begerow, G.L. Benny, L.A. Castlebury, P.W. Crous, Y.C. Dai, W. Gams, D.M. Geiser, G.W. Griffith, C. Gueidan, C. Walker, Z. Wang, A. Weir, M. Weiss, M.M. White, K. Winka, Y.J. Yao and N. Zhang. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. Mycol. Res. 111: 509-547.
21. Kafer, E. 1977. Meiotic and mitotic recombination in Aspergillus and its chromosomal aberrations. Adv. Genet. 19: 33-131.
22. Kumari, R., H. Kishan, Y.K. Bhoon and A. Varma. 2003. Colonization of cruciferous plants by *Piriformospora indica*. Curr. Sci. 85: 1672-1674.
23. Krich, H., R. Vera, R. Strella, D. Golldack, F. Quigley, B.J. Barkla and H.J. Bohnert. 2000. Expression of water channel proteins in *Mesembryanthemum crystallinum*. Plant Physiol. 123: 111-124.
24. Kumari, R., H.K. Yadav, Y.K. Bhoon and A. Varma. 2003. Colonization of cruciferous plants by *Piriformospora indica*. Curr. Sci. 85(12): 1672-1674.
25. Landschoot, P.J. and C.F. Mancino. 2000. A comparison of visual vs. instrumental measurement of color differences in bentgrass turf. HortSci. 35: 914-916.
26. Malla, R., R. Prasad, R. Kumari, P.H. Giang, U. Pokharel, R. Oelmuller and A. Varma. 2004. Phosphorus solubilizing symbiotic fungus: *Piriformospora indica*. Endocytobiosis Cell Res. 15: 579-600.
27. Oelmuller, R., I. Sherameti, S. Tripathi and A. Varma. 2009. *Piriformospora*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. Symbiosis 49: 1-17.
28. Paul, E.A. and F.E. Clark. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London, 275 p.
29. Peskan-Berghofer, T., B. Shahollari, P.H. Giong, S. Hehl, C. Markert, V. Blanke, G. Kost, A. Varma and R. Oelmuller. 2004. Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmatic reticulum and at the plasma membrane. Physiol. Plant. 122: 465-477.
30. Pham, G.H., A. Singh, R. Kumari, R. Malla, R. Prasad, M. Sachdev, K. Rexer, G. Kost, P. Luis, M. Kaldorf, F. Buscot, S. Herrmann, T. Peskan, R. Oelmuller, A.K. Saxena, S. Declerck, M. Mittag, E. Stabentheinerv, S. Hehl and A. Varma. 2004. Interactive of *Piriformospora indica* with diverse microorganisms in plants. PP. 237-265. *In:* Varma, A., L. Abbott, D. Werner and R. Hampp (Eds.), Plant Surface Microbiology, Springer-Verlag, Berlin.
31. Phillip, J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and VAM fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.
32. Prajapati, K., K.D. Yami and A. Singh. 2008. Plant growth promotional effect of *Azotobacter chroococcum*, *Piriformospora indica* and vermicompost on rice plant. Nepal J. Sci. Technol. 9: 85-90.
33. Qiang, X., M. Weiss, K.H. Kogel and P. Schafer. 2012. *Piriformospora indica*- a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. Mol. Plant Pathol. 13(5): 508-518.
34. Shahollari, B., J. Vadassery, A. Varma and R. Oelmuller. 2007. A leucine-rich repeat protein is required for growth promotion and enhanced seed production mediated by the endophytic fungus *Piriformospora indica* in *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 50: 1-13.
35. Serfling, A., S.G. Wirsel, V. Lind and H.B. Deising. 2007. Performance of the biocontrol fungus *Piriformospora indica* on wheat under greenhouse and field conditions. Phytopathol. 97: 523-531.
36. Schafer, P., S. Pfiffi, L.M. Voll, D. Zajic, P.M. Chandler, F. Waller, U. Scholz, J. Pons-Kuhnemann, S. Sonnewald, U. Sonnewald and K.H. Kogel. 2009. Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica*. Plant J. 59: 461-474.
37. Singh, A., J. Sharma, K.H. Rexer and A. Varma. 2000. Plant productivity determinants beyond minerals, water and light: *Piriformospora indica*- a revolutionary plant growth-promoting fungus. Curr. Sci. 79: 1548-1554.
38. Singh, A. and A. Varma. 2005. Functional and immune-characterization of Sebacinales fungi with a broad mycorrhizal potentials. Sci. World 3(3): 53-61.
39. Sinclair, G., C. Charest, Y. Dalpé and S. Khanizadeh. 2013. Influence of colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and a root endophyte on selected strawberry cultivars under salt conditions. Can. J. Plant Sci. 93: 1-3.
40 Varma, A., S. Verma, N.S. Sahay, B. Butehorn and P. Franken. 1999. *Piriformospora indica* a cultivable plant growth-promoting root endophyte. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2741-2744.
41. Varma, A., A. Singh, N.S. Sahay, J. Sharma, A. Roy, M. Kumari, D. Rana, S. Thakran, D. Deka, K. Bharti, T. Hurek, O. Blechert, K.H. Rexer, G. Kost, A. Hahn, W. Maier, M. Walter, D. Strack and I. Kranner. 2001. *Piriformospora indica*: An axenically culturable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. PP. 123-150. *In:* Hock, B. (Ed.), Mycota IX, Springer, Berlin.
42. Varma, A., M. Bakshi, B. Lou, A. Hartmann and R. Oelmueller. 2012. *Piriformospora indica*: A novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. Agric. Res. 1: 117-131.

43. Verma, S., A. Varma, K.H. Rexer, A. Hassel, G. Kost, A. Sarbhoy, P. Bisen, B. Butehorn and P. Franken. 1998. *Piriformospora* indica, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. Mycol. 90(5): 896-903.
44. Waller, F., B. Achatz, H. Baltruschat, J. Fodor, K. Becker, M. Fischer, T. Heier, R. Hückelhoven, C. Neumann and D. von Wettstein. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102: 13386-13391.
45. Weiss, M., M.A. Selosse, K. Rexer, A. Urban and F. Oberwinkler. 2004. Sebacinales: A hitherto overlooked cosm of hetero-basidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. Mycol. Res. 108: 1003-1010.