اثر تلقیح قارچ اندوفایت (*Piriformospora indica*) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تحمل گندم در شرایط کمبود فسفر در سیستم هیدروپونیک

داود رحمانی ایرانشاهی[1*]، مژگان سپهری[1]، امیرحسین خوشگفتارمنش[1]، حمیدرضا عشقی‌زاده[2] و وحیداله جهاندیده مهجن آبادی[1]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۲۰)

چکیده

اطلاعات در زمینه اثر قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* بر پاسخ گیاه گندم به شرایط تنش بسیار اندک و گاهی متناقض است. این آزمایش گلخانه‌ای با هدف بررسی اثر تلقیح قارچ شبه میکوریزی *P. indica* بر سازوکارهای دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم نیک‌نژاد در دو سطح کفایت و کمبود فسفر، در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل در سه تکرار و در شرایط هیدروپونیک انجام گردید. پس از گذشت ۶۰ روز از اعمال تیمارها، گیاهان برداشت شدند و وزن خشک شاخساره و غلظت عناصر فسفر، آهن و روی و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گویاکول پراکسیداز، غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که کمبود فسفر باعث کاهش وزن خشک شاخساره، غلظت فسفر و آهن و افزایش غلظت روی شاخساره شد. تلقیح ریشه گندم با قارچ *P. indica* در شرایط کمبود فسفر، وزن خشک شاخساره و غلظت فسفر بخش هوایی گیاه را به شکل معنی‌داری افزایش داد. همچنین، غلظت کلروفیل a و b و نیز غلظت کاروتنوئیدها در شرایط کمبود فسفر به طور معنی‌داری بیشتر از شرایط کفایت این عنصر بود. تلقیح قارچ *P. indica* به ریشه گندم موجب کاهش غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها در گیاه شد. تلقیح قارچ *P. indica* در شرایط کمبود فسفر موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز و در شرایط کفایت فسفر باعث افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالاز و گویاکول پراکسیداز شد. به‌طور کلی، تلقیح قارچ *P. indica* می‌تواند به عنوان یکی از روش‌های زیستی مؤثر جهت تعدیل اثرهای مضر کمبود فسفر در گیاه گندم و افزایش تحمل آن به این تنش پیشنهاد گردد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاتالاز، گویاکول پراکسیداز

مقدمه

فسفر یکی از عناصر ضروری معدنی برای رشد و نمو گیاه بوده و کمبود آن به عنوان عامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی در جهان شناخته شده است (۹ و ۴۵). مهم‌ترین نقش فسفر در گیاه، شرکت در فرایندهای ذخیره انرژی، انتقال انرژی و رشد زایشی است. علی‌رغم اهمیت فسفر در تغذیه گیاه، به علت اختلاف غلظت این عنصر بین خاک و گیاه، جذب آن توسط گیاه مستلزم صرف انرژی جهت غلبه بر این شیب غلظت است. علاوه بر این، برهمکنش بین عناصر غذایی ممکن است بر جذب عناصر توسط گیاه تأثیر گذارد (۱۳ و ۳۳). تحقیقات نشان داده است که مصرف زیادی کودهای فسفری سبب به هم زدن تعادل عناصر غذایی کم‌مصرف، به‌ویژه آهن و روی، و در نتیجه کاهش جذب آنها توسط گیاه می‌شود (۲ و ۱۶).

تنش‌های محیطی زیستی و غیر زیستی که گیاهان در طول

[1]. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: da8512043@gmail.com

دوره رشد خود با آنها مواجه هستند، از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان به شمار می‌آیند. در صورت عدم وجود تنش‌های محیطی، اختلاف عملکردهای واقعی گیاهان با عملکردهای پتانسیل آنها کم می‌شد، در حالی که متوسط عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی کمتر از پتانسیل عملکرد آنها است (۱۱). این تنش‌ها، علاوه بر ایجاد اختلالات متابولیسم، به دلیل تأثیر در ایجاد تنش اکسیداتیو، موجب تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) در سلول‌های گیاهی نیز می‌شوند. تولید و انباشت زیاد ROS ها، فرایندهای اکسیداتیو مخربی از قبیل بی‌رنگ شدن کلروفیل، پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک را در گیاه باعث می‌شود (۴۱). سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرهای منفی تنش‌های محیطی از مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ی آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گویاکول پراکسیداز) و غیر آنزیمی (کاروتنوئیدها و اسید آسکوربیک) بهره می‌گیرند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حملات ROS به شمار می‌آیند. همچنین، بین تنش‌های مختلف و غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان روابط پیچیده‌ای وجود دارد (۴).

همزیستی ریشه گیاهان با قارچ‌های مفید خاک‌زی قدمتی ۴۰۰ میلیون ساله دارد (۳۶). قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* از قارچ‌های همزیست با ریشه گیاهان می‌باشد که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران (۴۴) از ریزوسفر دو گیاه خشکی پسند کهور (*Zizyphus numularia*) و گز (*Prosopis juliflora*) از خاک صحرای تار ایالت راجستان کشور هندوستان جداسازی شد. این قارچ به دلیل دارا بودن ویژگی‌های بسیار مشابه با قارچ‌های میکوریزی، قارچ شبه میکوریزی نیز نامیده می‌شود (۳۴). قارچ *P. indica* با برقراری رابطه همزیستی با دامنه وسیعی از گیاهان میزبان و با افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه، به عنوان یک قارچ محرک رشد گیاه شناخته می‌شود و در تحریک و افزایش رشد گیاهان میزبان، به ویژه در شرایط تنش، نقش مهمی بر عهده دارد (۲۱). اهمیت قارچ *P. indica* در بهبود تغذیه گیاهان، افزایش تحمل در برابر برخی بیماری‌ها و کاهش اثرهای منفی تنش خشکی و شوری توسط محققین مختلف گزارش شده است (۲۹ و ۴۴).

بالتروشات و همکاران (۲۲) گزارش کردند که تلقیح قارچ اندوفایت *P. indica* با گیاه جو در شرایط تنش شوری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و در نتیجه مقاومت این گیاه را به تنش افزایش داد. همچنین، گزارش‌ها حاکی از آن است که تلقیح گیاه گوجه‌فرنگی با قارچ *P. indica*، قدرت تحمل گیاه به تنش‌های شوری و کمبود عناصر غذایی را از طریق فعال کردن متابولیسم آنتی‌اکسیدان و در نتیجه تجمع آسکوربات افزایش داد (۴۳). قارچ اندوفایت *P. indica* فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را تحریک می‌کند و تولید ROS را از طریق به تأخیر انداختن تخریب اسیدهای چرب اشباع نشده غشای پلاسمای لیپیدی، محدود می‌کند (۴۰).

از طرف دیگر، ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی از جمله گندم از نظر قدرت جذب فسفر در شرایط کمبود این عنصر به انواع فسفر- کارا و فسفر- ناکارا تقسیم می‌گردند که ژنوتیپ‌های فسفر- کارا در مقایسه با انواع ناکارا، در شرایط کمبود فسفر از تحمل بیشتری برخوردار هستند (۵ و ۳۷). فسفر کارایی ارقام مختلف گندم توسط محققین مشخص شده است (۳ و ۸).

کمبود فسفر در خاک از یک طرف و اثرهای زیانبار زیست‌محیطی و اقتصادی ناشی از مصرف زیاد کودهای شیمیایی فسفری از طرف دیگر لزوم تجدید نظر در روش‌های افزایش تولید محصولات زراعی از جمله گندم را از طریق توسعه سیستم کشاورزی پایدار بر مبنای استفاده از نهاده‌های زیستی از جمله ریزجانداران خاک (قارچ‌ها و باکتری‌ها) و استفاده از ژنوتیپ‌های کارآمد در جذب فسفر را دو چندان نموده است. لذا، این پژوهش با هدف مطالعه اثرتلقیح قارچ اندوفایت Piriformospora indica با گندم (Triticum aestivum L.) رقم نیک‌نژاد (فسفر- کارا) در افزایش تحمل گیاه مذکور، از طریق تحریک سیستم

جدول ۱. فرمول محیط کشت پیچیده قارچ P. indica (یک لیتر)

ترکیب	مقدار
گلوکز	۲۰ گرم
مخمر قارچ	۱ گرم
کاز آمینواسید	۱ گرم
محلول نمک	۵۰ میلی لیتر
پپتون	۲ گرم
عناصر کم‌مصرف	۱ میلی لیتر
آگار	۱۵ گرم

آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی در شرایط هیدروپونیک و تنش کمبود فسفر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه مایه تلقیح قارچ *Piriformospora indica*

جدایه قارچ اندوفایت *P. indica* به صورت کشت خالص از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه گردید. برای کشت قارچ *P. indica* از محیط کشت پیچیده (Complex medium) طبق جدول ۱ استفاده شد. با تهیه تعداد کافی پتری دیش محتوی محیط کشت پیچیده، جدایه قارچی مذکور کشت و در دمای ۲۴ درجه سلسیوس درون انکوباتور به مدت ۱۸ روز جهت تکثیر و تولید کافی اسپور نگهداری شد. پس از اتمام این مدت، اسپورهای قارچی با استفاده از محلول آب- توئین (۰/۰۲٪) و با کمک پاروی پلاستیکی (Rubber) جمع‌آوری شدند و پس از انجام مراحل سانتریفیوژ و انحلال طی سه مرتبه، تعداد آنها با استفاده از لام نئوبار در حدود ۵×۱۰^{۶} تنظیم شد. سپس به منظور اطمینان از حصول تعداد کافی اسپور دارای قابلیت جوانه‌زنی یکنواخت جهت تهیه مایه تلقیح قارچ، مقدار لازم محیط کشت مایع با تعداد ۵×۱۰^{۵} اسپور تلقیح و به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس روی هم‌زن دورانی، با سرعت چرخش ۱۰۰ دور در دقیقه، هوادهی و نگه‌داری شد. سپس، مانند مرحله قبل، مراحل جمع‌آوری، شستشو و سانتریفیوژ روی اسپورهای رشد یافته در محیط کشت مایع انجام و تعداد نهایی اسپورها ۵×۱۰^{۶} عدد در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح تنظیم گردید (۴۳).

آزمایش گلخانه‌ای

بذرهای گندم نان (*Triticum aestivum* L.) رقم نیک‌نژاد، از مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، تهیه گردید و پس از ضد عفونی شدن سطحی با الکل ۹۶٪ (۷ ثانیه) و محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ (۵ دقیقه)، در ظروف پتری محتوی آب- آگار و در داخل انکوباتور (دمای ۲۵ ºC) جوانه‌دار شدند. سپس بذرهای جوانه‌دار شده با تعداد ۵×۱۰^{۶} اسپور قارچ *P. indica* تلقیح شدند و تعداد ۴ عدد گیاهچه تلقیح شده درون گلدان‌های سه کیلوگرمی حاوی مخلوطی از شن و پرلیت استریل شده با نسبت حجمی ۲:۱ کشت شدند. لازم به ذکر است که بذرهای گیاهان شاهد بدون تلقیح با اسپور قارچ در گلدان کاشته شدند. گلدان‌ها در گلخانه مرکز پژوهشی کشت بدون خاک (طول دوره روشنایی ۱۲-۱۱ ساعت، دمای روزانه گلخانه ºC ۲۵- ۱۸، دمای شبانه حداقل ºC ۱۵، رطوبت نسبی ۴۰٪ و شدت روشنایی ۱۰۰۰۰ لوکس) قرار داده شدند. گلدان‌ها تا مرحله ۲ تا ۳ برگی با محلول غذایی جانسون ۲۵٪ و پس از آن با محلول غذایی جانسون ۵۰٪ تغذیه و به صورت روزانه با آب مقطر آبیاری شدند. جهت اعمال تیمار کمبود فسفر، از محلول غذایی حاوی فسفر تقلیل یافته به میزان ۵۰٪ استفاده شد و گلدان‌های شاهد، محلول غذایی کامل از نظر مقدار فسفر را دریافت می‌کردند. پس از گذشت ۶۰ روز از کاشت گیاهان اقدام به برداشت آنها شد. سپس، شاخص‌هایی نظیر وزن خشک شاخساره، غلظت عناصر فسفر، آهن و روی (۲۶)، غلظت کلروفیل و کاروتنوئید (۱۹) و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۱۵)، آسکوربات پراکسیداز (۳۲) و گویاکول پراکسیداز (۳۵) سنجش و ارزیابی شدند. این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه آماری کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. عوامل مورد مطالعه شامل دو سطح قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* (عدم تلقیح و تلقیح قارچ) و دو سطح

جدول ۲. میانگین مربعات پارامترهای اندازه‌گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		SDW	P	Fe	Zn	Chl a	Chl b	Car	CAT	APX	GPX
فسفر	۱	۹/۶۳ **	۰/۱۰۶۹**	۲۲۶۸ **	۸۸ **	۰/۰۵۸**	۰/۰۱۳**	۰/۸۳**	۴/۷۱ **	۳/۰۸	۳۰
قارچ	۱	۰/۳۳ *	۰/۰۰۰۰۷	۲۷۰ *	۰/۰۲	۰/۰۷۲**	۰/۰۰۶**	۰/۴۵**	۰/۵۴	۱/۲۲	۰/۴۶
فسفر×قارچ	۱	۰/۲۹ *	۰/۰۰۰۷*	۳۶۳ *	۶/۰۲ *	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۶	۰/۱۱*	۱/۷۱*	۰/۶۹	۱۶۲**
خطا	۶	۰/۰۴	۰/۰۰۰۰۵	۴۱	۰/۸۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۹	۰/۲۷	۱/۳۵	۹/۵۰

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطوح ۱٪ و ۵٪ و SDW، P، Fe، Zn، Chl a، Chl b، Car، CAT، APX و GPX به‌ترتیب وزن خشک شاخساره، غلظت فسفر، آهن، روی شاخساره، کلروفیل a و b، کاروتنوئید برگ، فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گویاکول پراکسیداز می‌باشد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرهای اصلی عامل‌های آزمایش بر صفات مورد بررسی

عامل	وزن خشک (g)	غلظت فسفر (٪)	غلظت آهن (mg/kg)	غلظت روی (mg/kg)	کلروفیل a (mg/g. Fw)	کلروفیل b (mg/g. Fw)	کاروتنوئید (mg/g. Fw)	کاتالاز (µmol/min. g. Fw)
کمبود فسفر	۳/۷۷b	۰/۰۸b	۵۷b	۲۱/۷a	۲/۷۰a	۰/۶۴a	۵/۲۶a	۷/۲۲a
کمبود فسفر	۵/۵۶a	۰/۲۶a	۸۴/۵a	۱۶/۳b	۲/۵۶b	۰/۵۷b	۴/۷۴b	۵/۹۷b
عدم تلقیح قارچ	۴/۵۰b	۰/۱۷a	۷۵/۵a	۱۹a	۲/۷۰a	۰/۶۳a	۵/۱۹a	۶/۳۸a
تلقیح قارچ	۴/۸۳a	۰/۱۷a	۶۶b	۱۹a	۲/۵۵b	۰/۵۹b	۴/۸۱b	۶/۸۱a

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف یکسان باشند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

عنصر فسفر (کمبود و کفایت فسفر) بودند. نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و رسم نمودارها با برنامه Excel انجام گرفت.

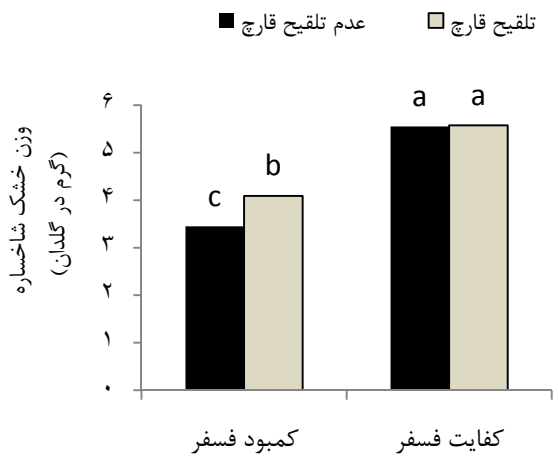
نتیجه و بحث

وزن خشک شاخساره گندم

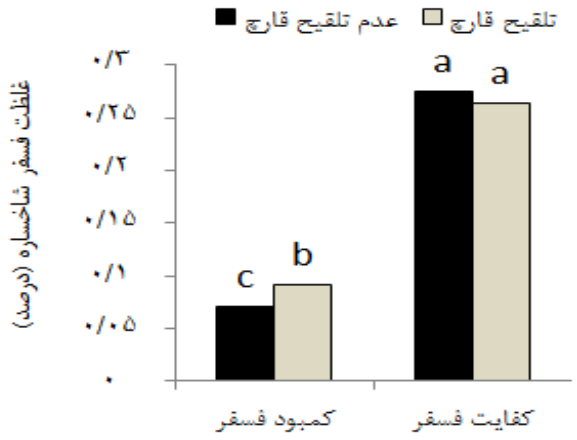
نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر فسفر و تلقیح قارچ به ترتیب در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد بر وزن خشک شاخساره معنی‌دار شد (جدول ۲).

کمبود فسفر، وزن خشک شاخساره گیاه را کاهش داد. همچنین، تلقیح ریشه با قارچ *P. indica* موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره گندم رقم نیک‌نژاد گردید (جدول ۳).

در برخی گزارش‌ها بر تأثیر قارچ *P. indica* در بهبود تغذیه گیاهان و افزایش تحمل آنها به تنش‌های زیستی و غیر زیستی تأکید شده است (۲۹ و ۴۴). آکاتز و همکاران (۱۴) اعلام کردند که قارچ *P. indica* باعث رشد سریع‌تر خوشه‌ها و همچنین افزایش تعداد پنجه، سنبله و در نهایت افزایش عملکرد دانه گیاه جو می‌شود. برهمکنش اثرهای قارچ و فسفر بر وزن خشک شاخساره در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). در شرایط کفایت فسفر، وزن خشک شاخساره بین گیاهان تلقیح یافته و تلقیح نیافته با قارچ *P. indica* اختلاف معنی‌داری نداشت. اما در شرایط کمبود فسفر، تلقیح قارچ موجب افزایش معنی‌دار عملکرد شاخساره شد (شکل ۱).



شکل ۱. اثر قارچ *P. indica* بر وزن خشک شاخساره گندم در سطوح مختلف فسفر



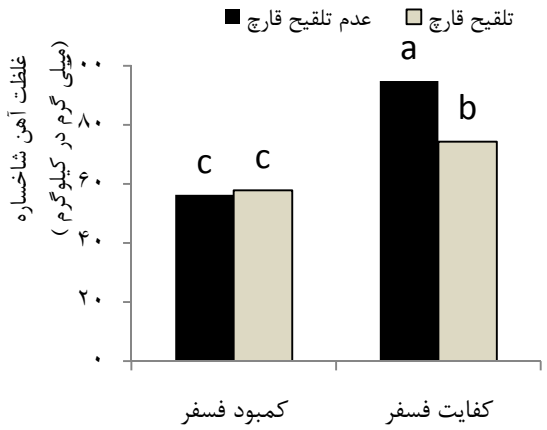
شکل ۲. اثر قارچ *P. indica* بر غلظت فسفر شاخساره گندم در سطوح مختلف فسفر

این نتیجه با تحقیقات آکاتز و همکاران (۱۴) که نشان دادند اثر مثبت قارچ اندوفایت *P. indica* مستقل از سطح فسفر بود و اثر تحریک کنندگی قارچ *P. indica* بر عملکرد گیاه مستقل از عرضه کم فسفر در محیط است، تناقض دارد. با توجه به شرایط این آزمایش می‌توان بیان نمود که رفتار قارچ اندوفایت *P. indica* ناشی از عوامل مختلفی از جمله فراهمی و مقدار فسفر موجود در محیط کشت است و این مسئله در نوع پاسخ گیاه به تلقیح قارچ نقش دارد. به بیان بهتر، در شرایط کشت هیدروپونیک، با فراهمی عناصر غذایی از جمله فسفر، کارایی قارچ *P. indica* در بهبود رشد گیاه همزیست کاهش می‌یابد. در حالی که این قارچ توانست در شرایط تنش با بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه میزبان موجب افزایش عملکرد آن شود.

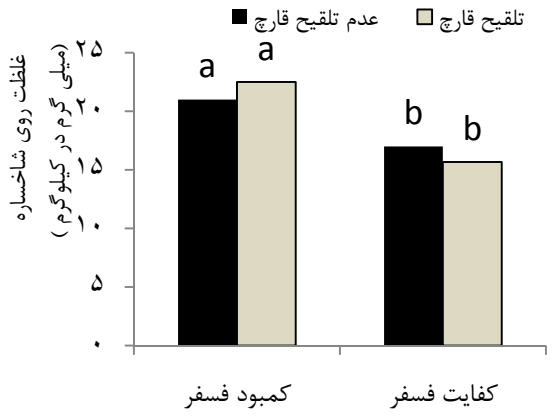
فسفر، آهن و روی شاخساره گیاه

اثر فسفر بر غلظت فسفر، آهن و روی شاخساره در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). کمبود فسفر موجب کاهش غلظت فسفر، آهن و افزایش غلظت روی در شاخساره شد (جدول ۳). به دلیل وجود سازوکارهای مشابه دخیل در جذب عناصر آهن و روی توسط گیاه، افزایش غلظت روی به عنوان یکی از دلایل کاهش جذب آهن شاخساره در چنین شرایطی مطرح می‌باشد (۶). همچنین، با کاهش فسفر قابل دسترس، میزان ماده خشک گیاهی کاهش یافته و غلظت برخی عناصر نظیر روی در واحد وزن خشک گیاه (اثر غلظت) افزایش می‌یابد (۲۴). این نتیجه با نتایج حاصل از وزن خشک شاخساره در این پژوهش مطابقت دارد. بنابراین، در شرایط کمبود فسفر و فراهمی عنصر روی، غلظت روی افزایش می‌یابد و به دلیل اثر رقابتی جذب روی و آهن، جذب آهن کاهش می‌یابد.

نتایج نشان داد که هر چند اثر عامل قارچ بر غلظت فسفر و روی معنی‌دار نبود، اما بر غلظت آهن در سطح احتمال ۵٪ تأثیر معنی‌داری گذاشت (جدول ۲). تلقیح ریشه بوته‌های گندم رقم نیک‌نژاد با قارچ *P. indica* موجب کاهش غلظت آهن شاخساره نسبت به تیمار عدم تلقیح قارچ (شاهد) شد (جدول ۳). مشابه نتایج حاضر، در مطالعه‌ای دیگر، گزارش شده که قارچ‌های میکوریز سبب کاهش جذب آهن می‌شوند (۷). مکانیسم‌های احتمالی این عمل عبارتند از: ۱) تجمع آهن در میسیلیوم قارچ و ۲) محدود شدن انتقال آهن از ریشه به شاخساره (۳۱). اثر برهمکنش تلقیح قارچ و فسفر بر غلظت فسفر، آهن و روی شاخساره در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد (جدول ۲). برخلاف شرایط کفایت فسفر، در شرایط کمبود این عنصر، تلقیح قارچ اندوفایت *P. indica* غلظت فسفر شاخساره را در مقایسه با گیاهان فاقد آلودگی قارچی (شاهد) افزایش داد (شکل ۲).



شکل ۳. اثر قارچ *P. indica* بر غلظت آهن شاخساره گندم در سطوح مختلف فسفر



شکل ۴. اثر قارچ *P. indica* بر غلظت روی شاخساره گندم در سطوح مختلف فسفر

یاداو و همکاران (۴۶) گزارش کردند که قارچ *P. indica* با انتقال فسفر به گیاه ذرت، به طور قابل توجهی بر رشد گیاه، به ویژه در شرایط کمبود این عنصر، تأثیر مثبت می‌گذارد و به گیاه جهت مقابله با شرایط تنش کمبود فسفر در خاک کمک می‌کند. تلقیح ریشه با قارچ اندوفایت *P. indica* در شرایط کمبود فسفر تأثیر معنی‌داری بر غلظت آهن (شکل ۳) و روی (شکل ۴) نداشت. اما حضور قارچ اندوفایت در شرایط کفایت فسفر موجب کاهش معنی‌دار غلظت آهن نسبت به تیمار فاقد آلودگی قارچ (شاهد) گردید (شکل ۴).

تأثیر متفاوت قارچ *P. indica* بر جذب فسفر، آهن و روی در اندام هوایی گیاهان بیانگر توانایی متفاوت این قارچ در جذب عناصر توسط ریشه و انتقال آنها به اندام‌های هوایی نسبت به تیمارهای شاهد است. این موضوع توسط محققین مختلف و در مورد سایر محصولات کشاورزی نیز گزارش شده است (۳۰ و ۴۲). لیو و همکاران (۳۰) عناصر روی، مس، منگنز و آهن در گیاه ذرت مایه‌زنی شده با قارچ میکوریز را بررسی و گزارش نمودند که اثرهای مثبت یا منفی قارچ‌های میکوریزی در جذب عناصر کم مصرف، به ویژه روی، به صورت معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف فسفر می‌باشد. همچنین، آنان گزارش نمودند که قارچ‌های میکوریزی به لحاظ تولید میسیلیوم‌های قارچی بیشتر در سطوح پایین فسفر، نسبت به سطوح بالای این عنصر، نقش مهم‌تری در افزایش جذب عناصر روی و مس در شرایط کمبود فسفر دارند. اما این نتایج با یافته‌های حاصل از این پژوهش که عدم تأثیر قارچ *P. indica* بر جذب روی را در هر دو سطح فسفر نشان داد (شکل ۴)، متفاوت است.

افزایش یا کاهش غلظت عناصر غذایی در گیاهان تلقیح شده با قارچ، علاوه بر نوع گیاه به شرایط آزمایش نیز ارتباط پیدا می‌کند (۴۲). اهمیت قارچ اندوفایت *P. indica* در بهبود تغذیه گیاهان توسط محققین مختلف گزارش شده است (۲۹ و ۴۴) که اغلب این پژوهش‌ها به تأثیر ریزجانداران همزیست بر وضعیت رشد و تغذیه گیاه در شرایط وجود منابع نامحلول یا کم محلول عناصر غذایی می‌پردازند و تحقیقات صورت گرفته در سیستم‌های کشت بدون خاک که از فراهمی نسبتاً زیاد عناصر غذایی برخوردارند، بسیار محدود می‌باشد. نکته مهم قابل ذکر این است که در اغلب سیستم‌های کشت هیدروپونیک به علت فراهمی عناصر، تمایل گیاه به تشکیل رابطه همزیستی با ریز جانداران کاهش می‌یابد و همچنین به دلیل حذف فازهای تبادلی و جامد خاک و در نتیجه کاهش کارایی مکانیسم‌های افزایش جذب عناصر، تأثیر ریز جانداران، از جمله قارچ‌های اندوفایت مانند *P. indica*، در جذب عناصر غذایی کاهش می‌یابد. همچنین، وجود همزیست‌های میکروبی در مجاورت

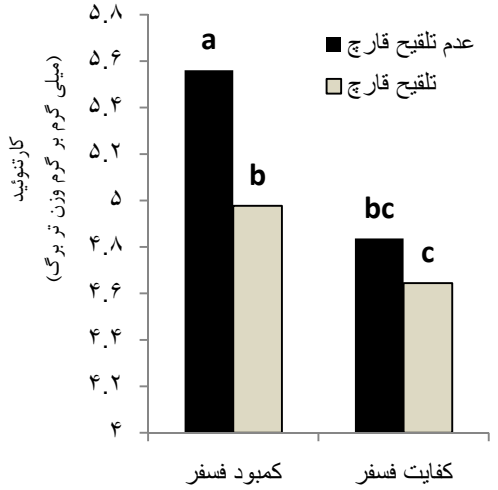
سیستم ریشه‌ای گیاه در شرایط محیطی مطلوب و فاقد تنش، به دلیل رقابت با گیاه برای جذب عناصر غذایی که غالباً با مصرف ترکیبات فتوسنتزی گیاه توأم است، موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان میزبان می‌شود (۳۰). با توجه به اینکه در این پژوهش از محیط کشت شن و پرلیت استفاده گردید، این دلایل می‌تواند عدم تأثیر معنی‌دار قارچ بر جذب روی را توجیه نماید. البته در مطالعات تغذیه گیاه به منظور حذف فاکتورهای مختلف محیطی مؤثر بر رشد، استفاده از سیستم‌های کشت هیدروپونیک محتمل به نظر می‌رسد و برای تکمیل نتایج آزمایش‌های کشت مزرعه‌ای لازم می‌باشد.

غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید برگ

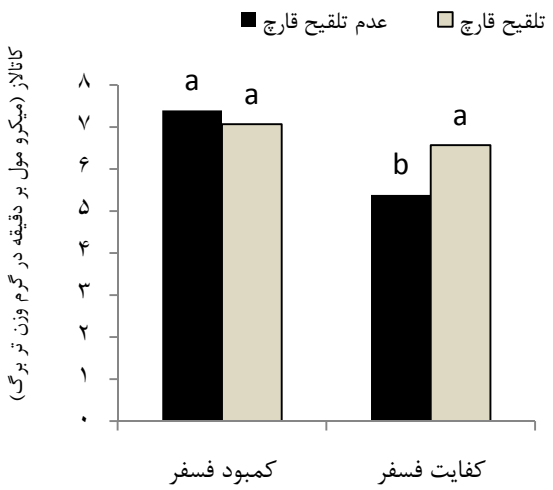
نتایج تجزیه آماری داده‌های مربوط به غلظت کلروفیل برگ نشان‌دهنده اثر معنی‌دار فسفر و تلقیح قارچ بر غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید در سطح احتمال ۱٪ بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید برگ در شرایط تنش کمبود فسفر نسبت به شرایط کفایت آن بیشتر بود (جدول ۳). افزایش غلظت کلروفیل در گیاهان مختلف و تنش‌های گوناگون گزارش شده است (۲۳ و ۲۷). محتوای کلروفیل برگ یکی از فاکتورهای مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی و تولید ماده خشک است (۳۸). به طور کلی، بین سطح آهن و غلظت کلروفیل گیاهان همبستگی مثبتی وجود دارد. بدین صورت که گیاهانی که غلظت آهن بیشتری دارند از غلظت کلروفیل بیشتری نیز برخوردار می‌باشند. عنصر آهن جزو ساختار کلروفیل نمی‌باشد. اما وجود مقدار کفایت این عنصر سبب بهبود کلروفیل‌سازی در گیاه می‌شود (۳۹). مطالعات نشان داده است که عنصر روی نیز در سنتز کلروفیل و حفظ رنگدانه‌ها نقش اساسی دارد (۲۴). همانتارانجان و گرگ (۲۸) بیان کردند که آهن و روی با تأثیر بر مقدار کلروفیل برگ، موجب تغییر در فتوسنتز و در نهایت عملکرد ماده خشک گیاه می‌شوند.

نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایط کمبود فسفر، غلظت روی در گیاه افزایش یافت. از این رو، با توجه به نقش عنصر روی در افزایش غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید، می‌توان یکی از دلایل افزایش غلظت کلروفیل و کاروتنوئید در شرایط کمبود فسفر را به افزایش غلظت عنصر روی در این شرایط مربوط دانست. از دلایل دیگر افزایش غلظت کلروفیل و کاروتنوئید در شرایط کمبود فسفر می‌توان به کاهش سطح برگ و افزایش وزن مخصوص برگ اشاره کرد (۲۰). نقش کاروتنوئید به عنوان آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی در تنش‌های اکسیداتیو مورد توجه قرار گرفته است. در بافت‌های فتوسنتزی، کاروتنوئیدها اختصاصاً وظیفه حفاظت از فتوسیستم‌ها را به عهده دارند. کاروتنوئیدها از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می‌دهند. رادیکال‌های آزاد اکسیژن علاوه بر صدمه به سلول‌های گیاهی، به عنوان مولکول‌های نشانگر عمل کرده و سبب فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی موجود زنده از جمله کاروتنوئیدها در برابر تنش می‌گردند. کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها با سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند. بدین صورت که کاروتنوئیدها از طریق جذب انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه، مولکول اکسیژن منفرد را به شکل سه تایی تبدیل می‌کنند و با حذف رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند (۲۰). بنابراین، با توجه به افزایش غلظت عنصر روی در شرایط کمبود فسفر و نیز نقش این عنصر در غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها، افزایش صفات مذکور دور از انتظار نیست.

تلقیح قارچ *P. indica* به ریشه گندم رقم نیک‌نژاد موجب کاهش غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید شد (جدول ۳). چنین به نظر می‌رسد که این کاهش به دلیل اثر رقت در گیاه باشد که با نتایج حاصل از وزن خشک شاخساره نیز هم‌خوانی دارد (جدول ۳). از طرف دیگر، غلظت آهن در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* کاهش یافت. بنابراین، احتمال می‌رود که کاهش غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید مربوط به کاهش غلظت آهن باشد.



شکل ۵. اثر قارچ *P. indica* در سطوح مختلف فسفر بر غلظت کارتنوئید برگ گندم



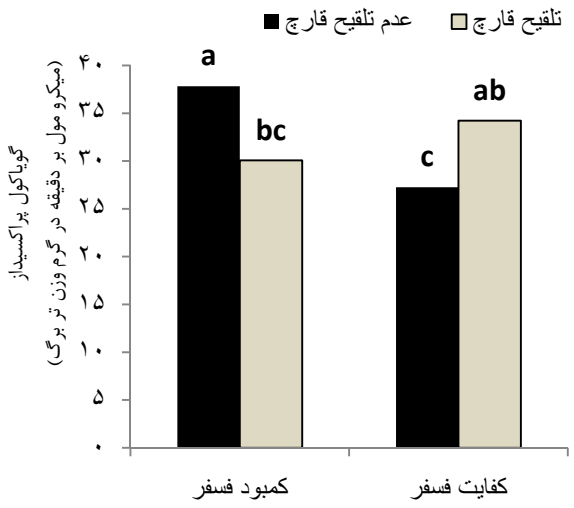
شکل ۶. اثر قارچ *P. indica* در سطوح مختلف فسفر بر فعالیت کاتالاز شاخساره گندم

همچنین، برهمکنش اثر فسفر و تلقیح قارچ اگرچه بر غلظت کلروفیل a، b معنی‌دار نبود، اما بر غلظت کاروتنوئید در سطح احتمال ۵٪ اثر معنی‌دار داشت (جدول ۲). تلقیح ریشه گیاه با قارچ *P. indica* در شرایط کمبود فسفر موجب کاهش غلظت کاروتنوئید گیاه نسبت به تیمار عدم تلقیح قارچ (شاهد) شد (شکل ۵).

قارچ *P. indica* از طریق افزایش جذب فسفر در شرایط کمبود فسفر (شکل ۲)، موجب کاهش اثرهای مضر تنش کمبود فسفر به گیاهان گندم شد که این می‌تواند در نهایت از طریق کاهش تولید ROS در گیاه موجب افزایش تحمل و کاهش پاسخ دفاعی غیرآنزیمی (کاروتنوئید) گیاه به شرایط تنش گردد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ گیاه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تلقیح قارچ تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه نداشت و اثر عامل فسفر نیز تنها بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردید (جدول ۲). با این حال، اثر برهمکنش قارچ و فسفر بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گویاکول پراکسیداز به ترتیب در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ معنی‌دار شد؛ اما بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نگردید (جدول ۲). فعالیت آنزیم کاتالاز در شاخساره گیاه در شرایط کمبود فسفر نسبت به شرایط کفایت این عنصر افزایش یافت (جدول ۳). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان یکی از اجزای مهم مکانیسم دفاعی گیاهان در شرایط کمبود فسفر مطرح است. زیرا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط تنش موجب کاهش خسارت به گیاه می‌شود (۱). عنصر روی در بیان ژن‌های مسئول کدگذاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی دارد (۱۷ و ۱۸) و سیستم سمیت‌زدایی آنزیمی در شرایط کمبود این عنصر آسیب می‌بیند. کک‌مک و مارشنر (۲۵) بیان کردند که روی برای فعالیت بیشتر آنزیم‌های درگیر در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن از جمله کاتالاز، گلوتاتیون رداکتاز و آسکوربات پراکسیداز مورد نیاز است. بنابراین، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط کمبود فسفر را می‌توان به غلظت زیاد عنصر روی در این شرایط نسبت داد. حضور قارچ *P. indica* در شرایط کمبود فسفر هر چند فاقد اثر معنی‌دار بر فعالیت آنزیم کاتالاز بود، اما سبب کاهش فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز شد. همچنین، در شرایط کفایت فسفر، قارچ *P. indica* موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گویاکول پراکسیداز نسبت به تیمارهای فاقد آلودگی قارچی (شاهد) گردید (شکل‌های ۶ و ۷).



شکل ۷. اثر قارچ *P. indica* در سطوح مختلف فسفر بر فعالیت گویاگول پراکسیداز شاخساره گندم

تحقیقات مختلف نشان داده که قارچ *P. indica* نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه به شرایط نامطلوب محیطی ایفا می‌کند (۲۸). کومار و همکاران (۲۹) نیز گزارش کردند که تلقیح قارچ *P. indica* موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه ذرت متأثر از قارچ‌های بیماری‌زا شد. این محققین همچنین بیان کردند که قارچ *P. indica* از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه جو سبب افزایش تحمل این گیاه به آلودگی قارچ بیماری‌زای فوزاریوم گردید. نتایج تحقیقات بیانگر تأثیر مثبت قارچ‌های میکوریزی بر افزایش تحمل گیاهان میزبان نسبت به دامنه وسیعی از تنش‌های محیطی است (۱۰ و ۱۲). بنابراین، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش فسفر را می‌توان با نشان دادن تأثیر مثبت قارچ *P. indica* بر وضعیت گیاه توجیه نمود. بدین صورت که در شرایط کمبود فسفر، این قارچ از طریق افزایش جذب فسفر و در نتیجه فراهم نمودن شرایط رشدی بهتر برای گیاه موجب کاهش اثرهای منفی تنش کمبود فسفر شده است. به عبارت دیگر، این قارچ از طریق بهبود وضعیت رشد گیاه و کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب کاهش خسارت اکسیداتیو و در نتیجه افزایش تحمل گیاه به کمبود فسفر می‌شود.

نتیجه‌گیری

تلقیح ریشه گندم با قارچ *P. indica* در شرایط هیدروپونیک و کمبود فسفر با دارا بودن اثر مثبت بر جذب فسفر، باعث کاهش فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز و غلظت کاروتنوئیدها و در نتیجه کاهش اثرهای مخرب تنش اکسیداتیو شد. نتایج این پژوهش به خوبی نشان می‌دهد که تلقیح قارچ *P. indica* می‌تواند به عنوان یکی از روش‌های زیستی مؤثر جهت تعدیل اثرهای مخرب کمبود فسفر در گیاه گندم رقم نیک‌نژاد و افزایش تحمل آن به تنش مذکور پیشنهاد گردد. البته جهت تثبیت نتایج، به مطالعات تکمیلی، به ویژه در شرایط طبیعی، نیاز است.

منابع مورد استفاده

۱. اسفندیاری، ع.، م. شکیبا، س. محبوب، ه. آلیاری و م. برادران فیروزآبادی. ۱۳۸۸. اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدی گیاهچه‌های گندم. مجله دانش کشاورزی ۱۹(۲): ۱۲۹–۱۳۸.

۲. افضلی، ف. ۱۳۸۳. اثر شوری و خشکی بر دو گونه بابونه *Matricaria aurea Loefl* و *Matricaria chamomilla* L. رساله دکتری خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

۳. ایرانشهر، ا.، ا. سپهر، م. ح. رسولی صدقیانی و ب. عبدالهی. ۱۳۹۰. مقایسه کارایی ارقام مختلف گندم در جذب فسفر از خاک فسفات. دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران.

۴. چمانی، ف.، د. حبیبی، ن. خدابنده، م. داودی فرد و ا. اصغرزاده. ۱۳۹۱. بررسی اثر تنش شوری بر عملکرد دانه و فعالیت آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدان گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک. مجله زراعت و اصلاح نباتات ۸(۳): ۳۹-۵۵.

۵. حق پرست، ه. ۱۳۸٦. بررسی میزان اسید فیتیک در نان‌های سنتی ایرانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس.

٦. خوشگفتارمنش، ا. ح. ۱۳۸۳. روی- کارایی برخی ارقام گندم در شرایط شوری خاک و همبستگی آن با گونه‌های روی و کادمیوم محلول خاک. رساله دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

۷. رضوانی، م.، م. ر. اردکانی، ف. رجالی، ق. نور محمدی، ف. زعفریان و س. تیموری. ۱۳۸۸. تأثیر سویه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزا روی ویژگی‌های ریشه و غلظت فسفر، پتاسیم، روی و آهن یونجه (*Medicagi sativa* L.). مجله دانش نوین کشاورزی ۱۵: ۵۵-٦٦..

۸. سپهر، ا.، م. ج. ملکوتی، ب. خلدبرین، ن. کریمیان و ع. صمدی. ۱۳۸۸. بررسی کارایی ارقام مختاف غلات از لحاظ جذب فسفر. مجله پژوهش‌های خاک (علوم آب و خاک) ۲۳(۲): ۱۲۵-۱۳۴.

۹. سلیسپور، م.، ع. بانیانی و م. کیانی راد. ۱۳۷۹. ارزیابی مزرعه‌ای کود فسفاته میکروبی و امکان جایگزینی آن با کودهای شیمیایی فسفری در زراعت پنبه. مجله علوم کشاورزی ایران ۲(۱۴): ۱۱۴ -۱۲۰.

۱۰. غلامی، ا. و ع. ر. کوچکی. ۱۳۸۰. میکوریز در کشاورزی پایدار. انتشارات دانشگاه شاهرود، ۲۱۲ صفحه.

۱۱. کافی، م. و ع. مهدوی دامغانی. ۱۳۷۹. مکانیسم‌های مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان. (ترجمه)، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۸۰ صفحه.

۱۲. مختاری، ح. ۱۳۸۹. تأثیر همزیستی میکوریزی بر رشد و برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ارقام گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) در سطوح مختلف شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

۱۳. ملکوتی، م. ج و م. همایی. ۱۳۸۳. حاصلخیزی خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک: مشکلات و راه‌حل‌ها. دفتر نشر آثار علمی دانشگاه تربیت مدرس، دانشگاه تربیت مدرس، ۴۸۸ صفحه.

14. Achatz, B., S. von Rüden, D. Andrade, E. Neumann, J. Pons-Kühnemann, K.H. Kogel, P. Franken and F. Waller. 2010. Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. Plant Soil 333: 59-70.
15. Aebi, H. 1974. Catalase. PP. 673–677. *In:* Bergmeyer, H.U. (Ed.), Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, New York.
16. Agastian, P., S.J. Kingsley and M. Vivekandan. 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. Photosynth. 38(2): 287-290.
17. Allen, R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol. 107: 1049-1054.
18. Alscher, R.G., J.L. Donahue and C.L. Cramer. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. Physiol. Plant. 100: 224-233.
19. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23: 112-121.
20. Arora, M., R.K. Sairam and G.C. Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. Plant Physiol. 82: 1227-1237.
21. Artursson, V., R.D. Finlay and J.K. Jansson. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environ. Microbiol. 8: 1-10.
22. Baltruschat, H., J. Fodor, B.D. Harrach, E. Niemczyk, B. Barna, G. Gullner, A. Janeczko, K.H. Kogel, P. Schafer, I. Schwarczinger, A. Zuccaro and A. Skoczowski. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. New Phytol. 180: 501-510.
23. Belkhadi, A., H. Hediji., Z. Abbes and I. Nouairi. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum*. Ecotoxicol. Environ. Safety 73(5): 1004-1011.
24. Cakmak, I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytol. 146: 185-205.
25. Cakmak, I and H. Marschner. 1988. Enhanced superoxide radical production in roots of zinc deficient plants. J. Exp.

Bot. 39: 1449-1460.
26. Chapman, H. and P. Pratt. 1961. Plant analysis. PP. 56–64. *In:* Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters, Div. Agric. Sci., University of California.
27. El-Tayeb, M.A., A.E. El-Enany and N.L. Ahmed. 2006. Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus L.*). Plant Growth Regul. 50(2-3): 191-199.
28. Hemantaranjan, A and O.K. Garg. 1988. Iron and zinc fertilization with reference to the grain quality of *Triticum aestivum* L. J. Plant Nutr. 11(6-11): 1439-1450.
29. Kumar, M., V. Yadav, N. Tuteja and A.K. Johri. 2009. Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiol. 155: 780-790.
30. Liu, A., C. Hamel, R.I. Hamilton, B.L. Ma and D.L. Smith. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. Mycorrhiza 9: 331-336.
31. Monnet, F., N. Vaillant, P. Vernay, A. Coudret, H. Sallanon and A. Hitmi. 2001. Relationship between PSII activity, CO_2 fixation, and Zn, Mn and Mg contents of *Lolium perenne* under zinc stress. J. Plant Physiol. 158: 1137-1144.
32. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
33. Nedjimi, B. and Y. Daoud .2009. Ameliorative effect of $CaCl_2$ on growth, membrane permeability and nutrient uptake in *Atriplex halimus subsp schweinfurthii* grown at high (NaCl) salinity. Desalination 249(1): 163-166.
34. Oelmüller, R., I. Sherameti, S. Tripath and A. Varma. 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. Symbiosis 19: 1-19.
35. Rao, M.V., G. Paliyath and D.P. Ormrod. 1996. Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. 110: 125-136.
36. Reinhardt, D. 2007. Programming good relations- development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Curr. Opin. Plant Biol. 10: 98-105.
37. Richardson, A.E., P.J. Hocking, R.J. Simpson and T.S. George. 2009. Plant mechanisms to optimise access to soil phosphorus. Crop Past. Sci. 60: 124-143.
38. Sharma, P.N., N. Kumar and S.S. Bisht.1994. Effect of zinc deficiency on chlorophyll content, photosynthesis and water relations of cauliflower plants. Photosynth. 30: 353-359.
39. Suh, H.J., C.S. Kim, J.Y. Lee and J. Jung. 2002. Photodynamic effect of iron excess on photosystem II function in pea plants. Photochem. Photobiol. 75(5): 513-518.
40. Sun. C., J.M. Johnson, D. Cai, I. Sherameti, R. Oelmüller and B. Lou. 2010. *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. J. Plant Physiol. 167: 1009-1017.
41. Suzuki, N. and R. Mittler. 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. Physiol. Plant. 126(1): 45-51.
42. Turnau, K., P. Ryszka, V. Gianinazzi-Pearson and D.V. Tuinen. 2001. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc waters in southern Poland. Mycorrhiza 10: 169-174.
43. 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.
44. Waller, F., B. Achatz, H. Baltruschat, J. Fodor, K. Becker, M. Fischer, T. Heier, R. Huckelhoven, C. Neumann, D. von Wettstein, P. Franken and K.H. Kogel. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proc. of the National Academy of Sciences, USA, 102: 13386-13391.
45. Wang, Y. and Y. Zhang. 2009. Soil-phosphorus distribution and availability as affected by greenhouse subsurface irrigation. J. Plant Nutr. Soil Sci. 173(3): 345-352.
46. Yadav, V., M. Kumar, D.K. Deep, H. Kumar, R. Sharma, T. Tripathy, N. Tuteja, A.K. Saxena and A.K. Johri. 2010. A phosphate transporter from a root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in the phosphate transfer to the plants. J. Biol. Chem. 285: 26532-26544.