بررسی اثر تنش خشکی و قارچ میکوریزا بر صفات کیفی و فعالیت‌های آنزیمی گلرنگ

Effect of drought conditions and mycorrhiza on yield components and enzime activity of safflower (*Carthamus tinctorius .L*)

امیر مؤمنی*[۱]، حسینعلی شیبانی[۲]، محمدرضا ممیزی[۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین- پیشوا، ورامین – ایران.
۲- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین- پیشوا، ورامین – ایران.

نویسنده مسوول مکاتبات: dr sheybani@iauvaramin.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۱۲

چکیده

خشکسالی در سال‌های اخیر کمبود آب را در بخش کشاورزی از هر زمان دیگری ملموس‌تر ساخته است. تحقیقی به‌منظور بررسی اثر قارچ مایکوریزا بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius .L*) در شرایط تنش کم آبی انجام شد. آزمایش در مزرعه آموزشی –پژوهشی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا واقع در استان تهران - شهرستان ورامین در سال ۱۳۹۲ به‌صورت کرت‌های خرد شده و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل کرت اصلی، تنش خشکی در سه سطح: ۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (آبیاری معمول)، ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (تنش متوسط) و ۱۳۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (تنش شدید) و عامل دوم تلقیح بذر با قارچ میکوریزا در چهار سطح شامل: عدم تلقیح (شاهد B_1)، ۱۰۰ میلی‌گرم قارچ میکوریزا B_2، ۲۰۰ میلی‌گرم قارچ میکوریزا B_3 و ۳۰۰ میلی‌گرم قارچ میکوریزا B_4 بودند. نتایج نشان داد که کاربرد میکوریزا تأثیر معنی‌داری بر درصد روغن و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز داشت. همچنین تأثیر تنش خشکی بر میزان پرولین، درصد پروتئین و روغن و همچنین فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز معنی‌دار بود. اثر متقابل تنش خشکی و کاربرد میکوریزا نیز معنی‌دار بود و کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم میکوریزا به‌همراه آبیاری معمول بیش‌ترین تأثیر را در صفات اندازه‌گیری شده داشت. بیش‌ترین و کم‌ترین درصد روغن در تلقیح بذر با ۲۰۰ میلی‌گرم قارچ میکوریزا (B_3) و شاهد (B_1) به ترتیب با میانگین‌های ۲۸/۱۱ و ۲۳/۴۴ درصد حاصل شد. همچنین بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۱۳۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A3 (تنش شدید) و ۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A_1 (آبیاری معمول) به‌ترتیب ۱۶/۶ و ۹/۷ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه به دست آمد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار تنش شدید خشکی (۸/۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و کم‌ترین میزان آن در تیمار عدم تنش خشکی (۴/۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) بود.

واژگان کلیدی: گلرنگ، تنش خشکی، مایکوریزا، آنزیم آنتی اکسیدانت، صفات کیفی.

مقدمه

اکثر گیاهان عالی قادر به برقراری زندگی همزیستی با قارچ‌های خاکزی هستند. از رایج‌ترین ارتباط‌های همزیستی موجود در گیاهان، همزیستی مایکوریزایی است. به‌طوری‌که ۹۵ درصد گیاهان آوندی حداقل با یکی از انواع قارچ‌های مایکوریزا قادر به برقراری ارتباط همزیستی می‌باشند. متاسفانه امروزه کاربرد سموم و قارچ‌ها باعث برهم خوردن تعادل موجود در روابط همزیستی قارچ و ریشه گیاهان گردید. در همزیستی گیاهان با قارچ مایکوریزا، سیستم ریشه‌ای از سطح فعال بالاتری برخوردار بود و توانایی جذب مناسب‌تر عناصر غذایی از خاک را دارا می‌باشد (قلاوند و همکاران، ۱۳۸۵). متداول‌ترین همزیستی قارچ مایکوریزا با ریشه گیاهان مخصوصا گیاهان زراعی، وزیکولار– آربوسکولار است. انتقال مواد بین سلول‌های کورتکس ریشه گیاه کلونیزه شده با قارچ و آربوسکول‌های قارچ، مهم‌ترین مشخصه‌ی همزیستی میکوریز آربوسکولار می‌باشند. همزیستی قارچی مواد کربوهیدارتی را عمدتاً به‌شکل ساکارز از گیاه دریافت می‌کند و عناصر غذایی (عمدتاً فسفر) را در اختیار گیاه قرار می‌دهد. به این ترتیب که عناصرغذایی از غشای آربوسکول از طریق حامل‌های غشایی که با شیب پروتون عمل می‌کنند به‌صورت فعال در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و مواد کربوهیدراتی موجود در آوند آبکش گیاه ابتدا توسط قارچ به گلوکز و فروکتوز تبدیل شده و سپس توسط حامل‌ها جذب می‌شود (Smith *et al.*, 2010). قارچ‌های میکوریزای وزیکولار– آربوسکولار در سال‌های اخیر برای مقابله با کم آبی و تنش‌های خشکی در بسیاری از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (Song, 2005). مطالعات بوم‌شناسی و فیزیولوژیکی اثبات کرد اغلب همزیستی میکوریزایی باعث جذب بهتر آب از خاک می‌شود. قارچ‌های مایکوریزا، باعث افزایش سطح جذب ریشه می‌شوند و به گیاه میزبان کمک می‌کنند تا میزان آب بیش‌تری از خاک جذب نماید (Auge *et al.*, 2001). قارچ‌های میکوریزا در گیاهانی که دارای ریشه‌های بدون انشعاب هستند، کارایی بیش‌تری دارند. همزیستی میکوریزا اغلب منجر به تغییر سرعت حرکت آب در خارج و داخل گیاهان میزبان شده و بر آبگیری بافت و فیزیولوژی برگ تأثیر می‌گذارد (Auge *et al.*, 2001). گاهی اوقات رابطه همزیستی میکوریزا از طریق اجتناب از خشکی، گیاهان را در مقابل تنش حفظ می‌کند و این کار را با افزایش جذب عناصر فسفر و سایر عناصر ضروری برای رشد و توسعه گیاه انجام می‌دهد (Auge *et al.*, 2001).

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش دهنده محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند. تنش باعث می‌شود که تعادل بین رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) و دفاع ضداکسنده در بخش‌های مختلف گیاه از بین برود (Bai and sui, 2006). این رادیکال‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال سوپراکسید (O_2)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (OH)، رادیکال آلکاکسیل (Ro)، رادیکال پروکسیل (Roo)، هیدروپراکسیل‌های آلی (ROOH)، اکسیژن منفرد (O_2) و رادیکال پرهیدروکسیل (O_2) می‌باشند (Arora *et al.*, 2002). رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) به‌طور بالقوه دارای پتانسیلی هستند که با بسیاری از ترکیبات سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشای و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شوند (Blockina *et al.*, 2002). بنابراین میزان آن باید در سلول کنترل شود. گیاهان با دارا بودن سیستم ضداکسنده که شامل ترکیبات آنزیمی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، اسکوربیت پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز) و غیرآنزیمی (اسید اسکوربیک، گلوتاتیون، کارتنوئیدها و توکوفرول) است معمولاً سطوح ROS را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارد (Al-Aghabary *et al.*, 2004). امروزه برخی از محققان معتقدند که افزایش میزان آنتی اکسیدانت‌ها (GPX, SOD, CAT) تحمل گیاه را به تنش‌های محیطی افزایش می‌دهند (اسفندیاری و همکاران، ۱۳۸۷). پوراسماعیل و همکاران (۱۳۸۵) در بررسی که بر گیاه لوبیا قرمز انجام دادند، اظهار داشتند که تنش خشکی سبب کاهش صفت زراعی (عملکرد و

اجزای عملکرد) و افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت (شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) شد.

افزایش آنزیم‌های فوق در شرایط تنش خشکی نشان دهنده‌ی اثر این آنزیم‌ها در کاهش خسارات تنش اکسیداتیو و نقش مهم آنها در مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌باشد. تنش خشکی تأثیر سویی بر مراحل رویشی و زایشی گیاه کلزا دارد. تأثیر تنش بر روی رشد تولید مثلی در مقایسه با رشد رویشی شدیدتر است (Ghobadi *et al*., 2006). در دانه سویا نیز چنین پدیده‌ای مشاهده شد (Specht *et al*., 2001). در بررسی که بر گیاه لوبیا قرمز انجام دادند، اظهار داشتند که تنش خشکی سبب کاهش صفت زراعی (عملکرد و اجزای عملکرد) و افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان (شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) گردید. محققان بیان نمودند که افزایش آنزیم‌های فوق در شرایط تنش خشکی نشان دهنده اثر این آنزیم‌ها در کاهش خسارات تنش اکسیداتیو و نقش مهم آنها در مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌باشد. کاربرد کود زیستی با ۵۰ درصد نیتروژن شیمیایی، فسفر و پتاسیم (NPK) موجب افزایش رشد پوششی گیاه گلرنگ، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، وزن خشک و تر و مقدار کلی کربوهیدرات در مقایسه با کود شیمیایی شد (Mahfouze and Sharafeldin, 2007). این تحقیق به‌منظور بررسی اثر جذب فسفات با کاربرد مایکوریزا در شرایط تنش خشکی بر خصوصیات بیوشیمیایی و کیفی گلرنگ در در منطقه ورامین صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین به‌صورت کرت‌های خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل کرت اصلی تنش خشکی در سه سطح: ۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (آبیاری معمول)، ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (تنش متوسط)، ۱۳۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (تنش شدید) و کرت فرعی تلقیح بذر با قارچ میکوریزا در چهار سطح شامل: عدم تلقیح (شاهد)، ۱۰۰ میلی‌گرم قارچ میکوریزا در ۵۰۰ گرم بذر ، ۲۰۰ میلی‌گرم قارچ میکوریزا در ۵۰۰ گرم بذر و ۳۰۰ میلی‌گرم قارچ میکوریزا در ۵۰۰ گرم بذر بودند. به‌منظور آماده سازی زمین و بستر بذر، زمین توسط گاوآهن برگردان‌دار شخم زده شد، سپس در دو نوبت به صورت عمودی برهم دیسک زده شد و با استفاده از لولر تسطیح گردید. قبل از اجرای آزمایش نمونه‌هایی از خاک مزرعه تهیه و در نهایت نمونه‌ها را با هم مخلوط و یک نمونه مرکب تهیه شد که نتایج آزمون خاک در جدول یک آمد. کشت در اوایل اسفندماه، به‌صورت خشکه‌کاری و با دست در حفراتی به عمق پنج سانتی‌متر انجام گردید. کشت بذر با تراکم بالا انجام گرفت و در مرحله چهار تا شش برگی با انجام تنک به تراکم لازم، رسید. پنج ردیف کاشت در هر کرت (کرت فرعی) و فاصله خطوط ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین دو بوته گلرنگ پنج سانتی‌متر بود و تراکم ۳۲ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. طول خطوط کاشت پنج متر است و دو ردیف کناری و همچنین نیم متر از ابتدا و انتهای هر ردیف، به‌عنوان حاشیه در نظر گرفته شد. آبیاری مزرعه به‌صورت نشتی و بر اساس ۵۰، ۹۰ و ۱۳۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A انجام پذیرفت. دور آبیاری براین اساس به‌ترتیب هفت، ده و سیزده روز انجام گردید. دور آبیاری هفت روز (۵۰ میلی متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A) عنوان شاهد درنظر گرفته شد. اعمال تنش خشکی در زمان چهار تا شش برگی آغاز گردید. وجین علف هرز به‌روش دستی انجام شد. آفت مهمی در طول دوره آزمایش دیده نشد. بنابراین عملیات مبارزه با آفات انجام نگردید. با توجه به آزمون خاک میزان کود نیتروژنه از منبع کود شیمیایی اوره ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار به‌میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار هم‌زمان با کاشت و ۸۰ کیلوگرم در هکتار در دو نوبت در زمان سبز شدن و ساقه‌دهی به‌صورت سرک مصرف گردید. برای سنجش پروتئین از روش کجدال استفاده شد. با استفاده از ضریب ۶/۲۵ میزان پروتئین سنجیده

شد. جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز SOD از روش (Misra, 1972) استفاده شد. از آنزیم استاندارد و خالص برای استاندارد شدن نتایج استفاده شد که هر واحد آن قادر به اکسیداسیون ۰/۵ میلی‌مول اپی نفرین در یک دقیقه می‌باشد. اندازه‌گیری کاتالاز بر اساس روش پاگلیا (Paglia, 1987) انجام گرفت. یک واحد فعالیت آنزیم کاتالاز معادل نسبت تبدیل آب اکسیژنه در مدت یک دقیقه هنگامی که واکنش درجه اول پیش برود در نظر گرفته شد. سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز براساس روش پاگلیا (Paglia, 1987) انجام گرفت. یک واحد از فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معادل آنزیمی که بتواند (یک میکرومول) از سوبسترا (NADPH) را در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شد، برای استاندارد شدن از نمونه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز استاندارد استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش، از نرم افزار SAS 9.1، و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1. Physical and chemical properties of soil

Texture بافت	K پتاس قابل جذب (mgl^{-1})	P فسفرقابل جذب (mgl^{-1})	N نیتروژن کل (%)	OC ازت کل (%)	EC شوری (Ds.m)	pH اسیدیته
لومی شنی Sandy loam	332	54	0.124	0.94	2.76	7.79

جدول ۲- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز تحت تاثیر تیمارهای تنش خشکی و کود زیستی

Table 2. Super oxidase enzyme analysis of variance, catalase and glutathione peroxidase drought and bio-fertilizer treatments

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	گلوتاتیون پراکسیداز GTX	کاتالاز COT	سوپر اکسیداز دیسموتاز SOD
Replication	تکرار	2	7.950*	9.160 ns	5858 ns
Water stress (A)	تنش خشکی	2	35.94**	144.1**	112297**
The main error (Ea)	خطای اصلی	4	2.777	10.08	7750
Bio fertilizer (B)	کود زیستی	3	5.994*	21.34**	7714 ns
Interaction A*B	اثر متقابل A*B	6	2.018 ns	7.971 ns	6602 ns
Sub error (Eb)	خطای فرعی (Eb)	18	1.957	7.293	3458
Total	کل	35			

ns عدم تفاوت معنی‌دار و * در سطح پنج و ** در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

ns * and **: Non significant, Significant at the 5% and 1% probability levels respectively.

جدول ۳- اثرات ساده تیمار آبیاری و تنش خشکی بر روی فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز

Table 3. Effects of irrigation and drought stress on Super oxidase enzyme activity, catalase and glutathione peroxidase

تنش خشکی Water strres	گلوتاتیون پراکسیداز GTX (mgprotien.min)	کاتالاز COT (mgprotien.min)	سوپر اکسیداز دیسموتاز SOD (mgprotien.min)
۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (بدون تنش) 50 mlm evaporation of washbasin (non stress)	4.9[b]	9.7[b]	334[b]
۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (تنش متوسط) 90 mlm evaporation of washbasin (medium stress)	6.6[ab]	13.6[a]	446[a]
۱۳۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (تنش شدید) 130 mlm evaporation of washbasin (severe stress)	8.4[a]	16.6[a]	526[a]

در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means with same letters in same column are not significant at P<0.05

جدول ۴- اثرات ساده تیمار کود زیستی مایکوریزا بر فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار کود زیستی

Table 4. Mycorrhiza biological effects of fertilizer on Super oxidase enzyme activity, catalase and glutathione peroxidase in bio-fertilizer

کود زیستی Bio fertilizer	گلوتاتیون پراکسیداز GTX (mgprotien.min)	کاتالاز CAT (mgprotien.min)	سوپر اکسیداز دیسموتاز SOD (mgprotien.min)
شاهد Control	5.78[b]	11.22[b]	402[b]
۱۰۰ میلی‌گرم 100 mlg	6.23[b]	12.47[b]	420[ab]
۲۰۰ میلی‌گرم 200 mlg	7.63[a]	15.20[a]	454[ab]
۳۰۰ میلی‌گرم 300 mlg	6.97[ab]	13.87[ab]	465[a]

در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means with same letters in same column are not significant at P<0.05

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

نتایج نشان داد اثر ساده تنش خشکی بر فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز اثر معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد. اما اثر ساده تیمار کود زیستی و اثر متقابل کود زیستی و تنش خشکی بر سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار نبود (جدول دو). مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز در گیاه گلرنگ شد. بیش‌ترین میزان این آنزیم از تیمار تنش شدید خشکی (۵۲۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و کم‌ترین میزان از تیمار عدم تنش خشکی (۳۳۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) به دست آمد (جدول سه). سوپراکسید دیسموتاز، برای تحمل گیاهان به کمبود آب در طی تنش اکسیداتیو، بسیار مهم است که این موضوع توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (McKersie *et al*., 2000). در این آزمایش با اعمال تنش خشکی میزان آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز ، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز نیز افزایش یافت که سبب ایجاد تحمل گیاه نسبت به تنش خشکی گردید.

آنزیم کاتالاز

نتایج نشان داد اثر ساده تنش خشکی بر فعالیت آنزیم کاتالاز و کاربرد کود زیستی در سطح احتمال یک درصد بود. بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود، اما اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی از نظر آماری تاثیر معنی‌دار بر آنزیم کاتالاز نداشت (جدول دو). بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح تنش خشکی از تیمار تنش شدید (۱۶/۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و کم‌ترین آن از تیمار شاهد (۹/۷ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) به‌دست آمد (جدول سه). در بین تیمارهای کود زیستی نیز بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم (۱۵/۲۰ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد و بین سایر سطوح قارچ مایکوریزا اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول چهار). گزارش شده است که سنتز آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، یک پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد (Mittler, 2002). همان طور که در جدول شماره سه مشاهده شد با افزایش میزان تنش خشکی، فعالیت آنزیم کاتالاز بیش‌تر گردید که این امر سبب افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش خشکی می‌باشد.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات ساده تیمار کود زیستی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سطح یک درصد تاثیر معنی‌دار داشت. اما اثر متقابل کود زیستی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معنی‌دار نشد (جدول دو).

مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد کود زیستی سبب افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گلرنگ شد و بیش‌ترین میزان آن در تیمار تلقیح بذر با ۳۰۰ میلی‌گرم (۶/۶۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و کم‌ترین میزان آن از تیمار عدم مصرف کود زیستی (۵/۷۸ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد (جدول چهار). همچنین تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گیاه گلرنگ شد و بیش‌ترین میزان پراکسیداز از تیمار تنش شدید خشکی (۸/۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و کم‌ترین میزان آن در تیمار عدم تنش خشکی (۴/۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) بود (جدول سه). فتحی امیرخیز و همکاران (۱۳۹۰) در شرایط تنش خشکی، افزایش سه برابری آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را گزارش کردند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

جدول ۵- تجزیه واریانس محتوای نسبی آب برگ، هدایت الکتریکی برگ و پرولین گلرنگ در تیمارهای تنش خشکی و کود زیستی

Table 5. Analysis of variance relative water content, leaf conductance and proline oil in water stress treatments and bio-fertilizer

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	هدایت الکتریکی برگ EC	محتوای نسبی آب برگ RWC	پرولین Proline
تکرار Replication	2	477.7^{ns}	8.583^{ns}	6256^{ns}
تنش خشکی (A) Water stress	2	5153^{**}	189.5^{**}	81247^{**}
خطای اصلی (Ea) main error	4	330.5	9.916	4490
کود زیستی (B) Biofertilizer	3	1295^{**}	261.1^{**}	2511^{ns}
اثر متقابل A*B Intraction	6	484.1^{*}	24.36^{ns}	19773^{ns}
خطای فرعی (Eb) Sub error	18	145.9	26.25	9542
کل Total	35			

ns عدم تفاوت معنی‌دار و * در سطح پنج و ** در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

ns * and **: Non significant, Significant at the 5% and 1% probability levels respectively.

جدول ۶ - اثرات ساده تیمار کود زیستی مایکوریزا بر محتوای نسبی آب برگ، هدایت الکتریکی برگ و پرولین در تیمار کود زیستی

Table 6. Mycorrhiza biological effects of fertilizer on the relative water content, leaf conductance and proline bio fertilizer

کود زیستی biofertilizer	هدایت الکتریکی برگ EC (µmos.cm)	محتوای نسبی آب برگ RWC (٪)	پرولین Proline (µmol.gFw)
شاهد witness	157^{a}	62^{b}	677^{a}
۱۰۰ میلی‌گرم mlg ۱۰۰	137^{b}	71^{a}	714^{a}
۲۰۰ میلی‌گرم 200 mlg	130^{b}	74^{a}	687^{a}
۳۰۰ میلی‌گرم 300 mlg	133^{b}	70^{a}	681^{a}

در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means with same letters in same column are not significant at P<0.05

پرولین، محتوی نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد پرولین تحت تاثیر اثرات ساده تنش خشکی قرارگرفت و اختلافات به وجود آمده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اما اثرات ساده تیمار کود زیستی و همچنین اثر متقابل کود زیستی و تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر پرولین برگ نداشت (جدول پنج). مقایسه میانگین نشان داد تنش خشکی سبب افزایش میزان پرولین در گیاه گلرنگ شد و بیش‌ترین میزان پرولین از تیمار تنش شدید خشکی (۷۷۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) و کم‌ترین آن در تیمار عدم تنش خشکی (۶۱۰ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) به دست آمد (جدول شش). فرخی و همکاران (۱۳۸۳) در بررسی‌های خود بر گیاه سویا بیان داشتند که اثر خشکی بر پرولین موجود در بافت گیاهی معنی‌دار شد و با افزایش تنش خشکی میزان پرولین افزایش یافت. بر اساس این آزمایش با افزایش میزان پرولین، محتوای نسبی آب برگ نیز کاهش نشان داد، افزایش پرولین حاکی از افزایش شدت تنش خشکی و کاهش آب در گیاه است که این امر منجر به کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود. در این آزمایش با استفاده از کود مایکوریزا، میزان تنش خشکی کاهش پیداکرد و میزان محتوای نسبی آب برگ در گیاه افـزایش یافت.

.

جدول ۷- تجزیه واریانس درصد روغن، عملکرد روغن و درصد پروتئین گلرنگ در تیمارهای تنش خشکی و کود زیستی

Table 7. Analysis of variance of oil, safflower oil and protein yield in drought stress treatments and bio-fertilizer

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	درصد پروتئین Protein percentage	عملکرد روغن Oil yield	درصد روغن Oil percentage
تکرار Replication	2	23.52^{*}	6698^{ns}	0.083^{ns}
تنش خشکی (A) Water stress	2	16.69^{*}	150917^{**}	12.33^{*}
خطای اصلی (Ea) main error	4	1.069	3165	2.291
کود زیستی (B) Biofertilizer	3	8.694^{ns}	117512^{**}	39.73^{**}
اثر متقابل A*B Intraction	6	1.583^{ns}	32244^{**}	11.81^{*}
خطای فرعی (Eb) Sub error	18	4.037	4737	3.481
کل Total	35	7.71	12.99	14.32

ns عدم تفاوت معنی‌دار و * در سطح پنج و ** در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

ns * and **: Non significant, Significant at the 5% and 1% probability levels respectively.

جدول ۸- اثرات ساده تیمار آبیاری و تنش خشکی بر روی درصد روغن، عملکرد روغن و درصد پروتئین گلرنگ در تیمار تنش خشکی

Table 8. Effects of irrigation and drought stress on the percentage of oil, safflower oil and protein yield in drought stress

تنش خشکی Water stress	درصد پروتئین (٪) Protein percentage	عملکرد روغن ($g.m^{-2}$) Oil yield	درصد روغن (٪) Oil percentage
۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (بدون تنش) 50 mlm evaporation of washbasin (non stress)	18.2^{a}	756^{a}	27.7^{a}
۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (تنش متوسط) 90 mlm evaporation of washbasin (medium stress)	18.1^{a}	624^{b}	26.1^{ab}
۱۳۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (تنش شدید) 130 mlm evaporation of washbasin (severe stress)	16.1^{b}	533^{c}	25.9^{b}

در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means with same letters in same column are not significant at P<0.05

جدول ۹- اثرات ساده تیمار کود زیستی مایکوریزا بر روی درصد روغن، عملکرد روغن و درصد پروتئین گلرنگ در تیمار کود زیستی
Table 9. Mycorrhiza biological effects of fertilizer on the percentage of oil, safflower oil yield and protein content in biological fertilizer

کود زیستی Biofertilizer	درصد پروتئین(٪) Protein percentage	عملکرد روغن ($g.m^{-2}$) Oil yield	درصد روغن(٪) Oil percentage
شاهد witness	16.55[b]	470[b]	23.55[b]
۱۰۰ میلی‌گرم 100 mlg	17.44[ab]	663[a]	26.77[a]
۲۰۰ میلی‌گرم 200 mlg	17.22[ab]	707[a]	28.11[a]
۳۰۰ میلی‌گرم 300 mlg	18.88[a]	712[a]	27.88[a]

در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.
Means with same letters in same column are not significant at P<0.05

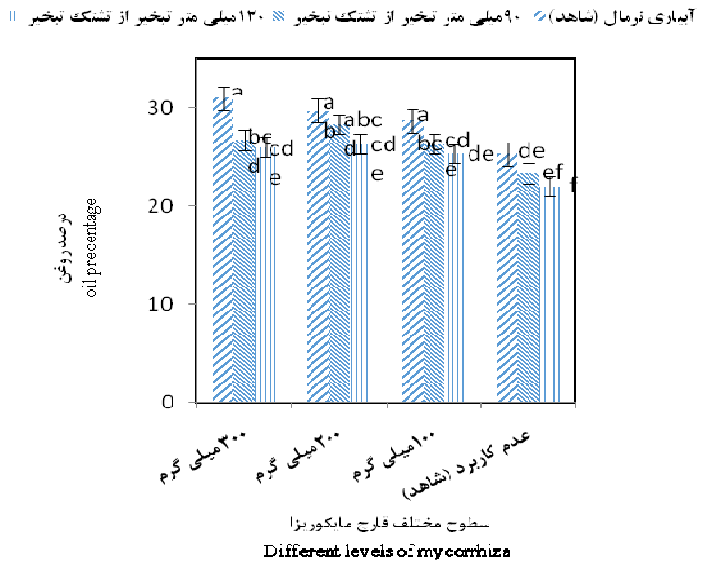
درصد و عملکرد روغن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده قارچ مایکوریزا و تنش خشکی و اثر متقابل مصرف کودهای زیستی و تنش خشکی بر درصد روغن در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول هفت). تنش خشکی سبب کاهش درصد روغن گیاه گلرنگ شد و بیش‌ترین میزان درصد روغن از تیمار عدم تنش خشکی (۲۷/۷ درصد) و کم‌ترین میزان آن از تیمار تنش شدید (۲۵/۹ درصد) به‌دست آمد (جدول هشت).

نادری‌درباغشاهی و همکاران (۱۳۸۴) اظهار داشتند با اعمال تنش خشکی در گلرنگ عملکرد روغن به‌شدت کاهش یافت ولی از طرفی با افزایش شدت تنش در سطوح بعدی افت عملکرد شدت کم‌تری داشت. عملکرد روغن تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. رشدی و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند که درصد روغن گیاه آفتابگردان تحت تأثیر کود زیستی افزایش یافت که دلیل افزایش درصد روغن به‌دلیل افزایش فراهمی عناصر غذایی است که در اختیار گیاه قرار گرفته است. بر اساس گزارش سایر محققان تنش خشکی باعث کاهش میزان باروری دانه گرده می‌گردد که خود سبب کاهش میزان دانه‌بندی در گیاه و همچنین کاهش وزن هزار دانه و در نتیجه کاهش میزان عملکرد دانه می‌شود (توکلی، ۱۳۸۱). کاهش میزان دانه‌بندی باعث کاهش میزان روغن و پروتئین در گیاه می‌گردد. در این آزمایش، استفاده از کود مایکوریزا سبب افزایش جذب آب توسط ریشه گردید و کمبود آب در گیاه را جبران نمود، در نتیجه از کاهش عملکرد دانه جلوگیری شد. تیمارهای اعمال شده بر عملکرد روغن که تابعی از عملکرد دانه و درصد روغن می‌باشد، تأثیر معنی‌داری داشتند. میرزاخانی و همکاران (Mirzakhani *et al*., 2009) افزایش میزان روغن را در اثر کاربرد کودهای زیستی تأیید کردند.

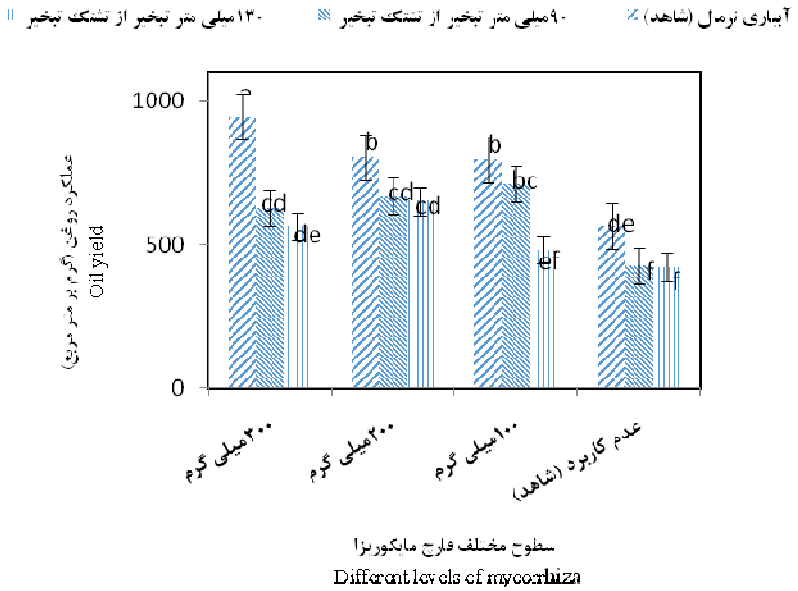
درصد پروتئین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده تنش خشکی بر درصد پروتئین اثر معنی‌داری در سطح پنج درصد داشت. اما اثرساده کود زیستی مایکوریزا و اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی مایکوریزا بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول نه). در بین سطوح تنش خشکی بیش‌ترین و کم‌ترین درصد پروتئین به ترتیب در تیمارهای تنش شدید (۱۳۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) و عدم تنش خشکی با میانگین ۱۸/۲ و ۱۶/۱ درصد حاصل شد (جدول هشت). بیش‌تر بودن درصد پروتئین در شرایط تنش خشکی می‌تواند با کاهش طول دوره رشد و نمو مرتبط باشد که سبب کاهش نسبت روغن به پروتئین و در نتیجه افزایش درصد پروتئین می شود (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۹). افزایش درصد پروتئین در شرایط تنش خشکی با نتایج برخی از پژوهشگران مطابقت دارد (Jalilian *et al*., 2008).



شکل ۱- میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش خشکی بر درصد روغن

Figure 1. Mycorrhizal fungi means of interaction between the different levels and different levels of drought stress on oil content



شکل ۲- میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش خشکی بر عملکرد روغن

Figure 2. Mycorrhizal fungi means of interaction between the different levels and different levels of drought stress on oil yield

منابع

References

آلیاری، ه.، شکاری، ف. و شکاری، ف. ۱۳۷۹. دانه‌های روغنی زراعت و فیزیولوژی. انتشارات عمیدی.

اسفندیاری، ع.، محبوب، س. و شکاری، ف. ۱۳۸۷. اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال، مکانیسم‌های محافظتی گیاه و ضرورت توجه به آن. مقالات کلیدی دهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج. صفحه‌های ۱ – ۸.

پوراسماعیل، پ.، حبیبی، د. و مشهدی‌اکبر بوجار.، م. ۱۳۸۵. بررسی استفاده از پولیمر سوپر جاذب آب در افزایش عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در ارقام مختلف لوبیا قرمز تحت تنش خشکی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج .

رشدی، م.، رضادوست، س.، خلیلی محله، ج.، حاجی حسنی‌اصل، ن. ۱۳۸۸. تأثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد سه رقم آفتابگردان روغنی. مجله علمی- پژوهشی علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، سال سوم، شماره ۱۰.

فتحی امیرخیز، ک.، امینی دهقی، م.، مدرس ثانوی، س.م.، رضازاده، ع. و حشمتی، س. ۱۳۹۰. اثر مصرف آهن بر فعالیت آنزیمی، عملکرد دانه و میزان روغن دانه گلرنگ در شرایط کمبود آب. مجله علوم زراعی ایران. جلد ۱۳. شماره ۲. صفحه ۴۶۵-۴۵۲.

قلاوند، ا. حمیدی،ا.، دهقان شعار، م.، ملکوتی، م.ج.، اصغرزاده، ا، و، چوگان، ر. ۱۳۸۵. کاردبرد کودهای زیستی راهبردی بوم شناختی برای مدیریت پایدار بوم نظام های زراعی. نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه تهران- پردیس ابوریحان.

نادری درباغشاهی، م.ر.، بنی طباء، ع.ر.، شهسواری، م.ر. و جوانمرد، ح.ر. ۱۳۸۶. بررسی تأثیر تنش خشکی بر زودرسی گلرنگ پاییزه در منطقه اصفهان. مجله پژوهش در علوم کشاورزی، سال سوم، شماره دوم، صفحات ۱۵۰-۱۳۸.

AL-Aghabary, K., Zhujun, Z., and Qinhua, S. 2004. Influence of silicon supply onchlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzymeactivities intomato plants under salt stress. Plant Nutrition 27: 2101-2115.

Arora, A., Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. Plant Physiology 82: 1227-1237.

Auge, R.M., Stodola, A.J.W., Tims, J.E., and Saxton, A.M. 2001. Moisture retention properties of amycorrhizal soil. Plant and Soil. 230: 87-97.

Bai, L., and Sui, F. 2006. Effect of soil drought stress on leaf of maize. Pedosphere 16:326-332.

Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagested, K. 2002. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annual of Botany 91: 179-194.

Ghobadi, M. Bakhshandeh, M. Fathi, G. Gharineh, MH. Alami-Said, K. Naderi, A. Ghobadi, M.E .2006. Short and long periods of water stress during different growth stages of canola (*Brassica napus* L.): Effect on yield, yield components, seed oil and protein contents. J Agron 5(2):336-341.

Jalilian, J., Modarres Sanavy, S.A.M., Asgharzadeh, A., and Farshadfar, M. 2008. Response of sunflower seed quality characteristics to plant growth promoting rhizobacteria under water stress. Agric. Res. 7: 185-196.

Mahfouze, S.A., Sharafeldin, M.A. 2007. Effect of mineral biofertilizer of growth yield and essential oil content of fennel. *International Agrophysics,* 21, 361-366.

McKersie, B.D., Murnaghan. J., Jones, K.S., and Bowley, S.R. 2000. Iron superoxidase dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increa in photosynthetic oxidative stress tolerance. Plant Physiol. 122: 1427-1437.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405–409.

Misra, H.P. 1972. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. J. Biol. Chem. 247:3170-3175

Mirzakhani, M., Ardakani, M.R., Aeene band, A., Shirani rad, A.H., and Rejali, F. 2009. Dual inoculation of Azotobacter and Mycorrhiza with nitrogen and phosphorus fertilizer rates on grain yield and some of characteristics of spring safflower. Proceeding of internation conference on energy and environment. March 19-21, 2009. pp: 729-733.

Paglia, D. 1997. Studies on the quantitive trait Dase. J.Lab. med. 70:158-165

Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, **K., and Noitsakis, B. 2002.** The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. Plant Science 163: 361- 374.

Smith, S.E., Facelli, E., and Pope, S. 2010. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. Plant and Soil 326: 3-20.

Song, H. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its Mechanisms. ElectronicJournal of Biology 1(3): 44-48.