تاثیر پاکلوبوترازول و تلقیح قارچ *Piriformospora indica* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و صفات مورفولوژیک گیاه لوبیا سبز (*Phaseoluse vulgaris* L.) تحت تنش سرما

معصومه علی‌زاده فروتن[۱]، همت‌اله پیردشتی*[۲]، یاسر یعقوبیان[۲] و ولی‌اله بابایی‌زاد[۳]

[۱] گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۲] گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۳] گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۲۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰۲/۰۲)

چکیده:

به منظور بررسی اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و پاکلوبوترازول در القای تحمل به تنش سرما در گیاه لوبیا سبز (*Phaseolus vulgaris* L.)، آزمایشی گلخانه‌ای در سال ۱۳۹۲ و در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش سرما (شاهد، سه روز و شش روز تنش سرمای ۵ درجه سانتی‌گراد)، دو سطح تلقیح قارچی (بدون تلقیح و تلقیح قارچ *P. indica*) و سه سطح پاکلوبوترازول (صفر، ٤٠ و ٨٠ میلی‌گرم در لیتر) بود. تلقیح قارچ در مرحله‌ی کاشت، محلول‌پاشی پاکلوبوترازول در دو مرحله‌ی پنج و شش هفته پس از کاشت و تنش سرما هشت هفته پس از کاشت اعمال گردید و صفات مورفولوژیک، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اعمال تنش سرما به‌ویژه تنش شش روز سبب کاهش صفات طول ساقه، RWC و فعالیت POD گردید ولی افزایش حدود ۲/۳ برابری فعالیت CAT را در پی داشت. تلقیح قارچ *P. indica* در تنش سرمای شش روز افزایش ۸ درصدی تعداد گره و همچنین در تنش سه و شش روز، افزایش میزان RWC (به ترتیب حدود ۳ و ۱۱ درصد) و فعالیت CAT (به ترتیب ۲/۱٦ برابر و ۳٤ درصد) را در پی داشت. در تمام سطوح تنش سرما، محلول‌پاشی با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول باعث افزایش فعالیت CAT (به ترتیب ۵۰، ۱۵۹ و ۸۷ درصد) گردید. در مجموع نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان‌دهنده‌ی نقش مثبت قارچ *P. indica* و پاکلوبوترازول بر بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه لوبیا سبز نسبت به تنش سرما می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پاکلوبوترازول، قارچ اندوفیت، لوبیا سبز، *Piriformospora indica*.

مقدمه:

گیاهان همواره در معرض طیف وسیعی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار دارند که امروزه به یک مشکل جهانی و زیست‌محیطی تبدیل شده است (Knight and Knight, 2001; Adya *et al*., 2013). دمای پایین نیز یک عامل زیست‌محیطی مهم است که بر رشد، زنده‌مانی و گسترش جغرافیایی گیاهان فشار شدیدی وارد می‌کند و تولیدات کشاورزی را کاهش می‌دهد. این تنش می‌تواند سرعت فرآیندهای بیوشیمیایی سلول‌ها را تحت تأثیر قرار داده و منجر به ایجاد عدم تعادل در فرآیندهای اصلی مسیرهای متابولیک شود (پائیزی و شریعتی، ۱۳۹۰؛ Jan *et al*., 2009). بررسی عوامل دخیل در خسارت سلولی نشان می‌دهد که ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال به عنوان

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: h.pirdashti@sanru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

یکی از عوامل تخریب، سبب تغییر عوامل دخیل در حفظ ترکیبات غشایی، ترکیبات ضدانجماد، آنتی‌اکسیدان‌ها و فرآیندهای بسیار دیگری می‌گردد (Cao *et al*., 2010). میزان مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو نیز بستگی به فعالیت مکانیسم‌های دفاعی دارد، این مکانیسم‌ها می‌توانند با جمع آوری انواع اکسیژن فعال و ترمیم نقاط صدمه دیده، تنش اکسیداتیو را کاهش داده و گیاه را به شرایط مطلوب برسانند (Jubany-Mari *et al*., 2010). هرچند در شرایط عادی نیز رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌شوند، اما به هنگام تنش، تجمع ردوکتانت‌ها در سیستم چرخه‌ی انتقال الکترون فتوسنتزی، سبب تولید مقدار زیادی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند اکسیژن نوزاد، سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و سایر رادیکال‌های هیدروکسیل می‌گردد که این رادیکال‌ها با اجزا و ترکیب‌های سلولی چون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش نشان داده و منجر به پراکسیداسیون غشا، تخریب پروتئین‌ها و جهش در مولکول‌های DNA می‌گردند (Modarresi *et al*., 2012; Zhu *et al*., 2009).

به طور کلی تولید محصولات کشاورزی به‌ویژه در شرایط وجود تنش‌های محیطی، نیازمند برنامه‌ریزی و اقدامات راهبردی دقیق است تا میزان تولید این محصولات پاسخگوی نیازهای جمعیت روبه رشد جهان باشد. یک راهکار ممکن در این زمینه، بهره‌برداری از همزیستی میکوریزایی برای تحریک رشد گیاه به‌ویژه در شرایط تنش‌زا می‌باشد (Adya *et al*., 2013). قارچ *Piriformospora indica* نیز رابطه همزیستی با گیاهان داشته و در افزایش تحمل به تنش‌های محیطی مؤثر واقع می‌گردد (کاری دولت‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۱). قارچ *P. indica* یک شبه‌میکوریزا است که رفتار قارچ‌های میکوریزا را در همزیستی با گیاهان تقلید می‌کند. این قارچ برای اولین بار در سال ۱۹۹۸ به وسیله‌ی ورما و همکاران (Verma *et al*., 1998) از ریزوسفر درختچه‌های چوبی کهور (*Prosopis juliflora*) و کنار (*Zizyphus numalaria*) در بیابان تار (Thar) که در بخش غربی ایالت راجستان در شبه قاره‌ی هند واقع است، جداسازی شده و به عنوان یک شبه‌میکوریزای قابل کشت معرفی گردید. نتایج تحقیقات نشان داده است که تلقیح طیف گسترده‌ای از گیاهان با *P. indica* اثر مثبتی روی زیست‌توده تولیدی گذاشته و اثرات فیزیولوژیکی متعددی مانند افزایش گلدهی، افزایش عملکرد، بهبود تغذیه‌ای گیاه و ایجاد تغییرات سیستمیکی (آمادگی دفاعی) وابسته به فعالیت مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی در پی دارد. این اثرات سبب افزایش رشد و تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌گردد (Waller *et al*., 2005; Deshmukh *et al*., 2006; Druege *et al*., 2007).

از سوی دیگر، پاکلوبوترازول که عضوی از گروه مهار کننده‌های رشد یعنی تریازول‌ها است نیز سبب افزایش مقاومت گونه‌های مختلف گیاهی به تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله بیماری‌های قارچی، خشکسالی، آلودگی هوا و تنش دمای بالا و پایین نیز می‌شود (Baninasab, 2009; Davis and Curry, 1991). پاکلوبوترازول تنظیم کننده‌ی بیوسنتز جیبرلین است و اکسیداسیون کائورن به کائورنیک اسید (Kaurenic Acid) که به وسیله‌ی کائورن اکسیداز انجام می‌شود را مهار می‌کند (رضوی‌زاده و عمومیگی، ۱۳۹۲). همچنین این ترکیب، سبب تغییر در توازن هورمون‌های آبسیزیک اسید (ABA)، سیتوکینین (CK) و اتیلن می‌گردد (جعفری و همکاران، ۱۳۸۵). در حقیقت پاکلوبوترازول با کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، از گیاهان محافظت می‌کند (Lin *et al*., 2006).

جنس *Phaseolus* در سراسر جهان پراکنده است. گیاهان این جنس در مناطق گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و معتدل کشت می‌شوند. از بین ۳۰ گونه‌ی شناخته شده‌ی این جنس، فقط چهار گونه زراعی است که لوبیا سبز (*Phaseolus vulgaris* L.) مهم‌ترین آنهاست. لوبیا در بین انواع گیاهان تجارتی دارای بیشترین میزان پروتئین بوده (باقری و همکاران، ۱۳۸۰؛ نصری و خلعتبری، ۱۳۹۰) و از جمله محصولاتی است که می‌توان در زمان‌های مختلف (بهار، تابستان و پاییز) به کشت آن در مازندران اقدام کرد (متقیان و همکاران، ۱۳۸۸). بنابراین با توجه به زمان‌های متفاوت کشت این گیاه، احتمال مواجه شدن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

آن با سرمای بهاره یا پاییزه وجود دارد. از این‌رو، با توجه به موارد مطرح شده، این پژوهش با هدف بررسی میزان اثربخشی همزمان تلقیح قارچ *P. indica* و محلول‌پاشی پاکلوبوترازول بر افزایش تحمل به تنش سرمازدگی در گیاه لوبیا سبز اجرا شد.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش در بهار ۱۳۹۲ در گلخانه‌ی تحقیقاتی پژوهشکده‌ی ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت فاکتوریل برپایه‌ی طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح عدم تلقیح و تلقیح با قارچ *Pirifomospora indica*، سه سطح پاکلوبوترازول (صفر، ٤٠ و ٨٠ میلی‌گرم در لیتر) و سه سطح تنش سرما (شاهد، سه روز و شش روز در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) بود. خاک مورد استفاده در این پژوهش از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه شده و پس از الک کردن با نسبت ۱:۲ با ماسه شسته مخلوط گردید. به‌منظور افزایش دقت آزمایش و بررسی دقیق‌تر اثر قارچ *P. indica*، خاک مورد استفاده به مدت یک ساعت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد استریل شد. اطلاعات خاک مورد استفاده در پژوهش، در جدول ۱ آورده شده است.

سویه‌ی قارچ *P. indica* از مجموعه‌ی قارچ‌های زنده آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه و پس از کشت در محیط کشت کفر (Kaefer, 1977)، به مدت چهار هفته در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و پس از اسپورزایی، اسپورهای قارچی از محیط کشت جداسازی و پس از رساندن به غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر برای تلقیح بذرهای لوبیا سبز رقم سان ری (Sunray) استفاده شد. قبل از تلقیح، بذرها با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی و چند بار با آب مقطر شستشو شدند (Blee and Anderson, 1996). سپس بذرها به مدت سه روز در ژرمیناتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار گردید. بذرهای جوانه‌دار به دو قسمت تقسیم و برای یکسان‌سازی شرایط تلقیح، نیمی از بذرها درون بشر حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچی و نیم دیگر درون بشر حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول آب-توئین یک در هزار غوطه‌ور شده و به مدت ٤ ساعت روی شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. تعداد ۱۲ عدد بذر در عمق ۲ سانتی‌متری خاک گلدان‌های پلاستیکی با گنجایش دو کیلوگرم خاک کشت گردید و بوته‌ها در دو مرحله‌ی دو هفته و چهار هفته پس از کاشت تنک شده و به ٦ بوته در هر گلدان کاهش یافت.

محلول‌پاشی پاکلوبوترازول در دو مرحله و طی هفته‌های پنجم و ششم پس از کاشت صورت گرفت. برای تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول نیز به منظور یکسان‌سازی شرایط تیماری از آب مقطر استفاده گردید. هشت هفته پس از کاشت و دو هفته پس از دومین محلول‌پاشی، دو سوم گلدان‌ها برای اعمال تنش سرمازدگی به اتاقک رشد (مدل SPG30000، شرکت نور صنعت) با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از سه و شش روز تنش سرما گلدان‌ها از اتاقک رشد خارج شده و پس از گذشت دوازده ساعت، سه بوته از هر گلدان جهت نمونه‌برداری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انتخاب و نمونه‌برداری از برگ‌های بالای بوته‌ها صورت گرفت. سه بوته باقی‌مانده نیز برداشت شده و طول ساقه، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ در بوته و تعداد گره ساقه اندازه‌گیری شد.

محتوای نسبی آب برگ: محتوای نسبی آب برگ با استفاده از روش ایریگوین و همکاران (Irigoyen *et al.*, 1992) و با قرار دادن نمونه‌های تازه برگی به مدت ٢٤ ساعت در آب مقطر اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید.

رابطه ۱

$$RWC= \frac{FW - DW}{SW - DW} \times 100$$

در این رابطه F_w: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، D_w: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون و S_w: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر است.

اندازه‌گیری آنزیم‌ها: برای استخراج محلول‌های آنزیمی کاتالاز و پراکسیداز، ۰/۵ گرم از نمونه برگی با استفاده از هاون چینی کاملا سرد و نیتروژن مایع همگن و سپس به آن ۵ میلی لیتر بافر فسفات سرد (pH= 7.5) محتوی EDTA ۰/۵ میلی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش

بافت خاک	رس	سیلت	شن	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	اسیدیته	هدایت الکتریکی
	درصد (٪)			(ppm)			(pH)	(dSm^{-1})
رسی لومی	٤٢/٢	٣٥/٨	٢٢	٠/٢١	١٤/٥	٢٧٠	٧/٦٥	١/٥٢

مولار اضافه شد. همگن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش، به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰۰ در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند (Sairam *et al*., 2002).

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش ابی (Aebi, 1984) اندازه‌گیری شد. کمپلکس واکنشی شامل ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی می‌باشد که حجم نمونه‌ها با اضافه کردن آب مقطر به ۳ میلی لیتر رسانده شد. با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش آغاز می گردد و کاهش در جذب نمونه‌ها در طول موج ۲٤۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت گردید.

کمپلکس واکنشی آنزیم پراکسیداز (دو میلی‌لیتر) شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۲۵۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. واکنش با اضافه کردن محلول آنزیمی شروع شده و افزایش جذب در طول موج ٤۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد (Tang and Newton, 2005).

میزان پروتئین موجود در نمونه‌های آنزیمی استخراج شده، به روش بردفورد (Bradford, 1976) اندازه‌گیری شد. کمپلکس واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده، ۲۰۰ میکرولیتر معرف بردفورد و ۷۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه بود و جذب آنها در طول موج ۵۹۵ نانومتر یادداشت شد.

آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش کولموگروف-اسمیرنوف انجام گرفت. سپس داده‌ها به روش تجزیه واریانس و به وسیله‌ی نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (SAS Institute, 2009) تجزیه و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث:

صفات مورفولوژیک: بر اساس جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات مورفولوژیک (جدول ۲)، اثر ساده‌ی تنش سرما بر تمام صفات اندازه‌گیری شده به جز قطر ساقه، در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر همزیستی قارچی بر قطر ساقه، تعداد برگ در بوته و تعداد گره ساقه ($P\leq$۰/۰۱) و همچنین اثر ساده‌ی پاکلوبوترازول بر ارتفاع بوته ($P<$۰/۰۱)، تعداد برگ در بوته ($P<$۰/۰۵) و تعداد گره ساقه ($P<$۰/۰۱) معنی‌دار بود. برهمکنش سرما و تلقیح قارچ بر صفات تعداد برگ در بوته ($P<$۰/۰۱) و تعداد گره ساقه ($P<$۰/۰۵) و برهمکنش سرما و پاکلوبوترازول بر ارتفاع بوته، قطر ساقه ($P<$۰/۰۱) و تعداد گره ساقه ($P<$۰/۰۵) اثر معنی‌داری داشت، در حالی‌که برهمکنش قارچ و پاکلوبوترازول بر هیچ یک از صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبود. برهمکنش سه گانه‌ی سرما، قارچ و پاکلوبوترازول نیز بر صفات قطر ساقه ($P<$۰/۰۵) و تعداد برگ در بوته ($P<$۰/۰۱) اثر معنی‌داری نشان داد.

بوته‌های در معرض تنش سرمای سه روز، ساقه‌های بلندتری نسبت به بوته‌های شاهد (بدون تنش) داشتند درحالی که اعمال تنش شش روز سبب کاهش چشمگیر طول ساقه نسبت به شرایط شاهد و تنش سه روز سرمازدگی شد (شکل ۱). در پژوهشی مشابه، کاهش رشد رویشی در گیاه گندم نیز در اثر تنش سرما گزارش شده است (Tobeh and Jamaati-e-Somarin, 2012). تنش سرما با تأثیر بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آسیب بافت‌ها و سلول‌ها سبب اختلال در تولید کلروفیل و کلروپلاست شده و در نتیجه بر فتوسنتز اثر منفی می‌گذارد. همچنین فتوسنتز خالص گیاهان در تنش سرما کاهش می‌یابد که به دلیل توقف جریان سیتوپلاسمی، کاهش انرژی در فتوسنتز

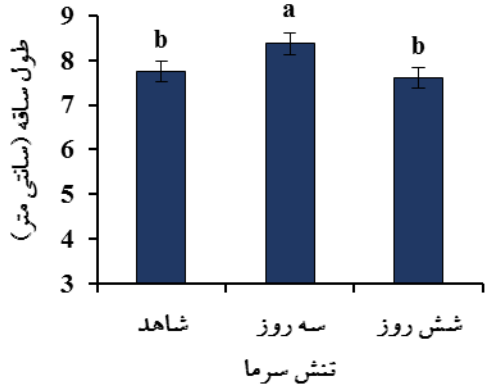
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

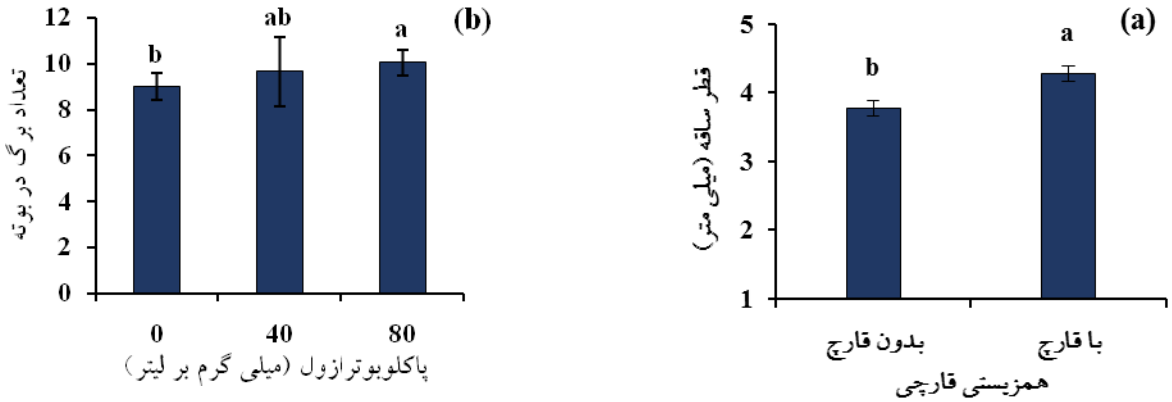
جدول ۲- میانگین مربعات (MS) اثر سرما، قارچ و پاکلوبوترازول بر صفات مورفولوژیک لوبیا سبز.

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	ارتفاع بوته	قطر ساقه	تعداد برگ در بوته	تعداد گره ساقه
تنش سرما (C)	۲	۳/۰۱**	۱۲/۵۶**	۰/۰۷^{ns}	۵٤/۵۷**	۳/۱۲**
قارچ (F)	۱	۰/۰۵^{ns}	۲/۸٦^{ns}	۳/۲۲**	۷۸/۲٤**	۳/٦۲**
پاکلوبوترازول (P)	۲	۰/٦۹^{ns}	۷/۹۲**	۰/۰٤^{ns}	۵/۱۲*	۰/۷۹**
C×F	۲	۰/۷۲^{ns}	۱/۲۷^{ns}	۰/۰۵^{ns}	٦/۱۲**	۰/۵۷*
C×P	٤	۱/۲۱^{ns}	۵/۳۱**	۰/٦٦**	۱/٤۹^{ns}	۰/٤۹*
F×P	۲	۰/۳٤^{ns}	۰/۷٦^{ns}	۰/۱۵^{ns}	۳/٦۸^{ns}	۰/۲٤^{ns}
C×F×P	٤	۰/۵۰^{ns}	۳/۲٤^{ns}	۰/٤۰*	٤/٦۵**	۰/۲٦^{ns}
خطای آزمایشی	۳٦	۰/٦۵	۱/۳٦	۰/۱٤	۱/۳۷	۰/۱٤
ضریب تغییرات (درصد)		۱۰/۲٦	۵/۱۲	۹/۵۳	۱۲/۲۲	۸/۵۱

*و**معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد. ns غیر معنی‌دار.



شکل ۱- اثر تنش سرما بر طول ساقه‌ی لوبیا سبز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



شکل ۲- اثر همزیستی قارچی بر قطر ساقه (a) و اثر پاکلوبوترازول بر تعداد برگ در بوته (b) گیاه لوبیا سبز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

و فراهم نبودن فسفات های سرشار از انرژی می‌باشد و در نهایت منجر به کاهش رشد گیاه می‌شود (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

تلقیح گیاه با قارچ *P. indica* افزایش قطر ساقه را به دنبال داشت. به‌طوری‌که، قطر ساقه‌ی گیاهان تلقیح شده حدود ۱۳ درصد بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود (شکل ۲-a). کاربرد پاکلوبوترازول تعداد برگ را در گیاه لوبیا سبز به طور قابل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

ملاحظه‌ای افزایش داد. بر اساس شکل ۲-b در غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول بیشترین تعداد برگ مشاهده شد که نسبت به غلظت صفر آن حدود ۱۲ درصد افزایش داشت. گزارش‌های گوناگونی از اثر پاکلوبوترازول بر تعداد برگ در بوته وجود دارد به طوری‌که حجتی و همکاران (۱۳۸۹) در کوکب کوهی و Yeshitela و همکاران (۲۰۰٤) در گیاه انبه کاهش تعداد برگ در اثر کاربرد پاکلوبوترازول را گزارش کردند که برخلاف نتایج پژوهش حاضر است. همچنین در آزمایشی که روی توت‌فرنگی رقم سلوا انجام شد، تعداد برگ ها تحت تأثیر پاکلوبوترازول قرار نگرفت (شاکری و همکاران، ۱۳۸۸). به نظر می‌رسد اثر پاکلوبوترازول بر تولید برگ‌های جدید بستگی به غلظت مورد استفاده آن دارد. پاکلوبوترازول در غلظت‌های بالا تولید برگ را کاهش می‌دهد در حالی‌که غلظت‌های پایین، تعداد برگ را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (Young, 1983). همچنین بین زمان کاربرد پاکلوبوترازول و ظهور علایم ناشی از آن در گیاه فاصله‌ی زمانی وجود دارد که به عواملی چون زمان کاربرد، غلظت مورد استفاده، میزان تعرق، سرعت حرکت شیره‌ی گیاهی و میزان جیبرلین درونی بستگی دارد (شاکری و همکاران، ۱۳۸۸).

بر اساس مقایسه میانگین انجام شده در هر دو تیمار تلقیح و بدون تلقیح با قارچ *P. indica*، تنش سرما کاهش تعداد برگ در بوته را به دنبال داشت. به‌طوری‌که در گیاهان بدون تلقیح قارچ، تنش سرمای شش روز و در گیاهان تلقیح شده، تنش سرمای سه روز بیشترین کاهش را (به ترتیب حدود ۱۵ و ۳۷ درصد) نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۳). به نظر می‌رسد رشد کم یک حالت سازگاری برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است، به دلیل این‌که در این حالت موادغذایی و انرژی به جای استفاده در رشد شاخساره به سمت مولکول‌های نگهداری کننده‌ی گیاه در برابر تنش هدایت می‌شود (Khalid, 2006).

تعداد گره در گیاهان بدون قارچ و با قارچ در شرایط بدون تنش سرما (شاهد) تفاوتی با هم نداشتند. با اعمال تنش سرمای سه روز، تعداد گره در گیاهان همزیست شده با قارچ حدود ۲۵ درصد نسبت به گیاهان غیرهمزیست کاهش نشان داد اما در تنش شش روز، در گیاهان همزیست با قارچ سبب افزایش ۸ درصدی در تعداد گره نسبت به گیاهان غیرهمزیست شد (جدول ۳). قارچ *P. indica* از طریق تولید اکسین سبب افزایش طول ریشه و جذب بیشتر عناصر غذایی می‌شود که نتیجه‌ی آن بهبود رشد در قسمت‌های هوایی گیاه است (کاری دولت‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۱).

در برهمکنش تنش سرما و پاکلوبوترازول (جدول ٤)، در شرایط شاهد (بدون تنش) و تنش سرمای شش روز، محلول پاشی پاکلوبوترازول تعداد گره ساقه را به طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش داد، به‌طوری‌که این افزایش در تیمار بدون تنش سرما، برای غلظت‌های ٤۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر حدود ٤ درصد و در تنش سرمای شش روز به ترتیب حدود ۲۹ و ۲٤ درصد بود. در تنش سرمای سه روز، کاربرد پاکلوبوترازول اثر معنی داری بر تعداد گره در بوته نداشت (جدول ٤).

قطر ساقه و ارتفاع بوته گیاهان شاهد (بدون تنش سرما) و تنش سرمای سه روزه تحت تأثیر محلول‌پاشی پاکلوبوترازول قرار نگرفت اما در تنش شش روز، کاربرد پاکلوبوترازول قطر ساقه و ارتفاع بوته‌ی گیاهان را افزایش داد به طوری‌که بیشترین افزایش مربوط به غلظت ٤۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول بود که به ترتیب حدود ۲۱ و ۱۵ درصد در مقایسه با غلظت صفر آن افزایش داشت (جدول ٤). شاکری و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که پس از محلول‌پاشی پاکلوبوترازول طول دمبرگ در گیاه توت‌فرنگی بر عکس قطر دمبرگ کاهش یافت. در مورد نقش پاکلوبوترازول بر پارامترهای رشد گزارش‌های متعددی وجود دارد. از جمله گزارش شده که پاکلوبوترازول کاهش رشد ناشی از تنش سرما را بهبود بخشید (Pinhero and Fletcher, 1994). سرما به عنوان یک تنش اسمزی، جذب آب از ریشه‌ی گیاه را محدود کرده و باعث افت پتانسیل آب و انتقال آب از سیمپلاست به آپوپلاست می‌شود که نتیجه‌ی آن کم آبی شدید است (محسن زاده و همکاران، ۱۳۸۹). با توجه به اینکه رشد و تقسیم سلولی نیازمند حفظ فشار تورژسانس می‌باشد و سلول‌ها باید حجم مناسبی برای تقسیم داشته باشند بنابراین به دنبال کمبود آب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش تنش سرما و قارچ بر تعداد برگ و تعداد گره در بوته‌ی لوبیا سبز.

همزیستی قارچی	تنش سرما	تعداد برگ در بوته	تعداد گره در ساقه
بدون قارچ (-)	شاهد	۱۰/۲۲^{b}	٤/۸۸^{a}
	سه روز	۱۲/٦٦^{a}	٥/۰۰^{a}
	شش روز	۸/٦٦^{c}	٤/۱۱^{bc}
با قارچ (+)	شاهد	۹/۸۸^{b}	٤/۸۸^{a}
	سه روز	٦/۲۲^{d}	۳/۷۷^{c}
	شش روز	۹/۷۷^{bc}	٤/٤٤^{b}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول ٤- مقایسه میانگین برهمکنش تنش سرما و پاکلوبوترازول بر صفات مورفولوژیک لوبیا سبز.

تنش سرما	پاکلوبوترازول ($mg.L^{-1}$)	تعداد گره ساقه	قطر ساقه (میلی‌متر)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)
شاهد	۰	٤/۸۳^{ab}	٤/۰۸^{bc}	۲۲/۸٥^{ab}
	٤۰	٥/۰۰^{a}	۳/۸٤^{bc}	۲۲/۳٦^{b}
	۸۰	٥/۰۰^{a}	۳/۹۲^{bc}	۲۳/٦٦^{ab}
سه روز	۰	٤/٥۰^{bc}	٤/۱۲^{abc}	۲۳/۱٦^{ab}
	٤۰	٤/٥۰^{bc}	۳/۸٥^{bc}	۲٤/۰۱^{a}
	۸۰	٤/٥۰^{bc}	٤/۲۲^{ab}	۲۳/٥٥^{ab}
شش روز	۰	۳/٥۰^{d}	۳/۷٤^{c}	۲۰/۱٥^{c}
	٤۰	٤/٥۰^{bc}	٤/٥۲^{a}	۲۳/۱٥^{ab}
	۸۰	٤/۳۳^{c}	۳/۸۷^{bc}	۲۲/٤۷^{b}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

و ایجاد تنش اسموتیک، با از دست رفتن آب سلول‌ها، فشار تورژسانس و حجم سلول کاهش یافته و این امر موجب کاهش رشد و تقسیم سلولی می‌گردد (Xing and Zhu, 2002).

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی (جدول ٥) نشان داد که اثر تنش سرما بر محتوای نسبی آب برگ و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر ساده‌ی قارچ *P. indica* بر محتوای نسبی آب برگ و فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح یک درصد و همچنین اثر ساده‌ی پاکلوبوترازول بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ($P<۰/۰۱$) معنی‌دار گردید.

برهمکنش تنش سرما و قارچ بر محتوای نسبی آب برگ ($P<۰/۰۱$) و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ($P<۰/۰۱$) و پراکسیداز ($P<۰/۰٥$) معنی‌دار گردید. همچنین برهمکنش تنش سرما و پاکلوبوترازول بر تمام صفات به جز پروتئین محلول اثر معنی داری ($P<۰/۰۱$) داشت ولی اثر متقابل قارچ و پاکلوبوترازول تنها بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود. برهمکنش سه گانه‌ی تنش سرما، قارچ و پاکلوبوترازول نیز بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ٥).

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، تنش سرمای سه و شش روزه در هر دو تیمار تلقیح و عدم تلقیح قارچ، محتوای نسبی آب برگ را نسبت به گیاهان شاهد (بدون تنش) به‌صورت معنی-داری کاهش داد ولی میزان کاهش در دو تیمار قارچی متفاوت بود، به طوری‌که در گیاهان تلقیح شده با *P. indica* کاهش کمتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده (به ترتیب حدود ۷ و ۱۷ درصد) مشاهده گردید (شکل ۳).

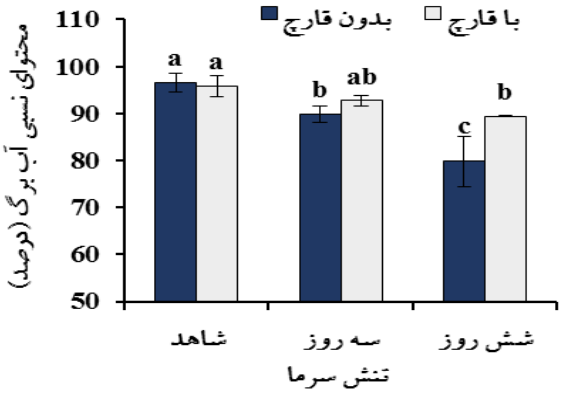
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

جدول ۵- میانگین مربعات (MS) اثر سرما، قارچ و پاکلوبوترازول بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا سبز.

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای نسبی آب برگ	کاتالاز	پراکسیداز	پروتئین محلول
تنش سرما (C)	۲	٦۰٤/۳٤**	۰/۰۱٤**	۳/۲٤**	۰/۰۰۱۵^{ns}
قارچ (F)	۱	۲۰۸/٦٦**	۰/۰۰۲**	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}
پاکلوبوترازول (P)	۲	٤۹/۳۲^{ns}	۰/۰۰٦**	۰/۸٦**	۰/۰۰۲^{ns}
C×F	۲	۱۲۵/٤٤**	۰/۰۰۱**	۰/۱۸*	۰/۰۰۱^{ns}
C×P	٤	۸۷/۳۳**	۰/۰۰۱**	۰/۵۹**	۰/۰۰۳^{ns}
F×P	۲	۷۲/۵۲*	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۹^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}
C ×F×P	٤	۲۲/۹۵^{ns}	۰/۰۰۱**	۰/٤۵**	۰/۰۰۳^{ns}
خطای آزمایشی	۳٦	۲۹/۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰٤	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (درصد)		۵/۲۹	۲٦/۰۱	۱۲/۵۳	۱٤/۱٤

*و** معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد. ns غیر معنی‌دار.



شکل ۳- برهمکنش تنش سرما و قارچ بر محتوای نسبی آب برگ گیاه لوبیا سبز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

گزارش‌هایی در رابطه با کاهش محتوای نسبی آب برگ (RWC) تحت تنش دمای پایین در گیاهانی مانند ، چهار رقم گندم (محسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹) و دو گونه فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Shcreb) و مرتعی (*Festuca pratensis* Huds) (پارساییان و همکاران، ۱۳۸۵) ارایه شده است. با وجود اینکه *P. indica* از ریگزارهای گرم واقع در غرب راجستان هند جدا شده است، در دماهای پایین نیز در حضور میزبان‌های علفی ویژگی‌های منحصر به فردی را به نمایش می‌گذارد که هنوز در منابع به‌طور کامل به آن پرداخته نشده است (Varma *et al.*, 2013)، اما بیان شده که همزیستی میکوریزایی اغلب منجر به تغییر سرعت حرکت آب در داخل و خارج گیاهان میزبان شده و بر آب‌گیری بافت و فیزیولوژی برگ تأثیر می‌گذارد (Auge *et al.*, 2001). میسلیوم قارچ در خاک نقش مهمی در تأثیر قارچ بر رابطه آبی گیاه میزبان دارد و باعث جذب آب از منافذ بسیار ریز خاک می‌شود (Bearden, 2001). این قارچ‌ها احتمالاً از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ، میزان آب بیشتری جذب کرده و باعث بهبود روابط آبی گیاه میزبان می‌گردد (Auge *et al.*, 2001). با توجه به این موارد، احتمال می‌رود که افزایش محتوای نسبی آب برگ همزیستی با *P. indica* در تنش سرمازدگی در گیاه لوبیا سبز نیز به دلیل بهبود روابط آبی در این نوع همزیستی باشد.

در تنش سرمای سه روزه غلظت‌های ٤۰ و ۸۰ میلی‌گرم در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

لیتر پاکلوبوترازول محتوای نسبی آب برگ را نسبت به سطح صفر آن به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد. با این وجود، در تنش سرمای شش روز، تیمار پاکلوبوترازول اثر مثبتی بر محتوای نسبی آب برگ نداشت و حتی غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر آن اثر کاهشی داشته و میزان RWC را نسبت به سطوح صفر و ٤٠ میلی‌گرم در لیتر کاهش داد. غلظت پایین پاکلوبوترازول (٤٠ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین اثر را بر محتوای نسبی آب برگ داشت و غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر این ماده نتوانست اثر تخریبی تنش سرما را جبران کند (شکل ٤).

در شرایط بدون تلقیح قارچ *P. indica* کاربرد غلظت ٤٠ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول در محتوای نسبی آب برگ اثر چندانی نداشت و غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش چهار درصدی آن گردید، ولی این روند در تلقیح قارچ *P. indica* بر عکس بوده و افزایش میزان RWC را به دنبال داشت. در غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول تلقیح *P. indica* سبب افزایش ۱۰ درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به شرایط بدون تلقیح آن شد (شکل ۵).

فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تنش سرما و تلقیح قارچ *P. indica* قرار گرفت. اعمال تنش سه و شش روز سبب افزایش فعالیت این آنزیم گردید که بیشترین فعالیت آن در تنش شش روزه و با افزایش ۲/۳ برابری نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. در گیاهانی که به مدت سه و شش روز تحت تنش سرمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند، تلقیح قارچ *P. indica* فعالیت آنزیم کاتالاز را به طور معنی‌داری افزایش داد که این افزایش برای تنش سه و شش روزه به ترتیب ۲/۱٦ برابر و ۳٤ درصد بود ولی در گیاهان شاهد (بدون تنش سرما) تفاوت معنی‌داری بین تیمار تلقیح و عدم تلقیح قارچ مشاهده نشد (شکل ٦-a).

فعالیت آنزیم پراکسیداز برخلاف آنزیم کاتالاز، در اثر تنش سرما از روند کاهشی برخوردار بود به طوری‌که با اعمال تنش سه روزه سرما کاهش فعالیت آن مشهود بود ولی با ادامه تنش تا شش روز افزایش فعالیت این آنزیم مشاهده شد هر چند در تنش شش روز نیز نسبت به شرایط شاهد، فعالیت کمتری داشت. در گروه شاهد (بدون تنش سرما) تلقیح قارچ با افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز همراه بود که این افزایش نسبت به گیاهان تلقیح نشده حدود ١٤ درصد بود. اما در تنش سه و شش روز قارچ *P. indica* اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم مذکور نداشت (شکل ٦-b).

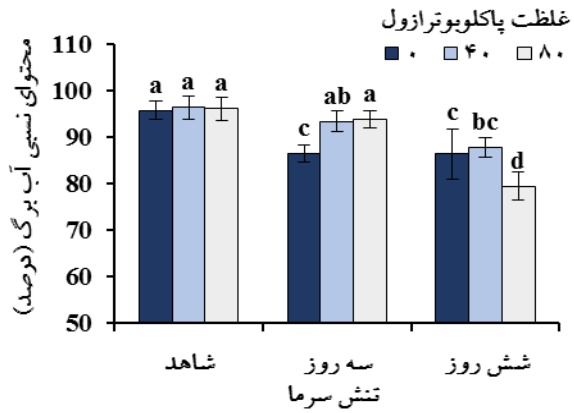
گزارشی در مورد نقش *P. indica* در سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه در تنش سرما وجود ندارد اما مطالعات اندکی در مورد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سایر آنتی‌اکسیدان‌ها در تنش‌های خشکی و شوری در گیاهان همزیست شده با *P. indica* وجود دارد که می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی و میزان آسکوربیک‌اسید در ریشه‌ی جو تحت تنش شوری (Baltruschat *et al.*, 2008)، افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در تنش خشکی (Sun *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2009) و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط بروز بیماری‌های گیاهی (Waller *et al.*, 2005) اشاره کرد.

گزارش شده که *P. indica* سبب افزایش مقاومت در برابر تنش‌های غیرزیستی در گیاهان شده و افزایش رشد گیاه در شرایط تنش نیز در پی دارد (Kumari *et al.*, 2003; Rai *et al.*, 2001; Rai and Varma, 2005). *P. indica* سیستم دفاعی را تعدیل کرده و به منظور جبران خسارت به فتوسنتز و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش، در متابولیسم گیاه تغییراتی ایجاد می‌کند. همچنین یافته‌ها حاکی از آن است که این قارچ سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی متعددی شد که در سم-زدایی گونه‌های اکسیژن فعال نقش دارند. این آنزیم‌ها شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیداز (POD)، مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز (MDHAR) و دهیدرو ردوکتاز (DHAR) می‌باشند. همچنین گزارش شده که *P. indica* سبب افزایش پاسخ‌های ژنتیکی گیاه به تنش‌ها می‌شود که در بالا بردن مقاومت گیاهان زراعی به تنش‌های غیرزیستی نقش دارد (Varma *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2012).

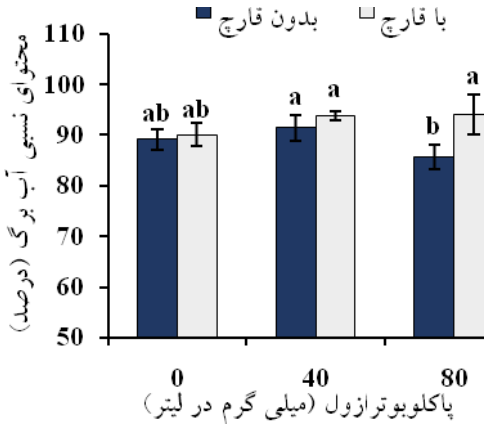
گاهی در شرایط تنش ممکن است قدرت آنتی‌اکسیدانی به منظور کاهش اثر آسیب‌های اکسیداتیو کافی نباشد به همین دلیل کاهش فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در اثر تنش سرما منطقی به نظر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

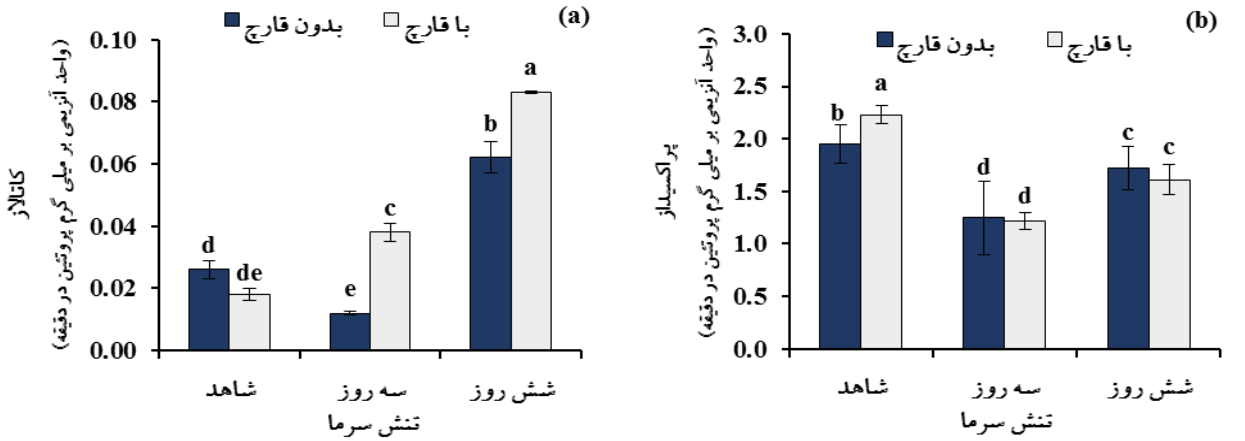
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]



شکل ٤- برهمکنش تنش سرما و پاکلوبوترازول بر محتوای نسبی آب برگ گیاه لوبیا سبز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



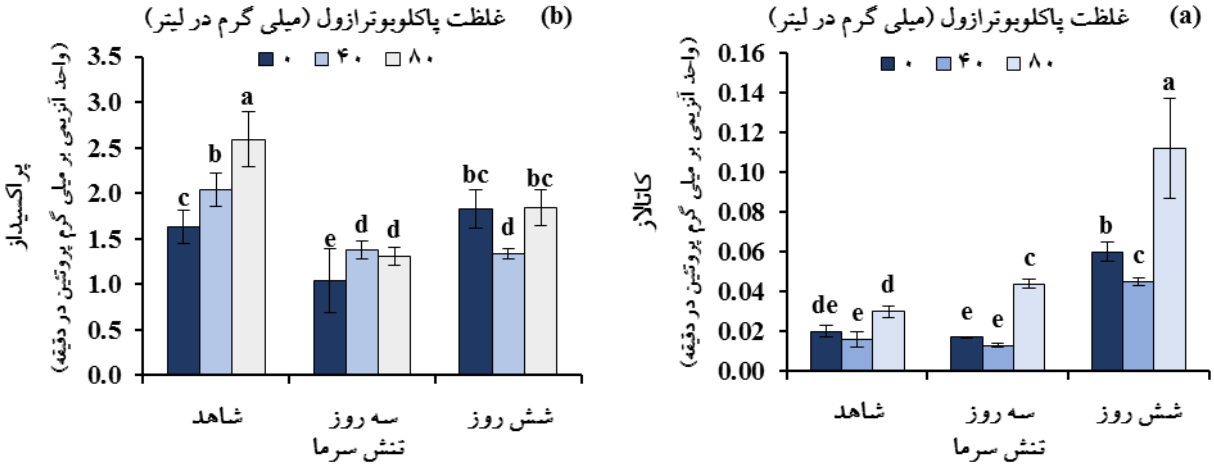
شکل ۵- برهمکنش قارچ و پاکلوبوترازول بر محتوای نسبی آب برگ گیاه لوبیا سبز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



شکل ٦- برهمکنش سرما و قارچ بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (a) و پراکسیداز (b) برگ گیاه لوبیا سبز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

می‌رسد (شاهاندشتی و همکاران، ۱۳۹۰؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۹۰).همچنین احتمال دارد کاهش آنزیم پراکسیداز و افزایش آنزیم کاتالاز در این آزمایش به دلیل کافی بودن فعالیت کاتالاز در حذف گونه‌های فعال اکسیژن باشد. کاتالاز یکی از اجزای مهم سیستم آنتی‌اکسیدانی است که هیدروژن پراکسید تولید شده از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را تجزیه می‌کند

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]



شکل ۷- برهمکنش تنش سرما و پاکلوبوترازول بر کاتالاز (a) و پراکسیداز (b) برگ گیاه لوبیا سبز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

(Foyer *et al*., 1994; Pan *et al*., 2006; Zhu *et al*., 2009).

در گیاهان شاهد و تنش سه روز و شش روز با محلول پاشی غلظت‌های ٤٠ و ٨٠ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول فعالیت آنزیم کاتالاز ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ٨٠ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول از فعالیت آنزیمی بیشتری برخوردار بودند (شکل ۷-a).

فعالیت آنزیم پراکسیداز پس از محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول در گیاهان شاهد (بدون تنش سرما) افزایش تدریجی داشت به طوری‌که این افزایش در غلظت ٨٠ نسبت به غلظت ٤٠ و صفر میلی‌گرم در لیتر به ترتیب حدود ۲۷ و ۵۹ درصد بود. با افزودن غلظت ٤٠ و ٨٠ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول در تنش سه روز فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت. همچنین در تنش شش روز با اضافه کردن پاکلوبوترازول ابتدا کاهش و سپس افزایش در فعالیت این آنزیم رخ داد که بین غلظت صفر و ٨٠ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۷-b).

افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در این پژوهش با نتایج تنش سرما بر روی گیاه نخود که به وسیله‌ی ونایی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش شده است، همخوانی دارد. کاتالاز از شناخته شده‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که نقش مهمی در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن و کاهش اثرات تخریبی آن در پراکسی‌زوم و گلی‌اکسی‌زوم و میتوکندری ایفا می‌کند (Seckin *et al*,. 2010; Foyer and Nector, 2000). افزایش فعالیت کاتالاز در گیاهان سخت شده به سرما می‌تواند به جلوگیری از آسیب‌های ناشی از تنش کمک نماید، زیرا ممکن است سطوح سوپراکسید و مواد اکسیدشده‌ی تک اکسیژنه در بافت سرمازده افزایش یابد (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۸٦). همچنین گزارش شده پاکلوبوترازول ممکن است اثرات تنش سرما را از طریق افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بهبود بخشد (Lin *et al*., 2006; Sankar *et al*., 2007).

نتیجه گیری کلی:

درمجموع می‌توان بیان داشت که تلقیح قارچ *P. indica* و همچنین محلول‌پاشی پاکلوبوترازول به میزان قابل توجهی شرایط نامساعد تنش سرمازدگی را بهبود بخشیده و سبب افزایش تحمل گیاه لوبیا سبز به این تنش گردید، که البته جهت تکمیل نتایج، پژوهش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای بیشتری در این زمینه لازم است.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از مساعدت‌ها و حمایت‌های مالی پژوهشکده‌ی ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری قدردانی می‌گردد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

منابع:

پائیزی، م. و شریعتی، م. (۱۳۹۰) بررسی اثر تنش دمای پایین بر عملکرد فتوسیستم II در جلبک *Dunaliella salina* با استفاده از کینتیک فلوئورسنس کلروفیل a. مجله سلول و بافت. ۲(٤): ٤۰۵-۳۹۵.

پارساییان، م.، میرلوحی، آ.، رضایی، ع. و خیام‌نکویی، م. (۱۳۸۵) تأثیر قارچ‌های اندوفایت بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مقاومت به سرما در گونه فسکیوی مرتعی و فسکیوی بلند. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی (علوم آب و خاک). ۱۰: ۲۱۱-۱۹۷.

جعفری، ر.، منوچهری کلانتری، خ. و ترکزاده، م. (۱۳۸۵) بررسی اثرات پاکلوبوترازول بر افزایش مقاومت به سرما در نهال‌های گوجه‌فرنگی (*Licopersicum esculentum* L.). مجله‌ی زیست‌شناسی ایران ۱۹: ۲۹۸-۲۹۰.

حجتی، م.، اعتمادی، ن.ا. و بانی‌نسب، ب. (۱۳۸۹) اثر پاکلوبوترازول و سایکوسل بر رشد رویشی و گلدهی کوکب کوهی. فصلنامه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲٤ : ۱۲۷-۱۲۲.

رضوی‌زاده، ر. و عموبیگی، م. (۱۳۹۲) تأثیر پاکلوبوترازول بر بهبود تحمل به خشکی در گیاهچه‌های کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط کشت درون شیشه‌ای (in vitro). فصلنامه فرآیند و کارکرد گیاهی ۲: ۳٤-۲۱.

سلطانی‌دلربا، ن. کرمیان، ر. رنجبر، م. (۱۳۹۰) اثر برهمکنش سالیسیلیک اسید و تنش سرما بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.). مجله‌ی داروهای گیاهی ۲: ۱۳-۷.

شاکری، ف.، بانی‌نسب، ب.، قبادی، س. و مبلی، م. (۱۳۸۸). اثر غلظت و روش استفاده از پاکلوبوترازول بر رشد رویشی و زایشی توت‌فرنگی رقم سلوا (*Fragaria* × *ananassa* Duch. cv. Selva). فصلنامه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی. ۲۳: ۲٤-۱۸.

کاری دولت‌آبادی، ح.، محمدی گل‌تپه، ا.، معینی، ا. و ورما، آ. (۱۳۹۱) ارزیابی تأثیر غلظت های مختلف اکسین و قارچ های *Piriformospora indica* و *Sebacina vermifera* روی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) در شرایط درون شیشه‌ای. فصلنامه گیاهان دارویی ۲:۲۲-۱۳.

کاظمی‌شاهاندشتی، ص. معالی‌امیری، ر. زینالی‌خانقاه، . (۱۳۹۰) بررسی برخی شاخصهای خسارت سلولی تحت تنش سرما در نخود جم. فصلنامه ژنتیک نوین. ٤. ۷۷-۷۰.

کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۵۰۲ صفحه.

کافی، م. مهدوی‌دامغانی، ع. (۱۳۸٦) مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی. ترجمه. انتشارات دانشگاه مشهد. ٤٦۷ صفحه.

محسن‌زاده، س.، کریمی‌اندانی، ج. و محبت‌کار، حسن. (۱۳۸۹) مطالعه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و توالی یکی از ژن پاسخ دهنده به تنش سرما در چهار رقم گندم حساس و مقاوم. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ٤۱: ٦۲۱-٦۱۳.

ونایی، س.، سی‌و سه مرده، ع. و حیدری، غ. ۱۳۹۰. اثرات تنش سرما در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در نخود (*Cicer arietinum* L.). فصلنامه پژوهش‌های زراعی ایران ۹: ۵۲٤-۵۱٤.

Adya, A. K., Gautam, A., Zhang, L. and Varma, A. (2013) Characterization of *Piriformospora indica* Culture Filtrate. *Piriformospora indica*. Soil Biology 33: 345-375.

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

Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Method of Enzymology 105:121-126.

Bradford, M. M. (1976) A Rapid and sensitive method for the quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Methods of Biochemical Analysis 72:248-254.

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B. D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K. H., Schäfer, P., and Schwarczinger, I. (2008) Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

Knight, H. and Knight, M. R. (2001) Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. Journal of Trends Plant Science 6: 262-267.

Kumar, M., Sharma, R., Jogawat, A., Singh, P., Dua, M., Gill, S.S., Trivedi, D. K., Tuteja, N., Varma, A. K., Oelmueller, R., and Johri, A. K. (2012) *Piriformospora indica* a root endophytic fungus, enhances abiotic stress tolerance of the host plant. Improving Crop Resistance to Abiotic Stress. 1 and 2: 543-548.

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

Kumari, R., H. Kishan, Y. K. Bhoon and A. Varma, (2003) Colonization of cruciferous plants by *Piriformospopra indica*. Current Science 85: 1672-1674.

Lin, K. H. R., Tsou, C. C., Hwang, S. Y., Chen, and L. F. O., Lo, H. F. (2006) Paclobutrazol pre-treatment enhanced flooding tolerance of sweet potato. Journal of Plant Physiology 163:750-760.

Modarresi, M., G. Nematzadeh, F. Moradian and S. M. Alavi. (2012) Identification and Cloning of the Cu/Zn Superoxide Dismutase Gene from Halophyte Plant *Aeluropus littoralis*. Russian Journal of Genetics 48: 130-134.

Pan, Y., Jun, W. L. and Liang. Y. Z. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzyme activities and SOD isoenzymes of liquorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch). Plant Growth Regulation 49: 157-165.

Pinhero, R., and Fletcher, R. (1994) Paclobutrazol and ancymidol protect corn seedlings from high and low temperature stresses. Plant Growth Regulation 15: 47–53.

Rai, M., D. Achaya, A. Singh and Varma, A. (2001) Positive growth responses of the medicinal plants Spilanthes calva and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. 2001. Mycorrhiza 11: 123-128.

Rai, M. and Varma, A. (2005) Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of Adhatoda vasica. Electronic Journal of Biotechnology 8: 107-111.

Sankar, B., Jaleel, C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007) Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. Acta Botanica Croatica 66: 43–56.

Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A. H., and Ozfidan, C. (2010) The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barley grass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley).Journal of Environmental and Experimental Botany 69: 76-85.

increase in antioxidants. Journal New Phytologist 180: 501–510.

Baninasab, B. (2009) Amelioration of chilling stress by Paclobutrazol in watermelon seedlings. Journal of Scientia Horticultura 121: 144–148.

Bearden, B. N. (2001) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and soil water characteristics of vertisols. Plant and Soil 229: 245-258.

Blee K. A., and Anderson, A. J. (1996) Defense-Related transcript accumulation in *Phaseolus vulgaris* L. colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus glomus intraradices Schenck & Smith. Journal of Plant Physiology 110: 675-688.

Cao, S., Bian, X., and Jiang, S. (2010) Cold treatment enhances lead resistance in Arabidopsis. Acta Physiologiae Plantarum 32: 19-25.

Davis, T. D., and Curry, E. A. (1991) Chemical regulation of vegetative growth. Critical Reviews in Plant Science 10: 151–188.

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

Druege, U., Baltruschat, H., and Franken, P. (2007) *Piriformospora indica* promotes adventitious root formation in cuttings. Journal of Scientia Horticulturae. 112: 422-426.

Foyer, C. F., and Nector, G. (2000) Oxygen processing in photosynthesis regulation and signaling. New Phytologist 46: 359-388.

Foyer, C. H., Lelandais, M., and Kunert, K. J. (1994) Photooxidative stress in plants. Journal of Physiologia Plantarum 92: 696-717.

Irigoyen, J. J., Fmerrich, D. W., and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. Physiol pland. 84:55-60.

Jan, N., ul-Hussain, M., I. and Andrabi, KH. (2009) Cold resistance in plants: A mystery unresolved. Electronic Journal of Biotechnology 12: 1-15.

Jubany-Mari, T., Prinsen, E., Munne-Bosch, S., and Alerge, L. (2010) The timing of methyl jasmonat, hydrogen peroxide and ascorbate accululation during water deficit and subsequentrecovery in the Meditrranean shrub *Cistus albidus* L. Journal of Environmental and Experimental Botany 69:47-55.

Kaefer, E. (1977) Meiotic mitotic recombination in Aspergillus and its chromosomal aberration. Advances in Genetics 19: 33-131.

Khalid, K. A. (2006) Influence of water stress on growth, essential oil and chemical composition of herbs (*Ocimum sp*.). International Agrophysics 20: 289- 296.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]

Piriformospora indica, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. Mycologia 95:896–903.

Waller, F., B. Achatz, H. Baltruschat, J. Fodor, K. Becker, M. Fischer, T. Heier, R. Huckelhoven, C. Neumann, D. Wettstein, P. Franken, and K. Kogel. (2005) The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt- stress tolerance, disease resistance, and higher yield. In: Proceedings of the National Academy of Sciences 103: 18450-18457.

Xing, L. and Zhu, J. H. (2002) Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. Plant Cell and Environment 25: 131-139.

Yeshitela T., Robbertse P. J. and Stassen P. J. C. (2004) Paclobutrazol suppressed vegetative growth and improved yield as well as fruit quality of 'Tommy Atkins' mango (*Mangifera indica*) in Ethiopia. New Zealand Journal of Crop Horticulture Science 32: 281-293.

Young, R. S. (1983) Peach growth response from PP333 (Paclobutrazol). Plant Growth Regulation Society America 10: 192-194.

Zhu, Z. Liang, Z. and Han, R. (2009) Saikosapnin accumulation and antioxidative protectionin drought-stressed *Bupleurum chinense* DC. Plants. Environtal and Experimental Botany 66: 326-333.

Sairam, R. K., Veerabhadra Rao, K., Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Journal of Plant Science 163: 1037-1046.

Sun, Ch., Johnson, J. M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmüller, R., and Lou, B. (2010) *Piriformospora indica* cofers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. Journal of Plant Physiology 167: 1009-1017.

Tang, W., Newton, R. J. (2005) Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) zygotic embryos. Journal of Plant Physiology and Biochemistry 43:730-769.

Tobeh, A., and Jamaati-e-Somarin, SH. (2012) Low temperature stress effect on wheat cultivars germination. African Journal of Microbiology Research 6 :1265-1269.

Varma, A., Kost, G., and Oelmüller, R. (2013) *Priformospora indica*. Sebacinales and Their Biotechnological Applications Series: Soil Biology 33: 397 pp.

Verma, S., A. Varma, KH. Rexer, G. Kost, A. Sarbhoy, P. Bisen, B. Butehorn, Franken. P. (1998)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.8.1]