Archive of SID

تأثیر قارچ *Piriformospora indica* در کاهش اثرات منفی تنش شوری در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

طاهره اکبری[۱]، مجید رستمی[۲*]، مهدی قبولی[۲]، زهرا موحدی[۲]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی تولیدات گیاهی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
۲- گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

* مسئول مکاتبه: M.rostami@malayeru.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۵ **DOI:10.22034/csrar.2021.265529.1077**

چکیده

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی دارویی از خانواده نعناعیان است که بوی لیمو از مشخصات بارز آن است. جهت بررسی اثر همزیستی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیک گیاه دارویی بادرنجبویه در شرایط تنش شوری، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر در سال ۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل روش‌های مختلف استفاده از قارچ (میسیلیوم، کاربرد اسپور در یک نوبت، کاربرد اسپور در دو نوبت و شاهد بدون قارچ) به‌عنوان فاکتور اول و دو سطح تنش شوری (شوری صفر و چهار دسی زیمنس بر متر) به‌عنوان فاکتور دوم بود. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که برهم‌کنش تیمارهای قارچ و تنش شوری بر ارتفاع ساقه، طول ریشه، وزن خشک برگ، کلروفیل a، محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء و میزان پروتئین محلول برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میزان ارتفاع بوته، طول ریشه و وزن خشک برگ مربوط به تیمار کاربرد اسپور در دو نوبت و در شرایط بدون تنش بوده است. درحالیکه بیشترین میزان کلروفیل a و همچنین بیشترین پایداری غشاء با استفاده از میسیلیوم قارچ و در شرایط بدون تنش شوری و بیشترین محتوای نسبی آب برگ با یک نوبت استفاده از اسپور و بدون اعمال تنش شوری حاصل شد. به‌طورکلی و باتوجه‌به نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد که استفاده از این قارچ برای تعدیل اثرات منفی تنش شوری قابل توصیه است و از بین تیمارهای مختلف قارچ کاربرد اسپور قارچ در دو نوبت قابلیت بیشتری در کاهش اثرات منفی تنش شوری دارد.

واژه‌های کلیدی: اسپور، کلروفیل، گیاهان دارویی، میسیلیوم، همزیستی

مقدمه

گیاهان زراعی همواره در معرض تنش‌های محیطی متفاوتی قرار دارند که باعث کاهش عملکرد و کیفیت آنها می‌شود. تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تأثیر قابل‌توجهی بر بسیاری از ویژگی‌های ظاهری و همچنین صفات فیزیولوژیک اکثر گیاهان دارد و با تأثیر منفی بر رشد و نمو گیاهان، عملکرد و کیفیت نهایی محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Azad *et al*., 2018). بروز تنش شوری از ابتدای رشد و مرحله جوانه‌زنی تا مراحل پایانی دوره رشد فعال گیاه می‌تواند بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاهان اثرات منفی داشته باشد. این تنش ابتدا از طریق تأثیر بر روابط آبی و برهم زدن تعادل اسمزی موجب بروز خسارت می‌شود (Rostami *et al*., 2020). باوجوداینکه اثرات منفی تنش شوری بر عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی به اثبات رسیده است بااین‌حال از لحاظ تأثیر بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی در برخی از موارد اثرات متفاوتی مشاهده شده است. قربانی و همکاران (Ghorbani *et al*., 2018) مشاهده کردند که تنش شوری موجب کاهش وزن خشک و همچنین بسیاری از اجزاء اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) شد بااین‌وجود تنش باعث شد برخی از ترکیبات بیوشیمیایی موجود در اسانس افزایش یابد.

برقراری رابطه همزیستی بین گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک و از جمله قارچ مایکوریزا آربوسکولار باعث تقویت گیاه و بهبود رشد در شرایط مواجهه با انواع تنش‌های محیطی می‌شود (Rostami and Rostami, 2019). قارچ اندوفیت

www.SID.ir

Archive of SID

Piriformospora indica ازجمله میکروارگانیسم‌های خاکزی می‌باشد که با ایجاد رابطه‌ی همزیستی با طیف وسیعی از گیاهان موجب القای افزایش رشد در گیاهان می‌شود (Deshmukh *et al*., 2006). تفاوت اصلی و مهم *P. indica* با قارچ‌های آربوسکولار در این است که برخلاف این قارچ‌ها که هم‌زیست اجباری بوده و تنها در مجاورت گیاه میزبان رشد و تکثیر می‌یابند، قارچ *P. indica* هم‌زیست اختیاری است و به‌راحتی در محیط کشت مصنوعی قادر به رشد و تکثیر است (Qiang *et al*., 2012). این قارچ را به سبب دارا بودن وجوه مشترک با قارچ‌های میکوریز و نیز توانایی آن در همزیستی با ریشه گیاهان مختلف و القاء رشد گیاه میزبان شبه میکوریز می‌نامند (Varma *et al*., 2007). گزارش‌های متعددی در زمینه نقش این قارچ در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی و نیز تنش‌های زیستی مانند بیماری‌های گیاهی وجود دارد (Baltruschat *et al*., 2008). تحمل این قارچ به شوری زیاد و شوری‌های در حد ۴۰۰ میلی‌مول کلرید سدیم را تحمل و از طریق اتخاذ سازوکارهای مختلف تحمل گیاه میزبان به شوری را افزایش می‌دهد (Zarea *et al*., 2013). این قارچ از طریق بهبود تغذیه‌ای گیاه و همچنین ایجاد تغییرات سیستمیکی (آمادگی دفاعی) وابسته به فعالیت مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه، قادر به افزایش رشد و مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی است (Deshmukh *et al*., 2006).

باوجود اینکه نقش مفید قارچ *P. indica* در بهبود عملکرد و همچنین کاهش اثرات ناشی از تنش‌های محیطی در بسیاری از گیاهان به اثبات رسیده است ولی در مورد گیاهان دارویی تحقیقات کمتری انجام شده است. نتایج پژوهش رشنو و همکاران (Rashnoo *et al*., 2020) نشان داد که محلول پاشی عصاره این قارچ موجب بهبود بسیاری از ویژگی‌های رشدی در گیاه دارویی کاسنی (*Cichorium intybus* L.) شد. علاوه بر این گزارش شده که قارچ می‌تواند موجب بهبود جوانه زنی در بذر گیاه دارویی کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) شود (Ghabooli *et al*., 2019). هدف از این آزمایش بررسی اثرات قارچ بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاه بادرنجبویه در شرایط تنش‌شوری بود علاوه بر این روش‌های مختلف استفاده از قارچ نیز با یکدیگر مقایسه شدند تا مناسب‌ترین روش کاربرد قارچ شناسایی شود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر انجام شد. بذر گیاه بادرنجبویه در گلدان‌هایی به ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر و قطر ۲۵ سانتی‌متر کشت شد و پس از سبز شدن و استقرار گیاهچه‌ها در هر گلدان تعداد ده عدد گیاهچه یکنواخت نگهداری شد. خاک گلدان‌ها حاوی ماسه، خاک زراعی و پرلیت با نسبت ۱:۲:۱ بود. تیمارهای آزمایش شامل روش‌های مختلف استفاده از قارچ (استفاده از میسیلیوم (M) استفاده از اسپور در یک نوبت (S1) استفاده از اسپور در دو نوبت (S2) و شاهد بدون قارچ (C) به‌عنوان فاکتور اول و سطوح مختلف تنش شوری به‌صورت آبیاری گلدان‌ها با آب شور (شوری صفر و ۴ دسی زیمنس بر متر) به‌عنوان فاکتور دوم بودند. تیمار S1 حاوی ۵۰۰ هزار اسپور در یک میلی‌لیتر و تیمار S2 با رقیق کردن تیمار S1 به میزان ۵۰ درصد ساخته شد و در دو نوبت به کار برده شد. دو هفته پس از سبز شدن گیاهچه‌ها تیمارهای مربوط به قارچ اعمال شد و پس از آن تا پایان دوره آزمایش و در فواصل زمانی مناسب، صفت‌هایی مانند ارتفاع بوته، وزن خشک برگ، میزان پروتئین و رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ، محتوای نسبی آب و میزان نشت یونی سنجیده شدند.

کشت قارچ و آماده‌سازی مایه تلقیح

جدایه قارچ مذکور با تهیه تعداد کافی پتری دیش محتوی محیط کشت پیچیده (حاوی عناصر میکرو، ماکرو، نمک‌ها، پیتون و عصاره‌ی مخمر)، کشت داده شد و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور به مدت یک ماه نگهداری شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم جهت تولید اسپور، اسپورهای قارچ جمع‌آوری شده و تعداد آن‌ها با استفاده از لام نئوبار شمارش شد. برای تهیه میسیلیوم، دیسک‌های فعال قارچ از محیط کشت برداشته و در ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع قرار داده شدند و سپس در شیکر انکوباتور با دمای ۲۸±۲ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۵۰ rpm به مدت ۱۰-۷ روز قرار گرفتند و در مرحله پایانی با استفاده از فیلترکاغذی، میسیلیوم‌ها از محیط کشت

www.SID.ir

Archive of SID

جدا و به‌منظور حذف باقیمانده‌های محیط کشت، چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. محتوی آب نسبی پس از جداکردن برگ توسعه یافته و مشابه از هر گدان با استفاده از رابطه ۱ سنجیده شد (Barrs and Weatherley, 1962). دراین‌رابطه FW، TW و DW به ترتیب بیانگر وزن تر، وزن آماس و وزن خشک می‌باشد.

$$RWC\% = \left(\frac{FW-DW}{TW-DW}\right) \times 100 \quad (۱)$$

رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ به روش اسپکتروفتومتری مورد سنجش قرار گرفتند (Arnon, 1949). پس از کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر JENUS مدل UV-1200، طول‌موج ۶۶۳ نانومتر برای سنجش میزان کلروفیل a استفاده شد و سپس اعداد مربوط به جذب در رابطه ۲ قرار داده شد و مقدار کلروفیل a محاسبه شد.

$$Chl_a\ (mg/g) = \frac{[(12.7 \times A663)-(2.69 \times A645)]}{10} \quad (۲)$$

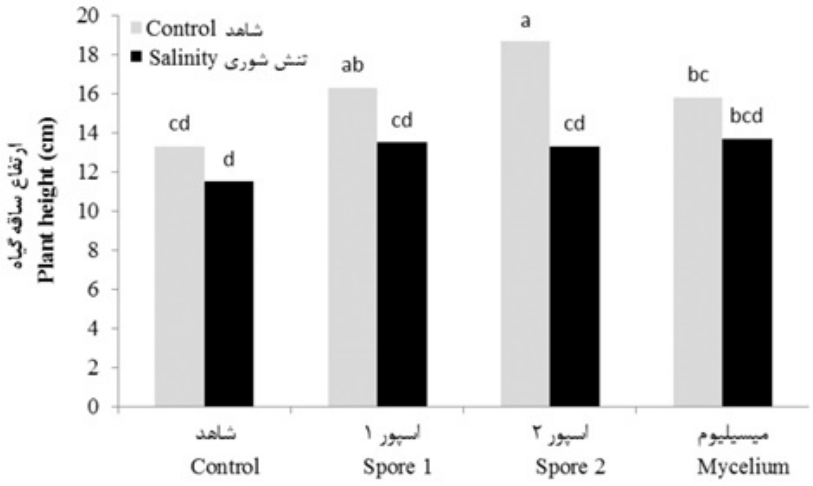
برای سنجش پروتئین محلول از روش (Bradford, 1976) استفاده شد. شاخص آسیب غشایی نیز به‌صورت غیرمستقیم و توسط سنجش نشت الکترولیت از بافت‌های گیاه محاسبه شد. نمونه‌های برگی توسط آب مقطر به‌خوبی شسته گردید تا املاح سطحی آن از بین برود. سپس در ظرفی قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار داده شد و مقدار هدایت الکتریکی آن اندازه‌گیری شد (L_t). سپس ظروف حاوی نمونه‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش و دوباره به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار گرفتند و مقدار هدایت الکتریکی آن (L_b) سنجیده شد. در پایان درصد شاخص آسیب غشایی (I%) با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد.

$$I\% = (L_t / L_b) \times 100 \quad (۳)$$

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار Minitab مورد تجزیه قرار گرفته و نمودارهای مربوط به مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel آماده شدند. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و سطوح تنش شوری بر ارتفاع ساقه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (شکل ۱). کمترین ارتفاع ساقه (۱۱/۵ سانتی‌متر) در تیمار شاهد بدون قارچ (C) و در شرایط تنش شوری مشاهده شد و بیشترین ارتفاع ساقه در تیمار (S2) و در شرایط بدون تنش اندازه‌گیری شد که ۶۲ درصد بیشتر از کمترین ارتفاع بود. در شرایط بدون تنش کاربرد قارچ موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته شد ولی فقط در تیمارهای کاربرد اسپور قارچ اختلاف مشاهده شده با تیمار شاهد معنی‌دار بود. در شرایط بدون تنش فقط تیمار (S2) با تیمار کاربرد میسیلیوم اختلاف معنی‌دار داشت. هرچند در شرایط تنش شوری کاربرد همه تیمارهای قارچ موجب افزایش ارتفاع بوته شد ولی بااین‌وجود اختلاف مشاهده شده معنی‌دار نبود (شکل ۱).



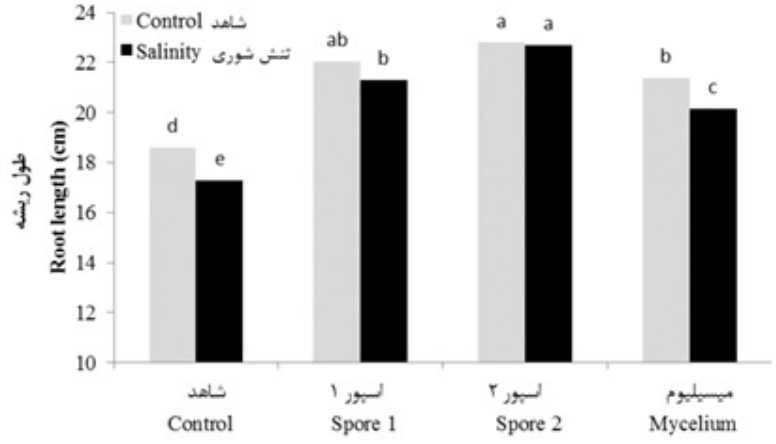
شکل ۱- برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و تنش شوری بر ارتفاع ساقه گیاه بادرنجبویه
Figure 1- Interaction of fungi treatments and salinity stress on plant height

www.SID.ir

Archive of SID

طول ریشه

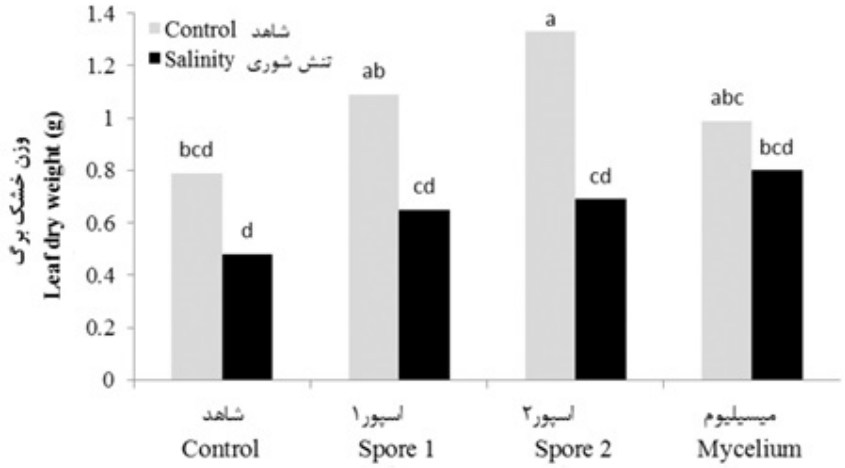
بر اساس نتایج به‌دست‌آمده برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و سطوح تنش شوری بر طول ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (شکل ۲). تیمارهای قارچ باعث شدند طول ریشه در مقایسه با تیمار شاهد هم در شرایط تنش شوری و هم در شرایط عدم تنش افزایش یابد. بیشترین طول ریشه (۲۲/۸ سانتی‌متر) در تیمار اسپور سطح ۲ (S2) و در شرایط بدون تنش شوری اندازه‌گیری شد. در شرایط اعمال تنش شوری و عدم استفاده از قارچ طول ریشه حدود ۲۴ درصد کاهش یافت و به کمترین میزان رسید (شکل ۲). از بین تیمارهای قارچ، کاربرد میسیلیوم در مقایسه با دو تیمار دیگر که مربوط به استفاده از اسپور قارچ بودند تأثیر کمتری بر طول ریشه داشت.



شکل ۲- برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و تنش شوری بر طول ریشه
Figure 2- Interaction of fungi treatments and salinity stress on root length

وزن خشک برگ

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده برهمکنش تیمارهای مختلف قارچ و سطوح تنش شوری بر وزن خشک برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (شکل ۳). بیشترین میزان وزن برگ (۱/۳ گرم در بوته) در تیمار اسپور سطح ۲ (S2) و در شرایط بدون تنش شوری و کمترین میزان وزن خشک برگ (۰/۴۸ گرم در بوته) در تیمار شاهد (C) و در شرایط تنش شوری مشاهده شد. در شرایط تنش شوری کلیه تیمارهای قارچ موجب افزایش وزن خشک برگ شدند ولی اختلاف مشاهده شده با تیمار شاهد معنی‌دار نشد (شکل ۳).



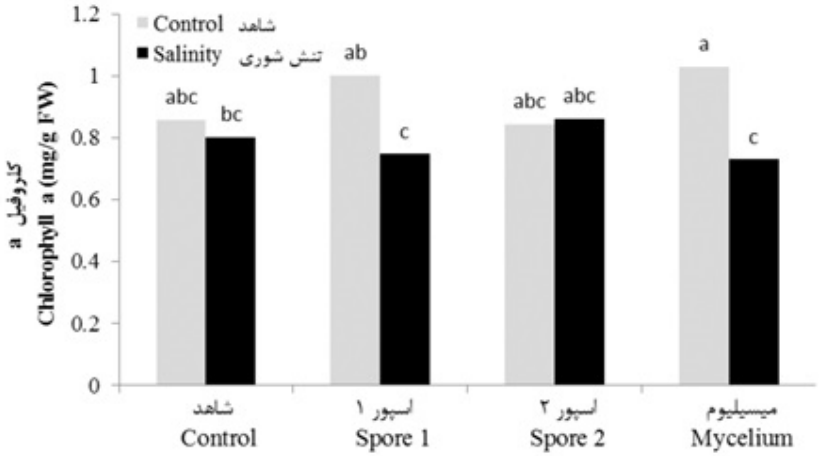
شکل ۳- برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و تنش شوری بر وزن خشک برگ
Figure 3- Interaction of fungi treatments and salinity stress on root length

www.SID.ir

Archive of SID

کلروفیل a

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و سطوح تنش شوری بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (شکل ۴). بیشترین میزان کلروفیل a (۱/۴۴ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار کاربرد میسیلیوم (M) و در سطح بدون تنش شوری و کمترین میزان این رنگیزه (۰/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار سطح یک اسپور (S1) و در شرایط تنش شوری مشاهده شد (شکل ۴).

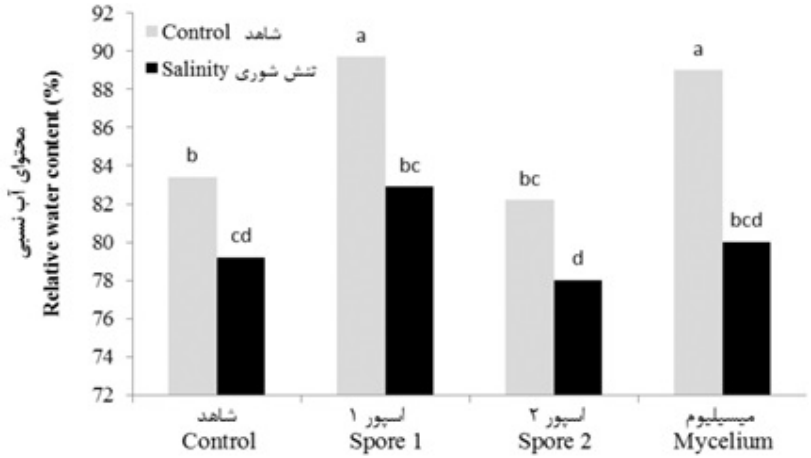


شکل ۴- برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و تنش شوری بر میزان کلروفیل a

Figure 4- Interaction of fungi treatments and salinity stress on chlorophyll a

محتوای نسبی آب برگ

بر اساس نتایج بدست آمده برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و تنش شوری بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. بیشترین محتوای آب نسبی (۸۹/۷ درصد) در تیمار سطح ۱ اسپور(S1) و در شرایط بدون تنش شوری اندازه‌گیری شد. بااین‌وجود در شرایط بدون تنش و کاربرد میسیلیوم نیز اختلاف معنی‌داری با تیمار (S1) مشاهده نشد و هر دو در یک گروه آماری قرار گرفتند. کمترین میزان (۷۸ درصد) در تیمار سطح ۲ اسپور (S2) و در تنش شوری اندازه‌گیری شد که حدود ۱۳ درصد کمتر از تیمار (S1) بود (شکل ۵). در شرایط تنش شوری هیچ‌یک از تیمارهای قارچ از لحاظ محتوای آب نسبی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند (شکل ۵).



شکل ۵- برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و تنش شوری محتوی آب نسبی برگ

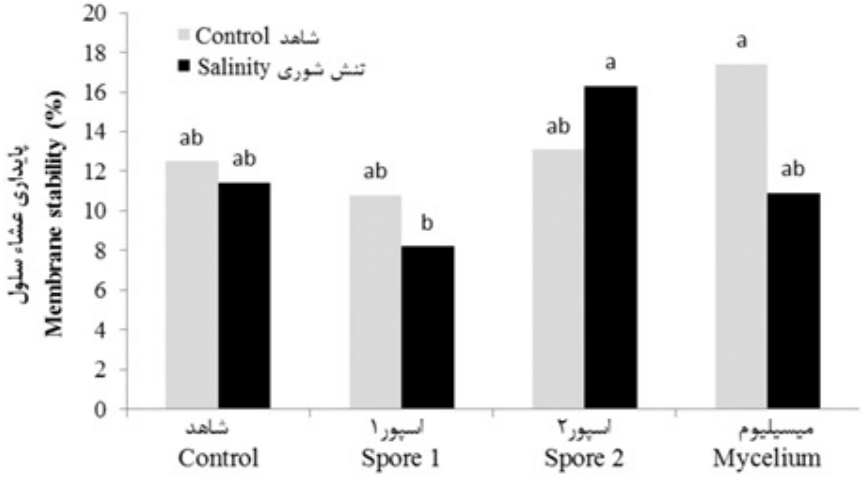
Figure 5- Interaction of fungi treatments and salinity stress on leaf relative water content (RWC)

www.SID.ir

Archive of SID

پایداری غشا

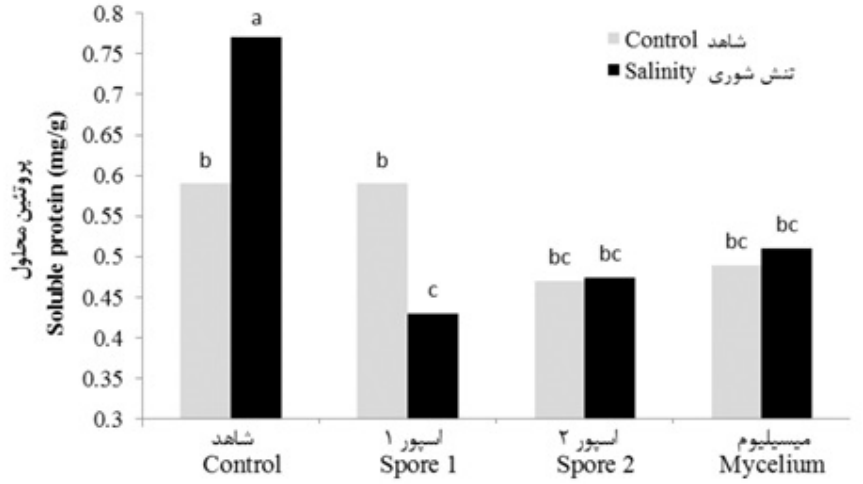
برهم‌کنش تیمارهای قارچ و سطوح تنش شوری بر میزان نشت یونی (پایداری غشا) در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (شکل ۶). بیشترین میزان پایداری غشاء (۱۷/۴۳ درصد) در تیمار میسیلیوم (M) و در سطح بدون تنش شوری و کمترین میزان (۸/۷ درصد) در تیمار سطح یک اسپور (S1) و در شرایط تنش شوری دیده شد.



شکل ۶- برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و سطوح تنش شوری بر پایداری غشاء سلولی
Figure 6- Interaction of fungi treatments and salinity stress on cell membrane stability

پروتئین محلول

برهم‌کنش تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتئین برگ گیاه بادرنجبویه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان پروتئین محلول (۰/۷۶ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار شاهد (بدون قارچ) و در شرایط تنش شوری مشاهده شد و اختلاف این تیمار با کلیه تیمارها معنی‌دار بود. کمترین میزان پروتئین محلول (۰/۴۳ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به سطح یک اسپور (S1) در شرایط تنش شوری بود. بین اکثر تیمارهای مورداستفاده اختلاف معنی‌داری دیده نشده است (شکل ۷).



شکل۷- برهم‌کنش تیمارهای مختلف قارچ و سطوح تنش شوری بر میزان پروتئین محلول برگ
Figure 7- Interaction of fungi treatments and salinity stress on leaf soluble protein

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

رشد و ارتفاع بوته به شرایط محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند وابسته است. یکی از این شرایط، فراهم بودن آب کافی برای گیاه است. در صورت عدم تأمین آب موردنیاز گیاه، فشار تورژسانس سلول‌ها کاهش می‌یابد و با اثر بر طول سلول‌ها، کاهش ارتفاع رخ می‌دهد. تنش اسمزی حاصل از تنش شوری موجب کاهش محتوای آب سلول‌ها می‌شود و طویل شدن سلول‌ها با مشکل مواجه می‌گردد (Ghorbani *et al*., 2018) ارتفاع گیاه یکی از خصوصیات مورفولوژیکی است که به‌شدت تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد و در گیاهان تحت تنش شوری، عدم تورژسانس مناسب سلول‌ها و تخصیص بیشتر مواد سنتز شده جهت مقابله با تنش، کوتاه شدن دوره رشد گیاه و نیز مکانیزم‌های فرار از تنش همگی می‌توانند مانع از توسعه عادی سلول‌ها و درنتیجه کاهش ارتفاع گیاه شوند (Munns and Tester, 2008) بهبود ویژگی‌های رشدی گیاهان در شرایط همزیستی با قارچ‌های اندوفیت و از جمله قارچ *P. indica* قبلاً گزارش شده است. قربانی و همکاران (Ghorbani *et al*., 2016) گزارش کرده‌اند که تلقیح قارچ *P. indica* باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع و قطر ساقه گوجه‌فرنگی به ترتیب به میزان ۳۰ و ۱۹ درصد نسبت به گیاه شاهد شد که این امر نشان‌دهنده تأثیر مثبت همزیستی این قارچ بر روی رشد گیاه بود. همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه نعناع وحشی (*Mentha arvensis*) از طریق جذب آب و عناصر غذایی، سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود رشد، مانند ارتفاع گیاه گردید (Gupta *et al*., 2002). نتایج پژوهش دیگری که در ارتباط با قارچ *P. indica* انجام شده، نشان داد که این قارچ از طریق همزیستی با ریشه گیاهان دارویی باعث افزایش معنی‌داری در رشد و توسعه آن‌ها می‌شود (Rai *et al*., 2001).

هرچند در آزمایش حاضر کاربرد تیمارهای مختلف قارچ، باعث شد وزن خشک برگ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یابد، بااین‌وجود در شرایط تنش شوری هیچ‌یک از تیمارهای قارچی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. پژوهشگران دیگر نیز بیان کرده‌اند که گیاهان برنج تیمار شده با قارچ *P. indica*، وزن تر و وزن خشک بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند (Bagheri *et al*., 2013). به نظر می‌رسد که این قارچ نیز همانند قارچ میکوریز از طریق گسترش هیف و توسعه سیستم ریشه، سطح جذب آب بیشتری برای گیاه فراهم کرده و به دنبال جذب آب بیشتر، مواد غذایی بیشتری نیز جذب شده که منجر به تولید و تجمع ماده خشک بیشتری در مقایسه با تیمار بدون قارچ می‌گردد.

ازآنجاکه افزایش شدت تنش شوری فرایند تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی را سریع‌تر می‌کند، گیاهان تحت تنش شوری معمولاً کلروفیل کمتری دارند بنابراین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌توانند به‌نوعی منعکس‌کننده تأثیر تنش شوری بر گیاه باشند (Azad *et al*., 2018). کاهش مقدار کلروفیل به‌احتمال زیاد ناشی از تأثیر مزمن تجمع یون‌ها در کلروپلاست می‌باشد. شوری از طریق تنش‌های اکسیداتیو باعث تخریب کلروفیل می‌شود. افزایش سطح شوری، از طریق افزایش املاح منجر به کاهش تولید کلروفیل می‌گردد. ازآنجایی‌که گلوتامات ترکیب اولیه پرولین و کلروفیل می‌باشد به نظر می‌رسد که بیشتر به تولید پرولین اختصاص می‌یابد و به همین دلیل مقدار کلروفیل کل کاهش می‌یابد (Bybordi, 2012).

در این آزمایش افزایش محتوای کلروفیل a در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* در تیمار بدون تنش شوری می‌تواند به دلیل بهبود وضعیت آبی گیاه و به دنبال آن افزایش جذب عناصر غذایی باشد. نتایج پژوهش‌های دیگر نشان داده است که بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های مایکوریزا، می‌تواند به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان باشد زیرا گزارش‌های زیادی از افزایش جذب فسفر توسط این قارچ به گیاه میزبان ارائه گردیده است (Zarea *et al*., 2013). بااین‌حال کاربرد تیمارهای قارچ در شرایط تنش شوری تأثیری بر میزان این رنگیزه نداشت. به نظر می‌رسد افزایش غلظت املاح در محیط ریشه مانع از جذب عناصر غذایی موردنیاز برای سنتز کلروفیل شده است. گزارش شده است که قارچ میکوریزا با افزایش جذب میزان منیزیوم موجب افزایش سنتز کلروفیل می‌شود (Giri *et al*., 2002).

افزایش تجمع یون‌ها به‌ویژه سدیم و کلر می‌تواند در کاهش میزان آب نسبی مؤثر باشد (Munns and Tester, 2008) کاهش میزان محتوای آب نسبی در شرایط شور می‌تواند ناشی از کاهش مقدار جذب آب باشد. محتوای آب نسبی برگ، معیار

www.SID.ir

Archive of SID

مناسبی جهت بررسی وضعیت آبی گیاه است. افزایش سطوح شوری محتوای آب نسبی برگ را کاهش داد که علت آن می‌تواند کاهش پتانسیل آب خاک و افزایش جذب یون‌های کلر و سدیم باشد (Fricke and Peter, 2002). افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* ، ممکن است به علت سازوکار قدرتمند آن در تنظیم اسمزی باشد، میزان تنظیم اسمزی در اندام‌های درحال‌رشد به تأمین اسمولیت‌ها بستگی دارد.

سنجش محتوای نسبی آب برگ یکی از روش‌های سریع برای آگاهی از وضعیت روابط آبی گیاه است. در شرایط تنش شوری به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی میزان فراهمی آب برای ریشه گیاهان کاهش می‌یابد و گیاه در واقع دچار تنش خشکی فیزیولوژیک می‌شود و به همین دلیل محتوای نسبی آب برگ با شدت تنش شوری یک رابطه عکس دارد (Rostami *et al*., 2015).

نشت الکترولیت‌ها به خارج از دیواره سلولی نشانه‌ای از آسیب غشاها و کاهش پایداری غشاها است. به نظر می‌رسد تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول، موجب کاهش پایداری غشا و افزایش نشت مواد سیتوپلاسمی شده است و در نتیجه افزایش نسبت نشت الکترولیت را به دنبال دارد (Azari *et al*., 2012). در شرایط تنش شوری تیمار سطح دوم اسپور و در شرایط بدون تنش تیمار میسیلیوم قارچ بیشترین میزان پایداری غشاء را نشان دادند. نتایج پژوهش‌های دیگر نیز نشان داده که در سطوح پایین و متوسّط شوری حدود صفر تا ۱۰۰ میلی مولار (NaCl) شاخص نشت الکترولیت در گیاه استویای تلقیح شده با قارچ *P. indica* نسبت به گیاهان تلقیح نشده کاهش یافت که نشان‌دهنده افزایش پایداری غشایی گیاهان تلقیح شده در برابر تنش شوری است (Akandi et al., 2016). بااین‌حال عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای قارچ و شاهد در آزمایش حاضر، بیانگر لزوم مطالعه اختصاصی در زمینه تأثیرات این قارچ بر صفاتی همچون پایداری غشا سلول است.

باقری و همکاران (Bagheri *et al*., 2013) با بررسی اثرات قارچ *P. indica* بر برنج (*Oryza sativa* L) بیان کردند که گیاهان تیمار شده با قارچ در شرایط شوری نسبت به گیاهان شاهد رشد بهتری را نشان دادند و علاوه بر این در اندام‌های هوایی و ریشه، میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. نتایج پژوهشی دیگر در مورد گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgar*) نشان داد که کاربرد قارچ میکوریزا تأثیر معنی‌داری بر پروتئین برگ دارد (Kapoor *et al*., 2004). در تحقیقات بسیاری از محققان نیز گزارش شده که پروتئین‌های محلول برگ در پاسخ به تنش شوری کاهش می‌یابند (Parida *et al*., 2002). این نتیجه با نتایج حاصل از آزمایش ما مغایرت دارد. در این آزمایش حتی در تیمار شاهد نیز افزایش میزان پروتئین در شرایط شوری نسبت به شرایط غیر شوری مشاهده شده است. به نظر می‌رسد تغییر میزان پروتئین محلول در واکنش به تنش شوری وابسته به غلظت باشد و با افزایش بیشتر غلظت املاح در نهایت این رابطه عکس شکل خواهد گرفت. نتایج پژوهش آزاد و همکاران (Azad *et al*., 2018) نیز نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری از ۲ به ۴ dS/m، میزان پروتئین محلول در گیاه بالنگو (*Lallemantia royleana*) افزایش یافت ولی در سطوح بالاتر شوری میزان پروتئین محلول به‌صورت معنی‌داری کم شد.

نتیجه‌گیری

تنش شوری بر بیشتر صفات موردمطالعه تأثیر منفی داشت درحالی‌که کاربرد قارچ *P. indica* هم در شرایط تنش شوری و هم در شرایط بدون تنش تأثیر مثبتی بر صفاتی همچون ارتفاع گیاه و طول ریشه داشت. بهبود این ویژگی‌ها در گیاهان می‌تواند از طریق افزایش میزان دسترسی به نهاده‌ها از جمله آب و عناصر غذایی سبب تقویت رشد گیاه شود. تأثیر تیمارهای قارچ بر صفات مورد سنجش به یک میزان نبوده و به‌طورکلی با درنظرگرفتن ویژگی‌های رشدی گیاه بادرنجبویه از بین تیمارهای قارچ که در این آزمایش بررسی شدند، کاربرد اسپور در دو نوبت اثرات مثبت بیشتری به همراه داشت و این تأثیر مفید عمدتاً در صفاتی مانند ارتفاع ساقه، طول ریشه و وزن خشک برگ، مشاهده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

Akandi, Z.N., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y., and Omran, V.G. 2016. Investigation of antioxidant enzymes activity and photosynthetic pigments content changes of stevia medicinal plant inoculated with Piriformospora indica fungi under salt stress. *Journal of Crops Improvement*, 18(3): 639-653.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphennoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*, 24: 150-151.

Azad, M., Rostami, M., Ghabooli, M. and Movahedi, Z. 2018. Interaction of salinity and salicylic acid on physiological characteristics of *Lallemantia royleana*. Journal of Plant Research (Iranian *Journal of Biology*), 31(2): 208-220. (In Persian).

Azari, A., Modarres Sanavi, S. A.S.M., Askari, H., Qanati, F., Naji, A.M., and Alizadeh, B. 2012. The effect of salinity stress on morphological and physiological traits of rapeseed and oilseed rape (*Brassica napus* and *B. rapa*). *Iranian Journal of Crop Sciences*, 14 (2): 121-135. (In Persian).

Bagheri, A.A., Saadatmand, S., Niknam, V., Nejadsatari, T., and Babaeizad, V. 2013. Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on growth and activity of antioxidant enzymes of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(11):.1337-1350.

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K.H., Schäfer, P., Schwarczinger, I., and Zuccaro, A. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte Piriformospora indica is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, 180(2): 501-510.

Barrs, H.D., and Weatherley, P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15(3): 413-428.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.

Bybordi, A. 2012. Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. *Life Science Journal*, 9(4):1092-1101.

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

Fricke, W., and Peters, W.S. 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology*, 129(1): 374-388.

Ghabooli, M., Rostami, M., and Kaboosi, E. 2019. Combination Effect of Piriformospora indica, Chilling and Gibberellic Acid on Seed Germination Traits of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Journal of Medicinal Plants and By-product*, 8(1): 33-40.

Ghorbani, A., Pirdashti, H., and Ramezani, M. 2016. Effect of endophyte fungal symbiosis of *Piriformospora indica* on morphological character and photosynthesis pigments in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 6(24): 57-64.

Ghorbani, M., Movahedi, Z., Kheiri, A., and Rostami, M. 2018. Effect of salinity stress on some morpho-physiological traits and quantity and quality of essential oils in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 11(2): 413-420. (In Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

Giri, B., Kapoor, R., and Mukerji, K.G. 2002. VA Mycorrhizal techniques VAM technology in establishment of plants under salinity stress condition. In: Mukerji, K.G., Manoracheir, C., Singh, I., (Eds.), Techniques in Mycorrhizal Studies. Kluwer, Dordrecht, pp. 313-327.

Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M., and Kumar, S. 2002. Effect of the vesicular–arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81(1): 77-79.

Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K.G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in Foeniculum vulgare mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93(3): 307-311.

Munns, R. and Tester. M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.

Parida, A., Das, A.B., and Das, P. 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, Bruguiera parviflora, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, 45(1): 28-36.

Qiang, X., Weiss, M., Kogel, K. H., and Schafer, P. 2012. *Piriformospora indica* a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Molecular Plant Pathology*, 13(5): 508-518.

Rai, M., Acharya, D., Singh, A., 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. *Mycorrhiza*, 11(3): 123-128.

Rashnoo, A., Movahedi, Z., Rostami, M., and Ghabooli, M. 2020. *Piriformospora indica* Culture Filtrate and Biofertilizer (Nitrokara) Promote Chicory (*Cichorium intybus* L.) Growth and Morpho-physiological Traits in an Aeroponic System and Soil Culture. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 7(4): 353-363.

Rostami, M. and Rostami, S. 2019. Effect of salicylic acid and mycorrhizal symbiosis on improvement of fluoranthene phytoremediation using tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). *Chemosphere*, 232: 70-75.

Rostami, M., Javadi, A., and Hosseinzadeh, S.M. 2020. Induction of resistance to salinity stress in the produced seeds of wheat after foliar application of nano-zinc oxide and nano-iron oxide. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(3): 553-565. (In Persian).

Rostami, M., Mohmmad Parast, B., and Golfam, R. 2015. The Effect of Different Levels of Salinity Stress on Some Physiological Characteristics of Saffron (*Crocus Sativus* L.). *Saffron Agronomy and Technology*, 3(3): 193-179. (In Persian).

Varma, A., Abbott, L., Werner, D., and Hampp, R. 2007. Plant surface microbiology. Springer, Berlin Heidelberg New York. 1-11.

Zarea, M.J., Chordia, P., and Varma, A. 2013. *Piriformospora indica* versus salt stress. In *Piriformospora indica* (pp. 263-281). Springer, Berlin, Heidelberg.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of *Piriformospora indica* on reducing the negative effects of salinity stress in lemon balm (*Melissa officinalis)*

Tahereh Akbari[1], Majid Rostami[2*], Mehdi Ghabooli[2], Zahra Movahedi[2]

[1]MSc graduate of Plant Production Engineering, Malayer Unversity, Malayer, Iran
[2]Department of Plant Production and Genetics, Malayer Unversity, Malayer, Iran

[*]Corresponding Author: M.rostami@malayeru.ac.ir

Received: 2 January 2021 Accepted: 3 February 2021 **DOI:10.22034/csrar.2021.265529.1077**

Abstract

Lemon balm (*Melissa officinalis*), which belongs to the Lamiaceae family is one of the most important medicinal plants which is characterized by the smell of lemon. In order to study the symbiotic effects of *Piriformospora indica* (an endophytic fungus) on morpho-physiologic characteristics of lemon balm under salt stress, an experiment was conducted in the research greenhouse of Malayer University in 2017 as a factorial based on the completely randomized design (CRD) with three replications. Experimental treatments were included various forms of *P. indica* (mycelium, spores application once, spores applications twice, and control) as the first factor and different levels of salinity (0 and 4 dS/m) as the second factor. Based on the results, the interaction of experimental treatments on plant height, root length, leaf dry weight, chlorophyll a, relative water content, membrane stability, and soluble protein content was significant. The highest amount of plant height, root length, and leaf dry weight was related to the treatment of spores applications twice without salinity stress. The highest amount of chlorophyll a and membrane stability observed in the mycelium treatment under control conditions. In general, according to the results of this experiment, it seems that the use of this fungus is recommendable to moderate the negative effects of salinity stress, and among the various treatments, spores applications twice has more ability to reduce the negative effects of salinity stress.

Keywords: Chlorophyll, Medicinal plants, Mycelium, Spore, Symbiosis

www.SID.ir