



انستیتو ملی تحقیقات در منابع گیاهی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و ششم، شماره اول، ۱۳۹۸

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2018.11244.2041

۱-۱۹

مطالعه خصوصیات فیزیولوژیک و زیست-شیمیایی گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

در واکنش به تنش شوری تحت تأثیر همزیستی با قارچ *Piriformospora indica*

معصومه خالوندی^۱، محمدرضا عامریان^۲، *همت‌اله پیردشتی^۳، مهدی برادران فیروزآبادی^۲ و احمد غلامی^۲

^۱دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود، آدانشیار گروه زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود،

^۲دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۳/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: گستردگی شوری در خاک‌های ایران و میزان بالای شوری آب و خاک می‌تواند کیفیت محصول و بهره‌وری آن را با محدودیت مواجه سازد. از سوی دیگر، با توجه به افزایش تقاضای جهانی برای استفاده از گیاهان دارویی از جمله نعناع فلفلی، امروزه استفاده از ریزجانداران همزیست با گیاه یکی از راهبردهای نوین برای بهبود و افزایش عملکرد گیاهان در شرایط نامطلوب محیطی مانند شوری آب و خاک است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیر همزیستی قارچ شبه‌میکوریز *Piriformospora indica* بر بهبود رشد گیاه دارویی نعناع فلفلی در واکنش به تنش شوری طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در شرایط گلخانه و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. در این پژوهش دو عامل همزیستی با قارچ پیریفورموسپورا/ایندیکا (شاهد و تلقیح با قارچ) و چهار سطح شوری (آبیاری با آب شور در چهار سطح صفر، سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر) مورد مطالعه قرار گرفتند. متغیرهای اندازه‌گیری شده شامل وزن خشک برگ، درصد کلونیزاسیون ریشه، طول ریشه، درصد نشت یونی، پراکسیداسیون لیپید، میزان فنل کل برگ، فلاونوئید کل، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، پلی‌فنل اکسیداز، مهار رادیکال DPPH) بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد با افزایش شوری میزان کلونیزاسیون ریشه، وزن خشک برگ و طول ریشه کاهش یافت و فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، پلی‌فنل اکسیداز، مهار رادیکال DPPH، محتوای فنل کل برگ، فلاونوئید کل، آنتوسیانین، درصد نشت یونی و پراکسیداسیون لیپید افزایش پیدا کرد. همبستگی بالا و معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان فنل (** $r=0/95$) مشاهده شد. بر این اساس، گیاهانی که ترکیبات فنلی بالاتری داشتند، فعالیت ضد رادیکال‌های آزاد بالاتری نشان دادند. از طرفی، همزیستی قارچی سبب بهبود وزن خشک گیاه، طول ریشه، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنولیک مورد مطالعه شد. تیمار همزیستی، همچنین، باعث کاهش اثرات منفی شوری بر پایداری غشا و پراکسیداسیون غشا سلول و از طرفی موجب فعالیت بهتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط بروز تنش شوری شد. به‌طورکلی، گیاهان در همزیستی با قارچ *P. indica* از نظر عملکرد و رشد بهتر از گیاهان غیرهمزیست بودند، ولی این افزایش عملکرد تحت تأثیر میزان همزیستی با قارچ بسته به سطوح مختلف شوری متفاوت بود.

* مسئول مکاتبه: h.pirdashti@sanru.ac.ir

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، همزیستی با قارچ *P. indica* علاوه بر تحریک گیاه برای افزایش تولید ترکیبات فنولیک، با گسترش سیستم ریشه‌ای به‌وسیله هیف‌های قارچی موجب تخفیف اثرات تنش شوری در گیاه دارویی نعنای فلفلی شد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد کاربرد این قارچ بتواند با افزایش میزان تحمل تا حدود زیادی ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی نعنای فلفلی را در شرایط وقوع تنش شوری بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آنتوسیانین، رشد، شبه‌میکوریزا، فلاونوئید کل، فنل کل، نعنای فلفلی

مقدمه

تنش‌های محیطی مهم‌ترین عامل کاهش عملکرد محصولات زراعی در سطح جهان به‌شمار می‌روند (۲۳). در این میان، شوری از مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش‌های محیطی است که بالغ بر ۳۲ میلیون هکتار از مساحت خاک‌های ایران را تحت‌تأثیر قرار داده است که نزدیک به ۲۰ درصد از سطح کل کشور و ۵۵ درصد اراضی قابل کشت را شامل می‌شود (۱۵). تنش شوری از طریق کاهش رشد گیاهان و برهم زدن تعادل در جذب عناصر ضروری و آب و تنش اکسیداتیو میزان تولید محصول را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۱۸، ۱۹ و ۲۷). علاوه بر این، امروزه انسان برای تأمین امنیت غذایی خود مجبور به استفاده از منابع آبی شور مانند آب دریا و رودخانه‌های شور در کشاورزی می‌باشد. بنابراین دستیابی به عملکردهای پایدار تحت شرایط تنش شوری ضروری خواهد بود (۴۴).

در سال‌های اخیر، پژوهشگران برای مقابله با پدیده شوری و تعدیل اثرات زیان‌بار آن بر محصولات زراعی به دنبال راهکارهای نوین مانند استفاده از ریزجانداران اندوفیت هستند. قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* متعلق به خانواده *Sebacinaceae* از رده قارچ‌های بازیدومیست‌ها است که با ریشه طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی کلونیزاسیون تشکیل می‌دهد. رشد و توسعه این قارچ مشابه قارچ میکوریزای آربوسکولار است و همانند آن، طیف وسیعی از گیاهان اعم از دولپه‌ای و

تک‌لپه‌ای میزبان این قارچ هستند (۳۵). علاوه بر این، در مقایسه با قارچ‌های میکوریزا که همراه با میزبان رشد می‌کنند، این قارچ مزیت‌های دیگری از جمله توانایی رشد در غیاب میزبان در محیط کشت و قابلیت کشت در محیط درون‌شیشه‌ای را دارد (۲۳).

نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که این ریزجانداران با ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و بوم‌شناختی در گیاهان میزبان، اثر مثبت بر روی تولید زیست‌توده و عملکرد آن‌ها را در واحد سطح دارد. همچنین منجر به بروز آثار فیزیولوژیک متعددی مانند افزایش گلدهی، افزایش عملکرد، بهبود تغذیه‌ای گیاه و ایجاد تغییرات سیستمیکی (آمادگی دفاعی) وابسته به فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود و امکان توسعه کشت آن‌ها را در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌های مواجه با تنش‌های زیستی و غیرزیستی فراهم می‌کند (۹ و ۱۰). نتایج برخی مطالعات نیز نشان داده است که همزیستی میکوریزایی موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مارچوبه (۳۳) و افزایش معنی‌دار رشد و تجمع آنتوسیانین در گیاه دارویی ریحان (۲۹)، و نعنای فلفلی (۴) شده است. پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل‌ها نقش مهمی در تعامل مختلف بین گیاهان و محیط طبیعی بازی می‌کنند. این قارچ با ایجاد تغییرات قابل‌توجه‌ای در فعالیت‌های آنزیمی و سازوکارهای فیزیولوژیک درگیر، منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئیدها و پلی‌فنل‌ها در گیاهان میزبان می‌شود (۴).

زراعی ۱۳۹۴ اجرا شد. سویه قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا از آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه و در محیط کشت مایع کفر^۱ در پتری‌دیش به مدت دو هفته کشت گردید. ریزوم‌ها به دو قسمت بدون تلقیح و تلقیح با قارچ تقسیم و در تیمار تلقیح با قارچ به مدت سه ساعت در سوسپانسیون قارچ (با غلظت 1×10^9 کلونی در میلی‌لیتر) غوطه‌ور گردید. خاک گلدان‌ها از ماسه و خاک زراعی (به نسبت ۱:۲) تشکیل شد. ریزوم‌هایی با ۱۰ سانتی‌متر طول و ۳ جوانه در عمق یک سانتی‌متری خاک در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۷ سانتی‌متری و با گنجایش هشت کیلوگرم خاک در تاریخ دوازدهم آذر کشت شدند. آبیاری گلدان‌ها تا مرحله شش برگی با آب مقطر انجام و پس از آن تنش شوری برای هر تیمار اعمال گردید. برای ایجاد زهکشی مناسب و جلوگیری از تجمع نمک، سوراخ‌هایی در ته هر کدام از گلدان‌ها تعبیه و در بستر هر گلدان به ارتفاع سه سانتی‌متر سنگریزه ریخته شد. آبیاری گلدان‌ها به‌منظور حفظ رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه هر سه روز یک‌بار صورت گرفت. به‌منظور جلوگیری از تنش ناگهانی به گیاهچه‌ها آبیاری با آب شور به‌صورت تدریجی با سطح دو دسی‌زیمنس بر متر صورت گرفت و در هر آبیاری به‌میزان شوری افزوده شد تا به سطح نهایی موردنظر رسید (۳۲). برای آبیاری گلدان‌های شاهد، از آب مقطر استفاده شد. به‌منظور کنترل شوری با دستگاه هدایت‌سنج، مقدار هدایت الکتریکی خاک گلدان‌ها کنترل گردید. پس از گذشت این مدت و اطمینان از اثربخشی تیمار شوری تا ابتدای مرحله گل‌دهی با آب شور آبیاری گردیده و نمونه‌برداری‌ها برای صفات موردنظر در شروع مرحله گل‌دهی آغاز شد.

از سوی دیگر، امروزه مصرف روزافزون داروهای شیمیایی و مقاومت عوامل بیماری‌زا به برخی از داروها موجب شده است که رویکرد مردم به مصرف گیاهان دارویی بیش از پیش افزایش پیدا کند (۱۷). گیاه نعنای فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* و نام رایج Peppermint گیاهی علفی و چندساله از خانواده نعنائیان به‌عنوان یک گیاه دارویی و معطر به‌طور گسترده برای صنایع دارویی و محصولات غذایی استفاده می‌شود (۴۰). از نظر مصارف دارویی نیز این گیاه اسپاسمولیتیک و کمک‌کننده هضم غذا و سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند ترکیبات فنلی است که نقش مهمی در راهبرد دفاعی گیاه، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتری و ضدالتهابی بازی می‌کند (۲۸).

استفاده از فناوری‌های مختلف کشت و کار در راستای افزایش کارایی و بهبود عملکرد گیاهان در کنار امکان استفاده از آب شور، برای آبیاری می‌تواند یک مدیریت مناسب جهت پاسخگویی به افزایش تقاضا برای مواد غذایی باشد. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تأثیر قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بر بهبود ویژگی‌های رشدی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان‌های گیاه دارویی نعنای فلفلی در شرایط تنش شوری طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد و دو عامل شامل همزیستی با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (تلقیح و بدون تلقیح با قارچ) و چهار سطح شوری آب آبیاری (صفر، سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر) در سال

نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر محاسبه شد (۲۸). مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دی‌آلدئید ایجاد شده با تیوباریتوریک اسید (TBA) با استفاده از روش فهمی‌راد و همکاران (۲۰۱۳) توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۲ اندازه‌گیری شد (۱۳). برای تعیین مقدار فنل کل از روش فاتیحا و همکاران (۲۰۱۵) با معرف فولین سیکالتو در طول موج ۷۶۰ نانومتر و با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد (۱۴). برای اندازه‌گیری ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال بر طبق روش ابی و همکاران (۱۹۹۸) مقدار ۱۰۰ گرم از بافت تازه برگ با اتانول اسید ۹۶ درصد کاملاً ساییده شد و محلول روئی حاصل از پنج دقیقه سانتریفیوژ با ۳۵۰۰ دور، با محلول نیم میلی‌مولار DPPH (1-Diphenyl- 2- Picryl Hydrazyl) مخلوط و میزان جذب پس از ۳۰ دقیقه تاریکی در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید (۲). ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

(۲)

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد DPPH} = \frac{\text{شاهد نمونه جذب}}{\text{شاهد نمونه جذب}} \times 100$$

فعالیت کاتالاز به روش تغییر یافته فهمی‌راد و همکاران (۲۰۱۳) اندازه‌گیری شد که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز استوار است. مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه

برای مطالعه همزیستی، قطعات یک سانتی‌متری از ریشه در محلول KOH ده درصد به مدت هفت دقیقه رنگ‌بری شده و سپس با استفاده از محلول پنج درصد جوهر و سرکه رنگ‌آمیزی شد. برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه، ۴۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده روی لام قرار داده شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری درصد کلونیزاسیون اندازه‌گیری شد (۳۴). جهت اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها از سلول نمونه‌های برگ درون آب مقطر با حجم ۱۵ سی‌سی و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت و پس از آن هدایت الکتریکی اولیه به وسیله دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو و سپس میزان هدایت الکتریکی به وسیله دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد (۵).

$$(1) \quad \text{درصد نشت یونی} = (EC_2 / EC_1) \times 100$$

مقدار آنتوسیانین بر طبق روش کریزک و همکاران (۱۹۹۸)، مقدار ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متیل الکل و کلریدریک اسید خالص با نسبت حجمی ۱:۹۹ کاملاً) ساییده شد و پس از سانتریفیوژ، محلول روئی به مدت ۱ شب در تاریکی قرار داده شد. با اندازه‌گیری میزان محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر و با استفاده از فرمول $A = \epsilon bc$ مقدار آنتوسیانین قرائت، محاسبه و ثبت شد. در این رابطه، A: شدت جذب، b: عرض کوت برابر با ۱ سانتی‌متر، c: غلظت آنتوسیانین (mol/g) و ϵ : ضریب خاموشی برابر با $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ است (۲۸). مقدار فلاونوئید کل نیز بر طبق روش کریزک و همکاران (۱۹۹۸)، در طول موج ۳۳۰

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح تنش شوری بر تمام صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. اثر قارچ *P. indica* بر صفاتی مانند وزن خشک برگ و کاتالاز در سطح احتمال پنج درصد و در بقیه صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل قارچ و شوری نیز بر صفات کلونیزاسیون ریشه، درصد اسانس برگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز، نشت الکترولیت و مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار نشان داد (جدول ۱).

اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۱۳). فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با استفاده از روش شاتا و شامعی (۱۹۹۹) در طول موج ۴۲۰ نانومتر (۴۵) و سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش فهمی‌راد و همکاران (۲۰۱۳) در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۱۳). تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با استفاده از صفحه‌گستر اکسل انجام شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر شوری و قارچ *Piriformospora indica* بر صفات فیزیولوژیک و زیست-شیمیایی اندازه‌گیری شده در نعنای فلفلی.

Table 1. Variance analysis of salinity and *Piriformospora indica* effect on measured physiological and biochemical traits of peppermint.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی (df)	سوپراکسید دیسموتاز (SOD)	پلی‌فنل اکسیداز (PPO)	کاتالاز (CAT)	فنل کل Total Phenol	آنتوسیانین Anthocyanin	فلاونوئید Flavonoid
بلوک (Replication)	2	0.531	0.00234	0.0012	0.225	0.0733	0.0937
شوری (Salinity)	3	44.39**	0.3825**	0.07002**	55.017**	3.42**	3.51**
قارچ <i>Piriformospora indica</i> (<i>P. indica</i>)	1	32.201**	0.1412**	0.0525*	87.828**	24.35**	22.93**
اثر متقابل P × S Interaction P × S	3	7.356**	0.0224**	0.0294**	0.169 ^{ns}	0.153 ^{ns}	0.008 ^{ns}
اشتباه Error		1.79	0.0019	0.0018	0.075	0.052	0.076
ضریب تغییرات (CV%)		9.07	7.66	11.99	1.94	5.46	4.85

**، * و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

**، *، ^{ns} respectively significant in 1% and 5% and not significant.

ادامه جدول ۱-

Continue Table 1.

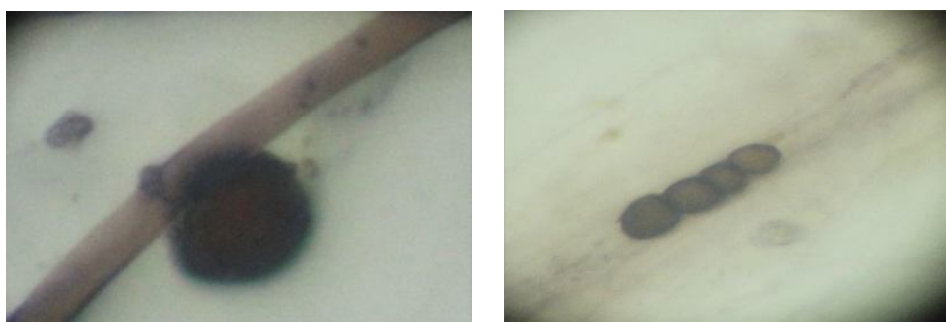
وزن خشک برگ (Leaf dry weight)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH)	طول ریشه (Root length)	کلونیزاسیون ریشه (Root colonization)	مالون دی‌آلدئید (MDA)	نشست الکترولیت (Electrolyte leakage)	درجه آزادی (df)	منبع تغییرات S.O.V
0.607	10.906	2.195	3.166	2.266	14.93	2	بلوک (Replication)
1.779**	1586.31**	107.219*	531.44**	1568.75**	1619.132**	3	شوری (Salinity)
3.351*	1061.07**	244.22**	29962.66**	472.93**	1284.51**	1	قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا P (<i>P. indica</i>)
0.606 ^{ns}	323.844**	3.55 ^{ns}	531.44**	75.322**	265.47**	3	اثر متقابل P × S Interaction P × S
0.192	8.406	3.651	1.547	3.29	7.01		اشتباه Error
19.74	8.43	8.67	3.52	7.05	7.78		ضریب تغییرات (CV%)

**، *، ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

**، *، ^{ns} respectively significant in 1% and 5% and not significant.

سلول‌های قشر ریشه نفوذ کرده و کلامیدوسپور گلابی شکل نیز به صورت بین‌سلولی در بافت کورتکس ریشه همراه با شبکه گسترده‌ای از هیف‌ها و اسپور آن در اطراف ریشه مشاهده شد (شکل ۱).

تصاویر به‌دست آمده از بررسی میکروسکوپی ریشه نشان داد که قارچ *P. indica* قابلیت جوانه‌زنی و فعالیت در ریشه نعنای فلفلی را دارد. بر اساس مشاهدات این آزمایش، میسلیموم قارچ در اپیدرم و

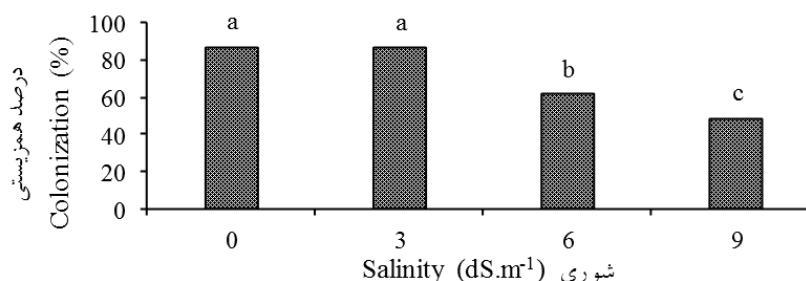


شکل ۱- کلامیدوسپور داخل سلولی *Piriformospora indica* در کورتکس ریشه.

Fig. 1. Chlamydospore intracellular of *Piriformospora indica* in the root cortex.

میزان شوری را می‌توان به اثر منفی شوری بر میزان فتوسنتز و کاهش عرضه کربن به قارچ و همچنین به اثر بازدارندگی سدیم و کلر بر رشد ریشه‌های قارچ نسبت داد (۱۸)، در پژوهش‌های قبلی نیز کاهش همزیستی قارچ شبه‌میکوریز در برنج (۳۶)، کاهش میزان کلونیزاسیون ریشه در ریحان (۱۸) و کاهش کلونیزاسیون با کاهش اسپور و رشد هیف و آریسکول در باقلا و لوتوس (۳۸ و ۴۳) در شرایط بروز تنش شوری گزارش شده است.

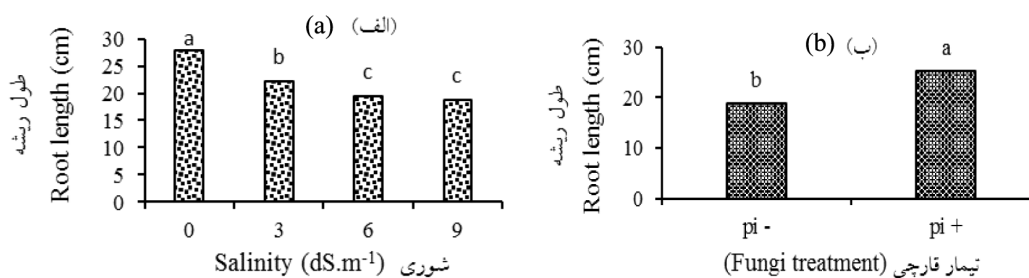
علاوه بر این، اطلاعات به دست آمده از تجزیه داده‌های آزمایش نشان داد که میزان کلونیزاسیون قارچ به طور معنی‌داری ($P < 0.01$) تحت تأثیر شوری قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش شوری میزان همزیستی ریشه به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲). آلودگی ریشه با قارچ بین ۴۸/۶۶ تا ۸۷ درصد متغیر بود و با افزایش میزان شوری تا نه دسی‌زیمنس بر متر درصد کلونیزه شدن ریشه حدود ۴۶ درصد کاهش یافت. کاهش میزان توسعه *P. indica* با افزایش



شکل ۲- اثر شوری بر میزان کلونیزاسیون ریشه.

حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig. 2. The effect of salinity on root colonization. Same letters indicate no significant difference at ($P < 0.05$) probability level.



شکل ۳- اثر شوری (الف) و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (ب) بر طول ریشه نعناع فلفلی.

Fig. 3. The effect of salinity (a) and *P. indica* (b) on root length of peppermint.

تولید ریشه می‌تواند به دلیل اثرات سمی سطوح بالای شوری در افزایش اتیلن و عنصر سدیم باشد که از طریق کاهش تقسیم سلولی و طول ریشه باعث کاهش رشد گیاه می‌شوند. همچنین، این عناصر موجب

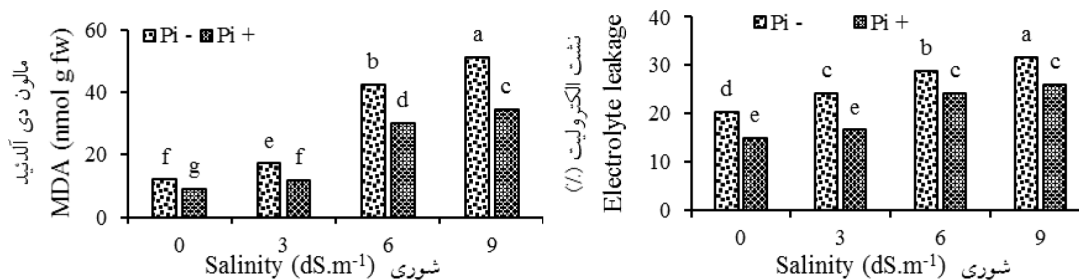
همچنین با افزایش سطوح شوری از مقدار طول ریشه گیاه کاسته شد. در سطح شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر این کاهش نسبت به شاهد ۳۳ درصد برآورد گردید (شکل ۳- الف). تأثیر منفی تنش شوری در

گروه تیمار قارچی به‌ویژه در تنش شوری بالا مشهود بود که نشان‌دهنده آسیب شدید ناشی از تنش شوری می‌باشد (شکل ۴). با این وجود، گیاهانی که با قارچ همزیست شده بودند کاهش قابل‌توجهی در میزان مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی داشته‌اند، به‌طوری‌که میزان اختلاف آن در سطوح ۶ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر در همزیستی قارچی و عدم همزیستی (به‌ترتیب ۳۲/۸۸ و ۱۷/۷۳ درصد) بسیار قابل‌توجه بود. بین درصد نشت الکترولیت و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا رابطه خطی و مثبت ($P < 0.01$; $R^2 = 0.95^{**}$) وجود داشت (شکل ۵). افزایش نشت الکترولیتی غشا ناشی از رادیکال‌های اکسیژن فعال تولیدشده در تنش اکسیداتیو است که بر لیپیدهای موجود در غشای سلول و اندامک‌های درون‌سلولی تأثیر گذاشته و موجب اختلال در کارکرد و ساختار غشاهای سلولی شده و میزان نشت مواد سیتوپلاسمی و هدایت الکتریکی سلولی را افزایش می‌دهد. به‌هم‌ریختگی غشا در پاسخ به افزایش شوری به‌صورت افزایش در نشت یونی توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (۱۱ و ۵۲).

جذب نامتعادل مواد غذایی و کاهش جذب آب برای تنظیم اسمزی می‌شوند (۲۰).

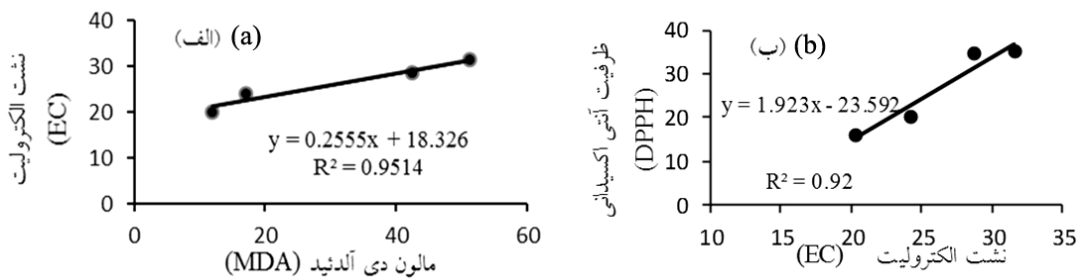
با توجه به شکل ۳-ب، همزیستی قارچ موجب افزایش ۲۵ درصدی طول ریشه شد. افزایش طول ریشه در همزیستی با قارچ در ریحان (۱۸)، نعنای فلفلی و آویشن (۲۴) نیز گزارش شده است. اثربخشی مثبت قارچ به احتمال زیاد مربوط به تهویه مناسب خاک در نتیجه توسعه شبکه هیف است که با اتصال به ذرات خاک موجب گسترش ریشه در عمق خاک می‌شود (۴۸). علاوه بر این، این قارچ با تولید اکسین باعث افزایش طول ریشه و جذب بیش‌تر عناصر غذایی و در نتیجه بهبود رشد گیاه می‌شود. هورمون سیتوکینین تولیدشده توسط قارچ نیز موجب رشد جوانه‌های جانبی و به دنبال آن افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی می‌شود (۲۴).

با توجه به نقش کلیدی غشاهای در تنظیم متابولیسم سلول و اندامک‌ها، از میزان پراکسیداسیون لیپیدی و نشت الکترولیت‌های غشا به‌عنوان معیار ارزیابی آسیب به غشاهای زیستی استفاده می‌شود (۱۱). براساس نتایج اثر متقابل قارچ و شوری، افزایش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی در هر دو



شکل ۴- اثر متقابل پیریفورموسپورا/ ایندیکا و شوری بر میزان نشت الکترولیت و مالون‌دی‌آلدئید برگ‌های نعنای فلفلی. حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig. 4. Interaction effect of *P. indica* and salinity on electrolyte leakage and MDA in peppermint leaves. Same letters indicate no significant at ($P < 0.05$) probability level.



شکل ۵- رابطه بین درصد نشت الکترولیت و مالون دی آلدئید (الف) و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (ب) در برگ نعناع فلفلی.

Fig. 5. Relationship between the percentage electrolyte leakage and MDA (a) and the antioxidant capacity in peppermint leaves.

شوری تیمار ریشه گیاه نارنج سه برگ با قارچ میکوریز در کاهش میزان MDA در اندام هوایی گیاه مؤثر بوده است (۵۰).

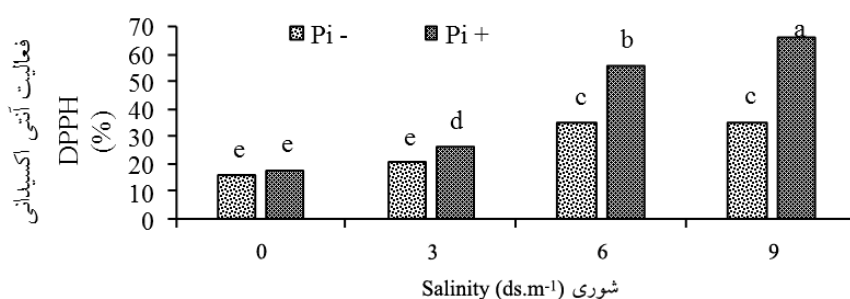
بررسی آماری نتایج حاصل از ظرفیت آنتی اکسیدانی نشان دهنده تأثیر معنی دار اثر متقابل قارچ و شوری است (جدول ۱). میزان تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی در همزیستی با قارچ *P. indica* در سطوح مختلف شوری در شکل ۶ نشان داده شده است. در گیاهان تلقیح نشده، با افزایش شوری ظرفیت آنتی اکسیدانی از غلظت سه تا شش دسی‌زیمنس بر متر به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت و سپس تقریباً ثابت ماند. کاربرد قارچ اثر مثبت بر میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی در سطوح مختلف شوری داشت (شکل ۶).

مهار رادیکال آزاد DPPH به عنوان یک روش متداول برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاهان دارویی و معطر استفاده می‌شود و ظرفیت گیاهان را برای مقابله با تنش نشان می‌دهد (۲۲). در بررسی‌های پژوهشگران دیگر مشاهده شده است که تنش شوری باعث القاء فعالیت مهار رادیکال DPPH و ترکیبات فنولیک در ذرت و سه رقم نخود شد (۱۹ و ۲۲). همچنین، در بررسی‌های انجام شده در زمینه تأثیر شوری بر میزان فعالیت مهار رادیکال DPPH در مقاومت به فوزاریوم در گیاه مارچوبه مشخص

به احتمال زیاد کاهش میزان نشت یونی در تیمار با قارچ مورد مطالعه می‌تواند ناشی از آسیب کم‌تر به پلاسما بر اثر تنش شوری باشد که بیانگر عملکرد خوب سازوکارهای دفاعی فعال در سیتوسول است (۱۱). به طوری که با افزایش سطح شوری، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و حذف‌کننده مناسب ROS، مانند کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت و این امر مانع از پراکسیداسیون چربی‌های غشا شد و با کاهش اثرات تخریبی این ترکیب مقدار مالون دی آلدئید که حاصل فعالیت پراکسیداسیون است کاهش پیدا کرد. همبستگی منفی و معنی دار MDA با میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ($R^2=0/95^{**}$; $P<0/01$) و فعالیت پلی فنل اکسیداز ($R^2=0/98^{**}$; $P<0/01$) بیانگر این امر است. بدین ترتیب، تیمار با قارچ از طریق فعالیت بیش‌تر آنزیم‌ها، MDA کم‌تر و پایداری لیپید بیش‌تری داشتند. نتایج به دست آمده با یافته‌های پژوهشگران دیگر در همزیستی میکوریزا در گیاهان مختلف مانند فلفل (۲۵) مبنی بر کاهش نشت الکترولیت غشا تحت شرایط تنش شوری و کاهش میزان MDA و نشت الکترولیت غشا تحت تنش خشکی در ذرت (۵۲) مطابقت داشت. در پژوهش دیگری در شرایط تنش

بدون تلقیح قارچ افزایش یافت (شکل ۵- ب). افزایش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در سلول و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و افزایش نشت یونی موجب افزایش فعالیت مهار رادیکال DPPH می‌شود. با این حال همزیستی قارچی اثر مثبت بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی داشت و این میزان را به ۴/۲۲ واحد افزایش داد.

شد که همزیستی میکوریزایی موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شد (۳۳). در بررسی روابط رگرسیونی بین درصد نشت الکترولیت با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش شوری رابطه خطی و مثبت مشاهده شد. به طوری که در پاسخ به شوری با افزایش نشت الکترولیت، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. با هر واحد افزایش نشت الکترولیت، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به میزان ۱/۹۲ واحد در تیمار



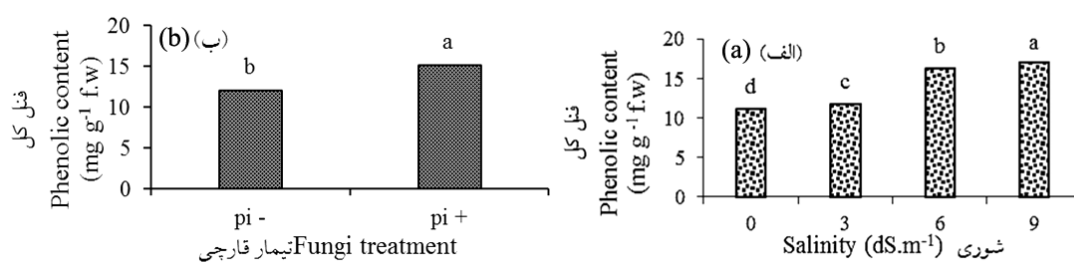
شکل ۶- اثر متقابل قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا و شوری بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های نعنای فلفلی. حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig. 6. Interaction effect of *P. indica* and salinity on the antioxidant capacity in peppermint leaves. Same letters indicate significant at ($P > 0.05$) probability level.

الکترون‌دهندگی آن‌ها می‌باشد (۲۲، ۲۷ و ۳۹). علاوه بر این، در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان فنل رابطه مستقیم داشت ($r = 0.95^{**}$) بر این اساس، گیاهانی که ترکیبات فنلی بالاتری داشتند، فعالیت ضد رادیکال‌های آزاد بالاتری نشان دادند. در بررسی‌های انجام‌شده بر تأثیر شوری بر میزان پلی‌فنل‌ها در گیاه رزماری نیز با افزایش سطح شوری از ۵۰ به ۱۵۰ میلی‌مولار محتوای پلی‌فنل‌ها بیش‌تر شد (۲۷). افزایش میزان ترکیبات فنلی در برگ‌های ذرت، ارزن پادزهری و نخود در شرایط بروز تنش شوری بسیار بالاتر از گیاهانی بود که در شرایط بدون تنش قرار داشتند (۱۲، ۱۹ و ۲۲).

نتایج به‌دست آمده بیانگر آن است که افزایش شوری سبب افزایش محتوای فنل کل برگ نعنای فلفلی شد. بررسی آماری نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای فنل کل نشان‌دهنده افزایش ۵۳ درصدی در شوری نه‌دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد بود (شکل ۷) که این تفاوت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

فنل‌ها از اجزای مهم محافظ سلول‌های گیاهی هستند و ساختار شیمیایی مناسبی برای حذف رادیکال‌های آزاد فعال دارند. این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی مؤثرتری از آسکوربات و توکوفرول دارند که ناشی از فعالیت بالای هیدروژن یا



شکل ۷- اثر شوری (الف) و پیریفورموسپورا ایندیکا (ب) بر میزان فنل کل برگ نعناع فلفلی.

Fig. 7. The effect of salinity (a) and *P. indica* (b) on the amount of total phenol peppermint leaves.

دخالته این ترکیبات در ایجاد همزیستی قارچ با گیاه می‌باشد. از طرف دیگر، افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان همزیست توسط ریزجانداران به‌عنوان یک واکنش دفاعی و ضد میکروبی شناخته شده است (۴۲)، که نشان‌دهنده تحریک تولید آن‌ها توسط قارچ شبه‌میکوریز می‌باشد. همچنین، افزایش فنل کل در تیمار قارچ می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز باشد (۷). همبستگی مثبت ($r=0.88^{**}$) بین انباشتگی فنل کل و فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز بیانگر این موضوع است (جدول ۲).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای فنل کل در گیاهان تلقیح شده با *P. indica* بیانگر افزایش ۳۱ درصدی نسبت به شاهد بود که این تفاوت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (شکل ۷). به‌نظر می‌رسد ترکیبات فنولیک در همزیستی بین گیاهان و قارچ‌ها بیشتر شده و قارچ با ایجاد تغییرات قابل‌توجه در فعالیت‌های آنزیمی و سازوکارهای فیزیولوژیک درگیر، منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئیدها و پلی‌فنل‌ها در گیاهان میزبان می‌شود (۴). از یک‌سو، چنین افزایشی دللی بر

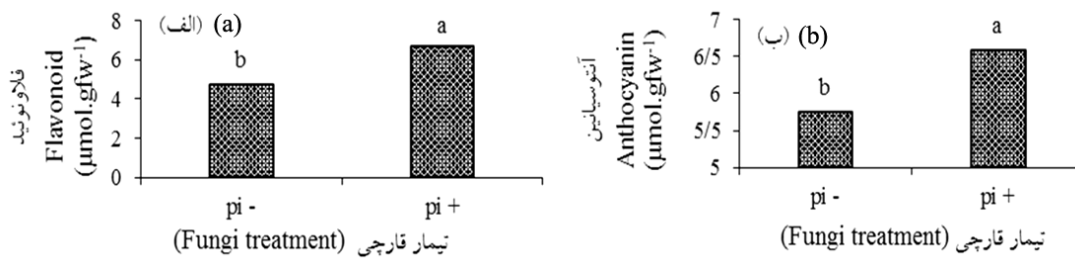
جدول ۲- همبستگی بین صفات پلی‌فنول‌اکسیداز، فنل کل و مالون‌دی‌آلدئید اندازه‌گیری شده در نعناع فلفلی.

Table 2. The correlation measured between polyphenol oxidase, total phenol and malondialdehyde traits of peppermint.

پلی‌فنول‌اکسیداز (PPO)	
0.88**	فنل کل (phenolic content)
0.71**	مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

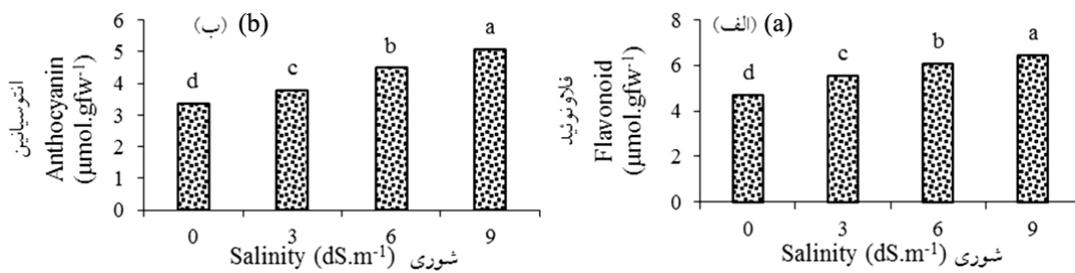
۹- الف). تغییرات میزان آنتوسیانین نیز در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری مشابه فلاونوئید کل، افزایش یافت به‌طوری‌که بالاترین میزان آن با حدود ۴۸ درصد افزایش نسبت به شاهد در سطح شوری نه دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (شکل ۹-ب).

با توجه به نتایج به‌دست آمده، با افزایش سطوح شوری میزان فلاونوئید کل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس یافته‌ها، بالاترین میزان فلاونوئید (با حدود ۳۷ درصد افزایش نسبت به شاهد) در سطح شوری نه دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (شکل



شکل ۸- اثر پیریفورموسپورا/بندیکا بر میزان فلاونوئید (الف) و آنتوسیانین (ب) برگ نعناع فلفلی.

Fig. 8. The effect of *P. indica* on the amount of flavonoid (a) and anthocyanin (b) in peppermint leaves.



شکل ۹- اثر سطوح مختلف شوری بر میزان فلاونوئید (الف) و آنتوسیانین (ب) برگ نعناع فلفلی.

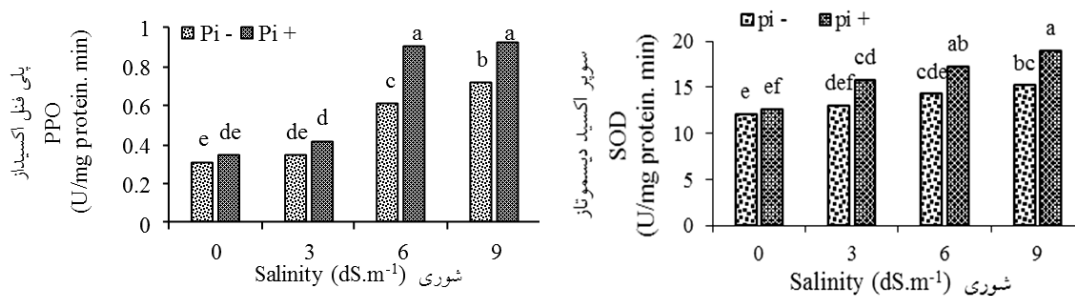
Fig. 9. The effect of salinity on the amount of flavonoid (a) and anthocyanin (b) in peppermint leaves.

انباشتگی آنتوسیانین طی دهیدراتاسیون در برگ گیاه *Craterostigma* (۲۱) و افزایش فلاونوئیدها طی تنش خشکی در سیب‌زمینی (۴۹) گزارش شده است. همچنین، در پژوهشی دیگر روی گیاه دارویی بادرشبو فلاونوئید، آنتوسیانین و ترکیبات فنلی فعال شده و موجب محافظت از گیاه در طی تنش خشکی شدند (۱). طبق شکل (۸-الف)، در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ، میزان فلاونوئید به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که این افزایش ۴۱ درصد نسبت به شاهد بیش‌تر بود. همچنین، میزان آنتوسیانین نیز در برگ‌های گیاهان تلقیح‌شده با قارچ شبه‌میکوریز به‌صورت معنی‌داری (حدود ۱۴ درصد) نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۸-ب). نتایج مشابهی مبنی بر افزایش تجمع آنتوسیانین در کاربرد قارچ میکوریز در گیاه ریحان (۲۹)، ذرت (۲۶) و نعناع (۴) نیز گزارش شده است.

فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولیک و از مهم‌ترین ترکیبات ثانویه گیاهان می‌باشند که با تغییر دادن پراکسیداسیون سینتیک به‌وسیله تغییر دستور تراکم لیپید و کاهش سیالیت غشاء موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیداتیو می‌شوند (۳). به‌نظر می‌رسد گیاه نعناع فلفلی به‌عنوان یک واکنش دفاعی مناسب نسبت به افزایش شوری، مقدار فلاونوئید بیش‌تری را نسبت به شرایط بدون تنش تولید می‌کند. علاوه‌بر این، افزایش آنتوسیانین‌ها به‌عنوان یک گروه از فلاونوئیدهای محلول در آب می‌باشد و افزایش آنتوسیانین‌ها بیانگر افزایش مسیر اصلی تولید فلاونوئید است که در یک نقطه پایانی در مسیر بیوستنز فلاونوئیدها سنتز می‌شوند. آنتوسیانین‌ها با خاصیت آنتی‌اکسیدانی از گیاه در برابر گونه‌های فعال اکسیژن حفاظت می‌کنند (۳۷). این ترکیبات در شرایط تنش شوری به‌عنوان یک محلول سازگارکننده اسمزی عمل می‌کنند (۶).

در این آزمایش، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تأثیر معنی دار اثر متقابل قارچ و تنش شوری قرار گرفت (جدول ۱). گیاهان تلقیح شده با قارچ شبه میکوریز به همراه افزایش شوری آب آبیاری از فعالیت آنزیمی بالاتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند (شکل ۱۰). همان گونه که در شکل ۱۰ آمده است در تیمار قارچ، با افزایش شوری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از غلظت سه تا شش دسی‌زیمنس بر متر به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت و با افزایش بیش‌تر شوری میزان فعالیت این آنزیم ثابت ماند. با این وجود، بیشینه فعالیت این آنزیم در اثر تلقیح با قارچ در سطح شوری شش و نه دسی‌زیمنس بر متر بود که نسبت به شاهد با کم‌ترین میزان فعالیت آنزیمی (۰/۳۱) واحد بر میلی‌گرم در دقیقه) ۶۶ درصد بالاتر بود. در آزمایش حاضر، مقایسه میزان فعالیت PPO در گیاهان تلقیح نشده (شاهد) نشان داد که در حالت طبیعی، مقدار قابل توجه‌ای آنزیم PPO جهت انجام روند طبیعی فیزیولوژیک تولید می‌شود. افزایش فعالیت این آنزیم در گیاه در پاسخ به افزایش شوری نشان می‌دهد که گیاهان مورد مطالعه به منظور مقاومت در برابر تنش از یک سازوکار دفاعی آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند. در بررسی‌های انجام شده در زمینه تأثیر شوری بر میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز در گیاه جو مشخص شد که با افزایش سطح شوری از ۲۵ به ۲۰۰ میلی‌مولار میزان این آنزیم افزایش یافت. با کاربرد میکوریزا در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نیز افزایش معنی‌داری در میزان این آنزیم نسبت به سطوح دیگر شوری مشاهده شد (۴۷). افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز به احتمال زیاد در توسعه و رشد گیاهان تحت تنش در برابر تخریب اکسیداتیو نوری و بازدارندگی نوری، نقش مؤثری دارد (۴۸). نتایج آزمون همبستگی نشان داد بین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و مقدار پرکسیداسیون لیپید ($r=0.71^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲). در تیمار تلقیح شده با قارچ نسبت به عدم تلقیح، با افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز میزان خسارت به غشاء کاهش یافت و این آنزیم توانست در مقاومت به شوری مؤثر باشد.

در این آزمایش، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تأثیر معنی دار اثر متقابل قارچ و تنش شوری قرار گرفت (جدول ۱). گیاهان تلقیح شده با قارچ شبه میکوریز به همراه افزایش شوری آب آبیاری از فعالیت آنزیمی بالاتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند (شکل ۱۰). همان گونه که در شکل ۱۰ آمده است در تیمار قارچ، با افزایش شوری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از غلظت سه تا شش دسی‌زیمنس بر متر به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت و با افزایش بیش‌تر شوری میزان فعالیت این آنزیم ثابت ماند. با این وجود، بیشینه فعالیت این آنزیم در اثر تلقیح با قارچ در سطح شوری شش و نه دسی‌زیمنس بر متر بود که نسبت به شاهد با کم‌ترین میزان فعالیت آنزیمی (۰/۳۱) واحد بر میلی‌گرم در دقیقه) ۶۶ درصد بالاتر بود. در آزمایش حاضر، مقایسه میزان فعالیت PPO در گیاهان تلقیح نشده (شاهد) نشان داد که در حالت طبیعی، مقدار قابل توجه‌ای آنزیم PPO جهت انجام روند طبیعی فیزیولوژیک تولید می‌شود. افزایش فعالیت این آنزیم



شکل ۱۰- اثر متقابل پیریفورموسپورا ایندیکا و شوری بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در برگ‌های نعناع فلفلی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

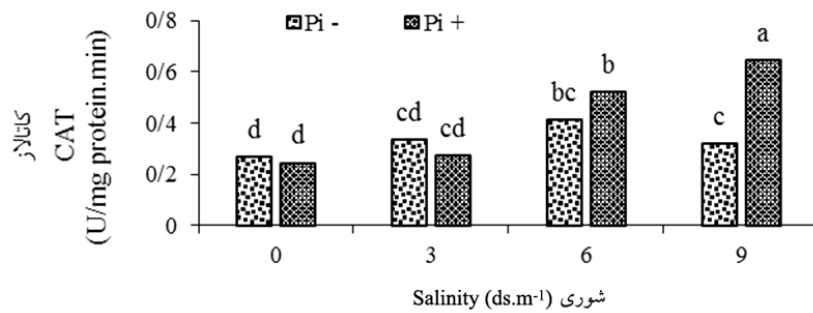
Fig. 10. Interaction effect of *P. indica* and salinity the enzyme polyphenol oxidase (PPO) and Superoxide dismutase (SOD) in peppermint leaves. Same letters indicate no significant different at ($P>0.05$) probability level.

فعالیت آنزیم SOD، موجب افزایش سمیت‌زدایی یون سوپراکسید و کاهش آسیب اکسیداتیو به سلول از طریق تبدیل یون سوپراکسید به H_2O_2 و اکسیژن مولکولی شود (۱۶). همچنین، ویو و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که در شرایط تنش شوری تیمار ریشه گیاه نارنج سه برگ با قارچ میکوریزا در افزایش فعالیت آنزیم SOD در اندام هوایی گیاه مؤثر بود (۵۰). نتایج مشابهی نیز بر روی گیاه ذرت تحت تنش خشکی (۵۲) به‌دست آمده است.

بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که با افزایش شوری از صفر تا شش دسی‌زیمنس بر متر، فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده افزایش یافت، ولی سطح شش تا نه دسی‌زیمنس بر متر در گیاهان تلقیح‌شده این روند افزایشی ادامه داشت ولی در گیاهان تلقیح‌نشده کاهش یافت (شکل ۱۱).

کاهش میزان کاتالاز در شوری نه دسی‌زیمنس بر متر نسبت به گیاهان شاهد می‌تواند ناشی از ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش شوری و حمله آن‌ها به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو باشد. همچنین، با کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز، تجمع H_2O_2 افزایش می‌یابد که این فرآیند نیز باعث کاهش آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز می‌گردد (۸). این امر، سبب آسیب به غشاهای زیستی و پراکسیداسیون آن‌ها می‌شود. در این راستا، نشان داده شده است که در شرایط تنش شوری تیمار قارچ میکوریزا، فعالیت آنزیم کاتالاز را در اندام هوایی گیاه نارنج سه برگ افزایش داد (۵۰). ژو و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه اثر تنش خشکی روی گیاه ذرت صورت دریافتند که قارچ میکوریزا با افزایش معنی‌دار کاتالاز و تقویت سامانه آنتی‌اکسیدان اثرهای منفی تنش خشکی را در این گیاهچه‌ها کاهش داد (۵۲).

براساس نتایج این آزمایش، افزایش تنش شوری، سبب افزایش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گردید (شکل ۱۰). در هر دو گروه تیمار قارچی، بیش‌ترین فعالیت آنزیم در سطوح بالای تنش مشاهده گردید که می‌تواند نشان‌دهنده اثر این آنزیم در کاهش خسارت تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری باشد. اثر مثبت قارچ بر میزان این آنزیم در سطح شوری نه دسی‌زیمنس بر متر به بیش‌ترین مقدار خود رسید که نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده ۲۶ درصد افزایش نشان داد. با این وجود، در سطح شوری صفر و سه دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری با گیاهان تلقیح‌نشده مشاهده نشد. در شرایط طبیعی زمانی که تعادل فعال بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه وجود دارد، گیاهان همزیست با قارچ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر از گیاهان بدون قارچ از خود نشان نمی‌دهند (۳۰). در همین راستا، رویز لوزانو و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که در شرایط مطلوب، همزیستی میکوریزایی با *G. mosseae* و *G. intraradices*، موجب تنظیم پایین بیان الگوی ژن کلون شده *Fe-sod*، *Mn-sod I* و *Mn-sod II* در گیاه کاهو شد، در حالی که در شرایط تنش خشکی همزیستی میکوریزایی به‌طور قابل‌توجهی بیان ژن *Mn-sod II* را افزایش داد (۴۱). در پژوهش حاضر نیز با افزایش شوری، *P. indica* سامانه دفاعی را تعدیل و به‌منظور جبران خسارت به فتوستنز و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش، در سوخت‌وساز گیاه تغییراتی ایجاد کرد. به‌عبارت دیگر گیاه تلقیح‌شده تا حدودی توانست از طریق افزایش فعالیت آنزیمی از آثار سوء اکسیداسیون سلولی مصون بماند. از طرفی گزارش شده است که قارچ شبه‌میکوریز می‌تواند با تجمع H_2O_2 در سیتوزول قارچی، سطح هیف، اسپور و دیواره هیف و آربسکول، در حذف گونه‌های فعال اکسیژن به گیاه کمک کند. با افزایش

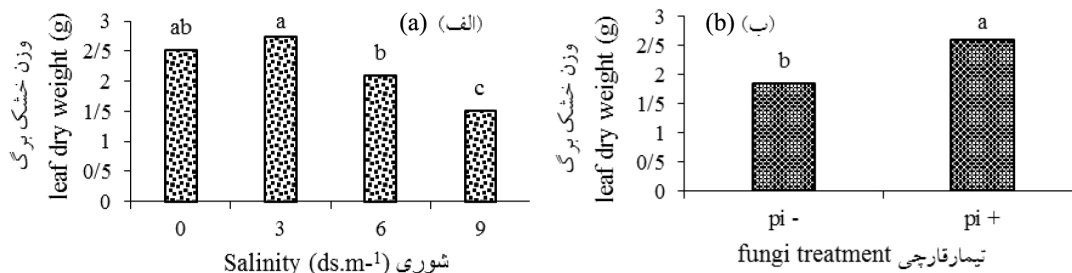


شکل ۱۱- اثر متقابل پیریفورموسپورا ایندیکا و شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در برگ‌های نعناع فلفلی. حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig. 11. Interaction effect of *P. indica* and salinity the enzyme Catalase (CAT) in peppermint leaves. Same letters indicate no significant different at ($P>0.05$) probability level.

همچنین، تنش شوری از طریق کاهش هدایت روزنه‌ای و جلوگیری از فرآیندهای زیست-شیمیایی و ساخت ساکاروز، موجب تقلیل وزن خشک گیاه می‌شود. علاوه بر این، پراکسیداسیون غشاء کلروپلاست‌ها و نفوذپذیری تیلاکوئیدها با برهم زدن شیب pH غشاها، فتوسنتز را مختل و منجر به کاهش تولید در گیاه می‌شود (۵۱).

براساس یافته‌های این آزمایش، افزایش شوری سبب کاهش وزن خشک برگ گیاه نعناع فلفلی شد. اعمال تنش شوری به مقدار نه دسی‌زیمنس بر متر تأثیر سوء بیش‌تری بر این گیاهان داشت. این نتایج با کاهش وزن خشک برگ و بوته در گیاه برنج (۳۶) در تنش شوری هم‌خوانی داشت. آبیاری با آب شور منجر به اختلال در جذب مواد معدنی، کاهش فتوسنتز، ساخت پروتئین و متابولیسم کربوهیدرات می‌شود.



شکل ۱۲- اثر شوری (الف) و پیریفورموسپورا ایندیکا (ب) بر میزان وزن خشک برگ نعناع فلفلی.

Fig. 12. The effect of salinity (a) and *P. indica* (b) on dry weight of peppermint leaves.

قارچ همزیست در گیاه از طریق افزایش سرعت رشد و تخصیص و انتقال مواد غذایی بین ریشه و ساقه موجب افزایش جذب و انتقال مواد غذایی و به تبع آن سبب افزایش وزن خشک گیاه شده است (۲۳) و (۴۴). نتایج این آزمایش، با نتایج برخی از پژوهشگران

با توجه به شکل ۱۲- ب، تفاوت آشکاری بین تیمار کاربرد قارچ و عدم کاربرد آن (شاهد) در میزان وزن خشک برگ مشاهده شد. بر این اساس، تیمار قارچ موجب افزایش ماده خشک برگ تا بیش از ۳۸ درصد نسبت به شاهد شد. به احتمال زیاد کاربرد

شبه میکوریزا به ویژه در شرایط تنش شوری از طریق افزایش سامانه ریشه‌ای، بهبود وضعیت فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانی گیاه و ساخت متابولیت‌های ثانویه، توانست تحمل گیاه نعنای فلفلی را به تنش شوری بهبود ببخشد. با وجود این، تأیید چنین نتایج امیدبخشی به پژوهش‌های تکمیلی در شرایط مزرعه‌ای نیازمند است.

سیاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت‌های پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان در انجام این پروژه سپاسگزاری می‌گردد.

در مطالعه روی گیاه یونجه (۲۳)، ذرت (۵۲) و برنج (۳۶) مبنی بر افزایش وزن خشک گیاه در همزیستی میکوریزی مطابقت داشت. به نظر می‌رسد که تلقیح با قارچ *P. indica* از طریق کاهش مقدار نشت یونی و افزایش حفاظت از غشاهای سلولی، شرایط مناسبی را برای رشد و افزایش ماده خشک گیاه فراهم می‌کند.

نتیجه گیری

به طور کلی، نتایج نشان داد تنش شوری با آسیب به غشای سلول گیاه نعنای فلفلی، تخریب لیپیدهای غشا و افزایش نشت یونی آن موجب کاهش ماده خشک برگ گیاه می‌شود. از سوی دیگر، کاربرد قارچ

منابع

1. Abbaspoor, H. and Rezaei, H. 2014. Effect of gibberellic acid on Hill reaction rate, photosynthetic pigments and phenolic compounds in plants under drought stress conditions (*Dracocephalum moldavica* L.) Badrashbu drug. Plant Res. 27: 5. 893-903. (In Persian)
2. Abe, N., Murata, T. and Hirota, A. 1998. Novel 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl-radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. Biosci. Biotech. Biochem. 62: 661-662.
3. Arora, A., Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Int. J. Curr. Sci. 82: 10. 1227-1235.
4. Bagheri, S., Ebrahimi, M.A., Davazdah Emami, S. and Minooyi Moghadam, J. 2014. Terpenoids and phenolic compounds production of mint genotypes in response to mycorrhizal bio-elicitors. Tech. J. Eng. Appl. Sci. 4: 4. 339-348.
5. Bideshki, A. and Arvin, M.J. 2010. Effect of salicylic acid (SA) and drought stress on growth, bulb yield and allicin content of garlic (*Allium sativum*) in field. Plant Ecophysiol. 2: 73-79.
6. Chaparzadh, N. and Zarand Miandoab, L. 2010. Effect of salinity on pigments content and growth of two cultivars of rapeseed (*Brassica napus*). Plant Biol. 9: 13-26.
7. Charitah, D.M. and Reddy, M.N. 2002. Phenolic acid metabolism of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and Rhizobium. J. Plant Growth Regul. 37: 151-156.
8. Dell Rio, L.A., Copas, F.J., Sandalio, L.M., Palma, J.M. and Barroso, J.B. 2003. Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. Biochem. Mol. Biol. Life. 55: 71-81.
9. Deshmukh, S., Huckelhoven, R., Schafer, 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. Proc. Nati. Acad. Sci. 103: 18450-18457.
10. Druege, U., Baltruschat, H. and Franken, P. 2007. *Piriformospora indica* promotes adventitious root formation in cuttings. J. Sci. Hortic. 112: 422-426.

11. Esfandiari, A.A., Javadi, A. and Shokrpur, D. 2013. Evaluation of biochemical and physiological characteristics of wheat cultivars in response to salt stress in seedling stage. *J. Crop Improv.* 15: 1. 27-38. (In Persian)
12. Eshghizadeh, H.F. and Ehsanzadeh, C. 2009. The effect of different irrigation regimes on maize hybrids: chlorophyll fluorescence I, growth characteristics and grain yield. *Iran. J. Field Crop Sci.* 40: 2. 144-135. (In Persian)
13. Fahimirad, S., Ghasem Karimzadeh, G. and Ghanati, F. 2013. Cold-induced changes of antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in two canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *J. Plant Physiol. Breed.* 3: 1. 1-11.
14. Fatiha, B., Didier, H., Naima, G., Khodir, M., Martin, K., Kamagaju Léocadie, K., Caroline, S., Mohamede, C. and Pierre, D. 2015. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian mentha species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Ind Crops Prod.* 74: 722-730.
15. Fazaeli, A., Besharati, H. and Pirvali Biranvand, N. 2010. Effect of salinity on symbiotic efficiency *Sinorhizobium Meliloti* with different varieties of alfalfa, Iran. *J. Soil Res. (Formerly Soil and Water Science)*. 3: 253-263. (In Persian)
16. Fester, T. and Hause, G. 2005. Accumulation of reactive oxygen species in arbuscular mycorrhizal roots. *Mycorrhiza*. 15: 373-379.
17. Ghasemi, A.S. 2008. Medicinal and Aromatic Plants, to examine their effects. Islam Azad University Shahrekord, 541p. (In Persian)
18. Hajbagheri, S. and Enteshari, S.H. 2011. Effects of mycorrhizal fungi on some physiological characteristics of salt stressed *Ocimum basilicum* L. *J. Physiol.* 1: 215-222.
19. Hichem, H., Mounir, D. and Naceur, E.A. 2009. Defferential responses of two maize (*Zea mays* L.) varieties to salt stress: Changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages. *Ind Crops Prod.* 30: 144-151.
20. Ho, S., Chao, Y., Tong, W. and Yu, S. 2001. Sugar coordinately and differentially regulates growth and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanisms. *J. Plant. Physiol.* 125: 877-890.
21. Hoekstra, F.A., Golovina, E.A. and Buitink, J. 2000. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *J. Trends Plant Sci.* 6: 9. 431-438.
22. Jovanka, M.D., Nemanja, S., Svetlana, R., Zivko, J., Aleksandar, M. and Vesna, M. 2013. Differential response of three contrasting pea (*Pisum arvense*, *P. sativum* and *P. fulvum*) species to salt stress: assessment of variation in antioxidative defence and miRNA expression. *Aust. J. Crop Sci.* 7: 13. 2145-2153.
23. Karami, A. and Zarea, M.J. 2014. Physiological and nutritional response of inoculated alfalfa (*Medicago sativa*. cv. hamedani) with the fungus *Piriformospora indica* and bacterium *Azospirillum* spp under salt stress. *J. Crop Prod.* 7: 1. 109-129. (In Persian)
24. Kari Dolatabadi, H., Mohammadi Gol Tapeh, E., Moeini, A. and Verma, A. 2012. Evaluation of the effect of concentration of auxin and fungi *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* the peppermint (*Mentha piperita*) and thyme (*Thymus vulgaris*) in vitro. *JMP.* 2: 9. 13-22.
25. Kaya, C., Ashraf, M., Sonmez, O., Aydemir, S., Tuna, A.L. and Cullu, M.A. 2009. The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. *J. Sci. Hortic.* 121: 1-6.
26. Khorshidi, M., Bychranlv, B. and Bagheri, M. 2013. Increased maize seedling tolerance to temperature changes through three species of mycorrhizal symbiosis. *J. Agric. Sustain. Prod.* Pp: 187-200. (In Persian)
27. Kiarostami, K.H., Mohseni, R. and Saboora, A. 2010. Biochemical changes of *Rosmarinus officinalis* under salt stress. *J. Stress Physiol. Biochem.* 6: 3. 114-122.

28. Krizek, D.T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiol. Plant.* 103: 1-7.
29. Lee, J. and Scagel, C.F. 2009. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *J. Food Chem.* 115: 650-656.
30. Liu, C.Y. and Wu, Q.S. 2014. Relationships between mycorrhizas and antioxidant enzymes in citrus (*Citrus Tangerina*) seedlings inoculated with *Glomus Mosseae*. *Pak. J. Bot.* 46: 3. 1125-1128.
31. Mousavi Nodoshan, S., Owlia, P., Moein Najafabadi, L., Rasooli, I., Saderi, H. and Salari, M.H. 2010. Effect of sub inhibitory concentrations of essential oils of *Mentha spicata* and *Cumminum Cyminum* on virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med Plants.* 9: 124-130.
32. Nabati, C., Nezami, M., Rezvan Moghaddam, P., Masoumi, A. and Zare Mehrjard, D. 2013. Effect of salinity at different growth stages on the quantity and quality of forage kochia. *Elec. J. Crop Prod.* 5: 2. 111-128. (In Persian)
33. Nahiyani, A.S.M. and Matsubara, Y. 2012. Tolerance to fusarium root rot and changes in antioxidative ability in mycorrhizal asparagus plants. *Hortic. Sci.* 47: 3. 356-360.
34. Norris, I.R., Read, D.J. and Varma, A.K. 1992. *Methods in microbiology. Techn Study Mycorrhiza.* Academic Press, London. 450p.
35. Peskan-Berghofer, T., Shahollari, B., Pham-Huong-Giong Hehl, S., Markert, C., Blanke, V., Kost, G., Varma, A. and Olmuller, R. 2004. Association of *Piriformospora indica* with arabisopsis thaliana roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmic reticulum and at the plasma membrane. *J. Physiol. Plant.* 122: 465-477.
36. Pirdashti, H., Yaghoobian, Y., Mohammadi Goltapeh, E. and Hosseini, S.J. 2012. Effect of mycorrhiza-like endophyte (*Sebacina vermifera*) on growth, yield and nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *J. Agric Tech.* 5: 1651-1661.
37. Qanati, F., Bakhtiari, S. and Abdul Maliki, C. 2010. Effects of methyl jasmonate on secondary metabolites of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Biotechnol Tarbiat Modares.* 1: 21. 33. (In Persian)
38. Rabie, G.H. and Almadani, A.M. 2005. Role of bio-inoculants in development of salt tolerance of *Vicia faba* plant under salinity stress. *Afr. Biotechnol.* 4: 210-222.
39. Rice-Evance, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trend. Plant Sci.* 2: 152-159.
40. Roodbari, N., Roodbari, S., Ganjali, A. and Ansarifard, M. 2013. The effect of salinity stress on growth parameters and essential oil percentage of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Int. J. Basic Appl. Sci.* 1: 294-299.
41. Ruiz-Lozano, J.M., Collados, C., Barea J.M. and Azcon, R. 2001. Cloning of cDNAs encoding SODs from lettuce plants which show differential regulation by arbuscular mycorrhizal symbiosis and by drought stress. *J. Exp. Bot.* 52: 2241-2242.
42. Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F. and Sangwan, R.S. 2001. regulation of essential oil production in plants. *J. Plant Growth Regul.* 34: 3-21.
43. Sannazzaro, A.I., Alberto, E., Ruiz, O.A. and Menendez, B. 2005. Influence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the saline stress physiology of *Lotus glaber*. *Lotus Newsl.* 35: 29-30.
44. Sepehry, M., Saleh Rastin, N., Hosseini Salakadeh, Gh. and Khayyam Nekouei, D. 2009. Effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* on growth and resistance of barley (*Hordeum vulgare* L.) to salinity. *J. Range. Sci.* 3: 508-518. (In Persian)
45. Shatta, A. and EI-Shamei, Z. 1999. Differentiation of eggplant (*Solanum melongena* L.) polyphenoloxidase, laccase and peroxidase using selective substrates and inhibitors. *Adv. Food Sci.* 21: 79-83.

46. Thipyapong, P., Stout, M.J. and Attajarusit, J. 2007. Functional analysis of polyphenol oxidases by antisense/ sense technology. *Molecul.* 12: 1569-1595.
47. Torabi, A. and Farzami Sepehr, M. 2015. The effect of salt pretreated *Glomus fasciculatum* on salinity tolerance induction of barley plants. *Iran J. Plant Physiol.* 5: 2. 1323-1331. (In Persian)
48. Turk, M.A., Assaf, T.A., Hameed, K.M. and Tawaha, A.M. 2006. Significance of mycorrhizae. *World J. Agric. Sci.* 2: 16-20.
49. Watkinson, J.I., Hendricks, L., Sioson, A.A., Vasquez-Robinet, C., Verlyn, S., Heath, L.S., Schuler, M., Bohnert, H.J., Bonierbale, M. and Grene, R. 2006. Accessions of *Solanum tuberosum* Andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. *J. Plant Sci.* 18: 1-4.
50. Wu, Q.S., Zou, Y.N., Liu, W., Ye, X.F., Zai H.F. and Zhao, L.J. 2010. Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with mycorrhiza: changes in leaf antioxidant defense systems. *Plant Soil Environ.* 56: 470-475.
51. Zhang, J. and Kirkham, M.B. 1996. Antioxidation responses to drought in sunflower and sorghum seedling. *New Phytol.* 132: 361-373.
52. Zhu, X.C., Song, F.B. and Liu, S.Q. 2011. Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system. *J. Food Agric. Environ.* 9: 583-587.

Arch