

Effects of *Piriformospora indica* fungi symbiotic on the quantity of essential oil and some physiological parameters of peppermint in saline conditions

Masome khalvandi ¹, Mohamadreza Amerian ^{1*}, Hemmatollah Pirdashti ², Mahdi Baradaran ¹, Ahmad Gholami ¹

¹ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

² Department of Agronomy, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari, Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Abstract

In order to evaluate the effect of *Piriformospora indica* fungi inoculation on some physiological parameters of peppermint medicinal plant under salt stresses, a field experiment was arranged in a factorial experiment based on completely randomized design with three replications. Treatments including *P. indica* symbiosis and four salinity levels (irrigation with distilled water and the Caspian Sea water mixture at of 0, 3, 6 and 9 dS m⁻¹). The measured parameters were leaf dry weight, leaf total phenolics, flavonoids, anthocyanins, radical scavenging, essential oil yield and the content of Na, P and K and stomatal conductance. Results showed that with increasing of salinity, the anthocyanins, flavonoids and Na content were increased, while P and K content, leaf dry weight and essential oil yield were decreased. The symbiotic fungi increased anthocyanins and flavonoids content by 17 and 31%, respectively as compared to the uninoculated control plants. Fungal treatment, reduced the negative effects of salinity on stomatal conductance, P and K content, leaf dry weight, essential oil yield and also decreased Na content in saline conditions. In 9 dS m⁻¹ of salinity, fungi inoculation could increase total phenol content and essential oil yield up to 37 and 76%, respectively. It seems, the root inoculation of the peppermint medicinal plants with *P. indica*, stimulates the synthesis of phenolic compounds and essential oils, also increases the nutrient uptake which ameliorate the negative effects of salinity in the plant.

Key words: Essential oils, salinity, stomatal conductance, symbiotic fungus, total phenol.

* amerianuk@yahoo.co.uk

اثر همزیستی قارچ *Piriformospora indica* بر کمیت اسانس و برخی صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی نعنای فلفلی در تنش شوری

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

^۱ گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

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

چکیده

در پژوهش حاضر، تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی نعنای فلفلی در تنش شوری، با آزمایش مزرعه‌ای و به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار بررسی شد. تیمارها شامل تلقیح با قارچ *P. indica* و چهار سطح شوری صفر، سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر بودند. آبیاری با آب شور حاوی مخلوط آب دریای خزر و آب مقطر با چهار سطح شوری یادشده انجام شد. وزن خشک برگ، میزان فنل کل، فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، عملکرد اسانس، هدایت روزنه‌ای و محتوای سدیم، فسفر، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم برگ سنجش شدند. نتایج نشان داد که افزایش تنش شوری؛ افزایش آنتوسیانین، فلاونوئید، محتوای سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم برگ و کاهش محتوای فسفر و پتاسیم، وزن خشک برگ و عملکرد اسانس را باعث شد. تلقیح قارچ *P. indica* به ریشه گیاه نعنای فلفلی به‌ترتیب افزایش ۱۷ و ۳۲ درصدی آنتوسیانین و فلاونوئید را نسبت به گیاهان شاهد موجب شد. همچنین تیمار قارچ به کاهش آثار منفی شوری بر هدایت روزنه‌ای، محتوای فسفر و پتاسیم، عملکرد اسانس و وزن خشک و محتوای سدیم برگ منجر شد. همزیستی قارچی در شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر، مقدار فنل کل برگ را ۳۷ درصد و عملکرد اسانس را ۸۰ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. به نظر می‌رسد تلقیح قارچ *P. indica* به ریشه‌های گیاه دارویی نعنای فلفلی علاوه بر تحریک سنتز ترکیبات فنولیک و اسانس، با افزایش جذب فسفر و پتاسیم تخفیف آثار تنش شوری را در این گیاه موجب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، شوری، فنل کل، قارچ همزیست، هدایت روزنه‌ای.

مقدمه

نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان خانواده نعناعیان (Labiataceae) است. آثار مفید این گیاه مربوط به ترکیبات موجود در اسانس آن است که به‌طور گسترده برای صنایع دارویی و محصولات غذایی استفاده می‌شود (Roodbari et al., 2013). این گیاه از نظر دارویی؛ اسپاسمولیتیک، کمک‌کننده هضم غذا و سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند ترکیبات فنلی است که در ویژگی آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد التهابی و سیستم دفاعی گیاه نقش مهمی دارند (Mousavi Nodoshan et al., 2010). عوامل متعددی از جمله تنش‌های محیطی (Gharib et al., 2014) تغییر در مقدار و کیفیت مواد موثر مانند آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس و در نهایت، عملکرد گیاهان دارویی را موجب می‌شوند (Omid Beighi, 2011). همچنین شوری، یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی، با افزایش یون‌های سمی مانند کلرید (Munns, 2002) به کاهش جذب آب و مواد مغذی (Parida and Das, 2005)، اختلال در فرایندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی (Hajibagheri et al., 2011) و در نتیجه، کاهش رشد و تغییر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه (Alaei et al., 2014) گیاهان منجر می‌شود. گزارش‌های زیادی درباره آثار تنش شوری بر عملکرد اسانس، متابولیت‌های ثانویه (Razmjoo et al., 2008; Roodbari et al., 2013; Aziz et al., 2008; Ashraf et al., 2004) و زیست‌توده گیاهان دارویی وجود دارد (Rahimi et al., 2012; Gharib et al., 2014). برای نمونه، برخی محققان در بررسی آثار تنش شوری بر نعناع، پونه (Roodbari et al., 2013; Aziz et al., 2008) و علف

هرز اسقف (Ashraf et al., 2004)، کاهش اسانس را گزارش کرده‌اند.

در سال‌های گذشته، پژوهشگران برای مقابله با پدیده شوری، کاهش آثار زیان‌بار آن و بهبود عملکرد محصول به‌دنبال راهکارهای نوین مانند استفاده از ریزجانداران اندوفیت هستند. بدین منظور، استفاده از قارچ اندوفیت *P. indica* یکی از راهبردهای نوین برای بهبود عملکرد گیاهان در شرایط نامطلوب محیطی مانند شوری آب و خاک مطرح شده است. این قارچ از رده بازیدومیست‌ها، مشابه قارچ مایکوریز آریسکولار (Waller et al., 2005; Varma et al., 1999) است و با ریشه‌های بسیاری از گیاهان، همزیست می‌شود (Rafiqi et al., 2013). این همزیستی، با روش‌های مختلف مانند افزایش رشد گیاه، بهبود جذب آب و مواد غذایی (Kari Dolatabadi et al., 2013; Zolfaghari et al., 2010; al., 2010)، و تحریک سیستم ایمنی گیاه (Jacobs et al., 2011) امکان توسعه کشت گیاه را در اقلیم‌هایی با تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند تنش شوری و خشکی فراهم می‌کند (Waller et al., 2005; Yaghoubian et al., 2014). برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد که چنین رابطه‌ای افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مارچوبه (Nahiyan and Matsubara, 2012) و افزایش معنی‌دار رشد و تجمع آنتوسیانین را در گیاه دارویی ریحان (Lee and Scagel, 2009) و نعناع (Bagheri et al., 2014) موجب شد. همچنین این قارچ با ایجاد تغییرات در خورتوجهی در فعالیت‌های آنزیمی و سازوکارهای فیزیولوژیک، به تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئیدها و پلی‌فنل‌ها در گیاهان میزبان منجر می‌شود (Bagheri et al., 2014). تلقیح این قارچ‌ها و حضور آن در ریزوسفر

گیاهان، مانند ریحان (Zolfaghari et al., 2013)، نعنای (Ahmadi khoei et al., 2013) و رازیانه (Kari Dolatabadi et al., 2011) می‌تواند میزان اسانس را در این گیاهان افزایش دهد. در گیاهان مریم گلی، آویشن و پونه کوهی نیز مقدار مانول، تیمول و کارواکرول به‌طور چشمگیری بیشتر شد (Tarraf et al., 2015). استفاده از فناوری‌های مختلف کشت و کار برای افزایش بازده و عملکرد گیاهان و ممکن کردن استفاده از آب شور برای آبیاری، مدیریت ایدئال برای تامین تقاضای فزاینده مواد غذایی است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تأثیر قارچ *P. indica* بر ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی نعنای فلفلی در شرایط شور طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۹ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۳ درجه و چهار دقیقه شرقی و ارتفاع یازده متر پایین‌تر از سطح دریا اجرا شد. انجام این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و در سال زراعی ۱۳۹۴ بود. دو عامل بررسی شده شامل همزیستی با قارچ *P. indica* (تلقیح با قارچ و بدون تلقیح) و چهار سطح شوری (آبیاری با آب شور حاوی مخلوط آب دریای خزر و آب معمول در غلظت‌های صفر، سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر) بود. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه و آب استفاده‌شده، در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. سوئه قارچ *P. indica* از آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه و در محیط کشت

مایع کفر در پتريدیش به مدت دو هفته کشت شد؛ سپس به محیط کشت مایع، منتقل و به مدت دو هفته در انکوباتور با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد و ۵۰ دور در دقیقه در تاریکی قرار داده شد. ریزوم‌های نعنای فلفلی استفاده‌شده در این آزمایش از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه شد. ریزوم‌ها به دو قسمت بدون تلقیح و تلقیح با قارچ تقسیم شدند. ریزوم‌های تیمار تلقیح با قارچ، به مدت سه ساعت در سوسپانسیون قارچ (با غلظت 1×10^9 کلون بر میلی‌لیتر) غوطه‌ور شدند.

در تاریخ اول خرداد، ریزوم‌ها در کرت‌هایی با ابعاد ۲×۲ متر، فاصله ۲۵ سانتی‌متری روی ردیف و فاصله ۳۰ سانتی‌متری بین ردیف کشت شدند. بلافاصله پس از کاشت، آبیاری با آب غیرشور تا ظرفیت زراعی مزرعه انجام شد. در مدت رشد گیاهان، آبیاری با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه به‌صورت قطره‌ای انجام شد؛ سپس تنش شوری در مرحله شش‌برگی شدن بوته‌ها آغاز شد و تا ابتدای مرحله گل‌دهی ادامه یافت. نمونه‌برداری‌ها برای صفات مد نظر، در ابتدای مرحله گل‌دهی آغاز شد.

جدول ۱- برخی از ویژگی فیزیکی و شیمیایی آزمایش خاک

شاخص	واحد	مقدار
بافت خاک	-	شنی-لومی
اسیدیته (pH)	-	۷/۲۶
هدایت الکتریکی (EC)	دسی‌زیمنس بر متر	۰/۶۳
کربن آلی	درصد	۲/۰۹
فسفر	میلی گرم بر کیلوگرم	۱۴/۵
پتاسیم	میلی گرم بر کیلوگرم	۲۷۰
نیترژن	درصد	۰/۲۱

سپس ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال، با رابطه ۱ محاسبه شد:

$$= \text{درصد مهار رادیکال آزاد ۱} - \text{دی فنیل ۲} - \text{پیکریل هیدرازیل} \\ \times 100 \frac{\text{جذب نمونه شاهد} - \text{جذب نمونه مورد ارزیابی}}{\text{جذب نمونه شاهد}}$$

رابطه ۱

میزان فسفر با دستگاه اسپکتروفتومتر و میزان پتاسیم و سدیم با فلیم فتومتر (مدل PFP7، شرکت JENWAY United Kingdom، flame Jackson (۱۹۵۸) محاسبه شد. میزان اسانس با روش تقطیر و دستگاه کلونجر (مدل British Pharmacopoeia، شرکت United Kingdom، Bibby Scientific) اندازه‌گیری شد. در این روش میزان ۱۰۰ گرم برگ خشک گیاه در بالن ریخته شد و به مقدار چهار برابر آن، آب مقطر به آن اضافه شد. برای بررسی همزیستی، قطعات یک سانتی متری از ریشه به مدت هفت دقیقه در محلول پتاسیم هیدروکسید ده درصد، رنگ‌بری و سپس با محلول پنج درصد جوهر و سرکه رنگ‌آمیزی شد (Vierheilig et al., 1998). زمان اسانس‌گیری برای همه تیمارها ۱۲۰ دقیقه بود. در پایان، داده‌های هر یک از صفات بررسی شده، با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تحلیل شدند. برای کمی‌سازی و توصیف معادلات از تجزیه رگرسیونی و برازش معادله‌های خطی (رابطه ۲) و دو تکه‌ای (رابطه ۳) پیشنهاد شده Bakhshandeh و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد.

$$y = b_1x + a \quad \text{رابطه ۲}$$

$$y = b_1x + a \quad \text{اگر } x \leq x_0$$

$$y = (b_1x_0 + a) + b_2(x - x_0) \quad \text{اگر } x > x_0$$

رابطه ۳

جدول ۲- تجزیه شیمیایی آب دریا

شاخص	واحد	مقدار
هدایت الکتریکی (EC)	دسی‌زیمنس بر متر	۱۵
اسیدیته (pH)	-	۸/۲
سدیم	میلی گرم بر لیتر	۳۷۶۸/۴۸
پتاسیم	میلی گرم بر لیتر	۷۷/۱۱
کلسیم	میلی گرم بر لیتر	۱۷
منیزیم	میلی گرم بر لیتر	۵۴/۵

پس از اعمال تنش شوری، اندازه‌گیری هدایت روزنه‌ای در آخرین برگ توسعه یافته، با دستگاه پرومتر (مدل 540-026/01، شرکت ELE International، United Kingdom) بین ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح انجام شد. میزان آنتوسیانین و فلاونوئید طبق روش Krizek و همکاران (۱۹۹۹)، به ترتیب در طول موج‌های ۵۵۰ و ۳۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل SPEKOL 1300، شرکت Analytic jena، کشور آلمان) خوانده شد.

برای تعیین مقدار ترکیبات فنل‌های کل از روش Meyers و همکاران (۲۰۰۳) با معرف فولین سیکالتو در طول موج ۶۶۰ نانومتر و نمودار استاندارد گالیک اسید استفاده شد. برای اندازه‌گیری ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال، طبق روش Abe و همکاران (۱۹۹۸) مقدار ۱۰۰ گرم از بافت تازه برگ‌گی با اتانول اسید ۹۶ درصد کاملاً ساییده شد. پس از پنج دقیقه سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰، محلول رویی حاصل با محلول نیم میلی‌مولار ۱- دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل مخلوط و میزان جذب پس از ۳۰ دقیقه تاریکی، در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد؛ سپس ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال، با رابطه ۱ محاسبه شد:

که در این معادلات، y ، مقدار پیش‌بینی شده برای صفات مد نظر؛ a ، مقدار ثابت در غلظت صفر کادمیم؛ x ، غلظت کادمیم؛ x_0 ، نقطه چرخش بین دو فاز معادله b_1 و b_2 ، شیب تغییرات صفات (کاهشی یا افزایشی) به ترتیب در فاز یک و دو معادله هستند. رسم نمودارها با نرم‌افزار صفحه گستر اکسل انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که تاثیر تنش شوری بر همه صفات بررسی شده

در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر تیمار قارچ *P. indica* نیز در همه صفات، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل قارچ و شوری نیز در صفات فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، هدایت روزنه‌ای و محتوای سدیم و پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم در سطح احتمال یک درصد و در صفات سرعت تعرق، عملکرد اسانس، وزن خشک برگ و محتوای فسفر و فنل کل برگ، در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد.

جدول ۳- میانگین مربعات اثر تیمارهای بررسی شده بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، صفات فیزیولوژیک و عملکرد اسانس گیاه نعنای فلفلی

منابع تغییر	بلوک	شوری (S)	قارچ (P)	S×P	خطای آزمایشی	ضریب تغییرات
درجه آزادی	۲	۳	۱	۳	۱۴	(درصد)
فنل کل برگ	۰/۲۴	۳۲/۹۷**	۱۸/۱۵**	۰/۸*	۰/۲۳	۳/۶
فلاونوئید	۰/۱۷	۳/۸۲**	۶/۲۳**	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۱۵	۷/۲
آنتوسیانین	۰/۳۶	۵/۶۶**	۱۴/۸۴**	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۲۴	۱۱/۸
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	۱۰/۸۲	۲۳۰۹/۴۸۶**	۳۹۶/۷۴**	۹۴/۰۸**	۸/۵	۷/۸
فسفر برگ	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۵**	۰/۱۴۸**	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۰۵	۷/۲
پتاسیم برگ	۰/۰۰۰۱	۲/۶۱**	۱/۱۲۵**	۰/۱۷**	۰/۰۱۶	۱۲/۹
سدیم برگ	۰/۰۰۱	۰/۷۴**	۰/۱۸**	۰/۰۳۶**	۰/۰۰۰۶	۵/۶
نسبت سدیم به پتاسیم	۰۵۷/۰	۲۲/۴۱**	۳۶/۶۹**	۱۵/۴۸**	۰/۰۲۷	۱۰/۵
هدایت روزنه‌ای	۰/۴۸۹	۲۲۱/۸۶**	۲۳/۴۵**	۳/۳۲**	۰/۴۱۷	۶
سرعت تعرق	۰/۰۰۲	۰/۰۸۴**	۰/۰۳۲**	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۰۴	۶/۶
وزن خشک برگ	۹۲/۸۷۲۷	۴۴۸۵۵۰/۸۲**	۴۸۱۹۵۵/۷۱**	۱۵۵۳۳/۷۹*	۳۷۶۳/۲۸	۸/۳
عملکرد اسانس	۰۱/۶	۵۶۹/۳۳**	۵۰۴/۴**	۲۳/۲۶*	۴/۱۹	۱۳/۷

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

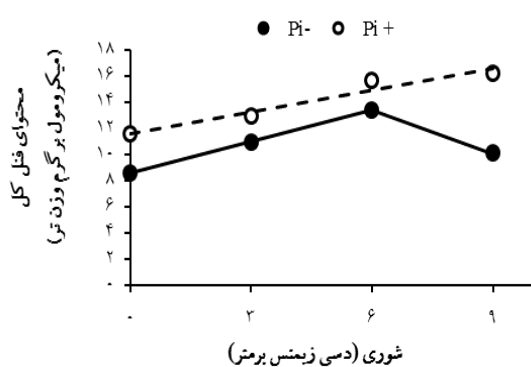
گروهی در خوشه‌های منظم و نامنظم در فضای بین سلولی و درون سلولی ریشه تشکیل شدند (شکل ۱).



همزیستی ریشه: تصاویر میکروسکوپی ریشه نشان داد که میسلوم قارچ در اپیدرم و سلول‌های قشر ریشه نفوذ کرد و کلامیدوسپورهای گلابی شکل به صورت



شکل ۱- کلامیدوسپورها (A) و هیف‌های (B) قارچ *P. indica* (نقاط سیاه رنگ که با فلش مشخص شده‌اند) در سلول‌های ریشه نعنای فلفلی



شکل ۲- نمودار پاسخ صفات محتوای فنل کل برگ گیاه نعنای فلفلی به غلظت‌های مختلف شوری در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با قارچ اندوفیت *P. indica*- مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD، با استفاده از آزمون LSD و تجزیه رگرسیونی (مدل دو تکه‌ای و مدل خطی) است.

فنل کل برگ: برای توصیف برهم کنش اثر شوری و قارچ بر محتوای فنل کل در تیمار شاهد (بدون تلقیح) از معادله رگرسیونی دو تکه‌ای استفاده شد؛ اما نمودار تغییرات فنل کل در تیمار تلقیح با قارچ به صورت خطی بود (شکل ۲، جدول ۴). بنابراین، محتوای فنل کل نسبت به تنش شوری در دو گروه تیمار قارچی، متفاوت بود. با افزایش غلظت شوری آب آبیاری از صفر تا ۶ دسی زیمنس بر متر، محتوای فنل کل در هر دو تیمار زیستی روند افزایشی داشت؛ ولی با افزایش بیشتر شوری از ۶ تا ۹ دسی زیمنس بر متر، در تیمار قارچی، این روند افزایشی ادامه داشت؛ ولی در تیمار شاهد به صورت کاهشی و با شیب $-1/08$ واحد کاهش یافت.

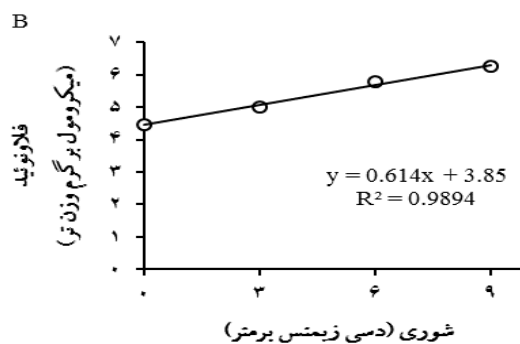
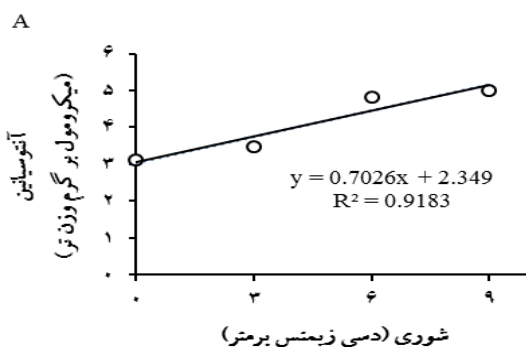
جدول ۴- معادله مناسب توصیف کننده اثر همزیستی قارچ اندوفیت *P. indica* بر روند تغییرات فنل کل برگ، ظرفیت آنتی اکسیدانی، هدایت روزنه‌ای، تعرق، وزن خشک برگ و عملکرد اسانس گیاه نعناع فلفلی در غلظت‌های مختلف شوری

صفات	شاهد (بدون تلقیح)	تلقیح با قارچ
فنل کل	$y = 0.803x + 8.58$ if $x \leq 5.98$ $y = -1.0867x + 5.98$ if $x > 5.98$ $R^2 = 0.99$ $P < 0.0001$ $RMSE = 0.001$	$y = 0.5583x + 11.6$ $R^2 = 0.95$ $P = 0.009$
ظرفیت آنتی اکسیدانی	$y = 3.614x + 16.366$ if $x \leq 6.2$ $y = -3.519x + 28.7728$ if $x > 6.2$ $R^2 = 0.97$ $P < 0.01$ $RMSE = 1.59$	$y = 5.1457x + 19.437$ $R^2 = 0.99$ $P < 0.001$
هدایت روزنه‌ای	$y = -1.327x + 15.434$ $R^2 = 0.98$ $P < 0.0001$	$y = -0.8311x + 19.52$ if $x \leq 3$ $y = -2.0967x + 17.0267$ if $x > 3$ $R^2 = 0.99$ $P = 0.002$ $RMSE = 0.17$
تعرق	$y = -0.02x + 0.393$ if $x \leq 5.73$ $y = -0.0454x + 0.2784$ if $x > 5.73$ $R^2 = 0.99$ $P < 0.0001$ $RMSE = 0.002$	$y = -0.00556x + 0.5$ if $x \leq 3$ $y = -0.0533x + 0.4833$ if $x > 3$ $R^2 = 0.99$ $P = 0.0004$ $RMSE = 0.005$
وزن خشک برگ	$y = -62.5557x + 896.633$ if $x \leq 5.04$ $y = -119.5x + 581.3523$ if $x > 5.04$ $R^2 = 0.99$ $P = 0.0007$ $RMSE = 48.39$	$y = -68.235x + 1184.7$ $R^2 = 0.97$
عملکرد اسانس	$y = -20.2908x + 19.443$ $R^2 = 0.98$	$y = -4.2719x + 34.352$ if $x \leq 3.58$ $y = -1.6945x + 19.0428$ if $x > 3.58$ $R^2 = 0.99$ $P < 0.0001$ $RMSE = 0.002$

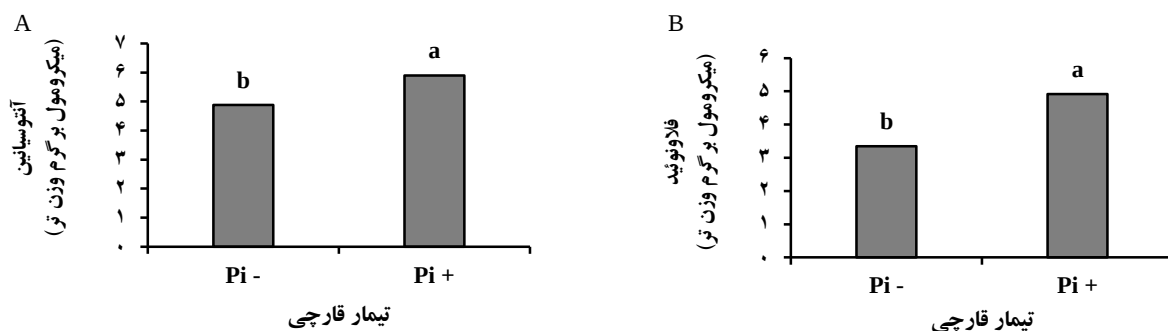
آنتوسیانین و فلاونوئید برگ: در این آزمایش،

برهم کنش بین قارچ و شوری بر این صفات تاثیر معنی‌دار نداشت (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصل از برآزش نمودار، با افزایش غلظت شوری، دو صفت آنتوسیانین و فلاونوئید برگ به صورت خطی به ترتیب با شیب ۰/۷ و ۰/۶ واحد افزایش یافتند؛ به طوری که بیشترین میزان آنتوسیانین و فلاونوئید برگ (به ترتیب حدود ۳۷ و ۲۸ درصد افزایش نسبت به شاهد) در شوری ۹ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد (شکل ۳).

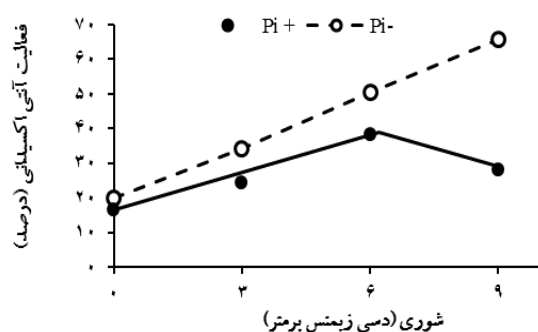
مقایسه میانگین اثر تیمار قارچی بر میزان آنتوسیانین نشان داد که کاربرد قارچ اندوفیت میزان آنتوسیانین برگ را حدود ۱۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داد که این تفاوت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (شکل ۴- A). همچنین شکل ۴- B نشان داد که میزان فلاونوئید متأثر از کاربرد قارچ اندوفیت به صورت معنی‌داری (حدود ۳۱ درصد نسبت به شاهد) افزایش یافت.



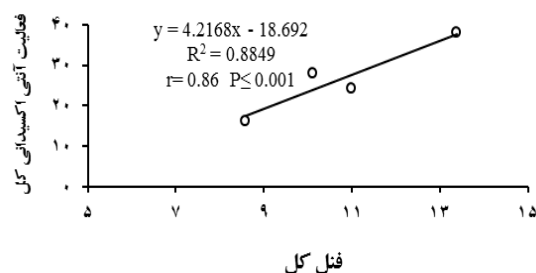
شکل ۳- روند تغییرات آنتوسیانین (A) و فلاونوئید (B) در پاسخ به افزایش شوری خاک در برگ گیاه نعناع فلفلی - مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD، با استفاده از آزمون LSD و تجزیه رگرسیونی (مدل دو تکه‌ای و مدل خطی) است.



شکل ۴- میزان آنتوسیانین (A) و فلاونوئید برگ (B) در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با قارچ اندوفیت *P. indica* - مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD است. حروف غیر مشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.



شکل ۵- نمودار پاسخ ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه نعنای فلفلی به غلظت‌های مختلف شوری در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با قارچ اندوفیت *P. indica* - مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD، با استفاده از آزمون LSD و تجزیه رگرسیونی (مدل دو تکه‌ای و مدل خطی) است.



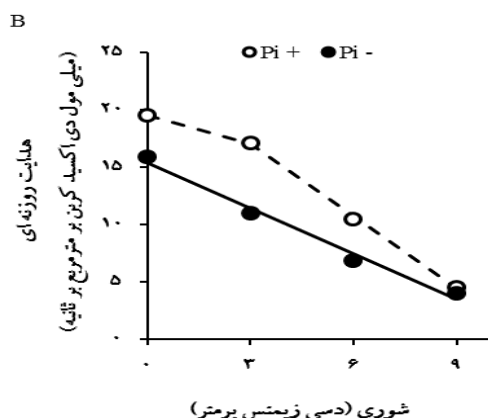
شکل ۶- رابطه بین محتوای فنل کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در برگ نعنای فلفلی

ظرفیت آنتی اکسیدانی: نمودار روند تغییرات ظرفیت

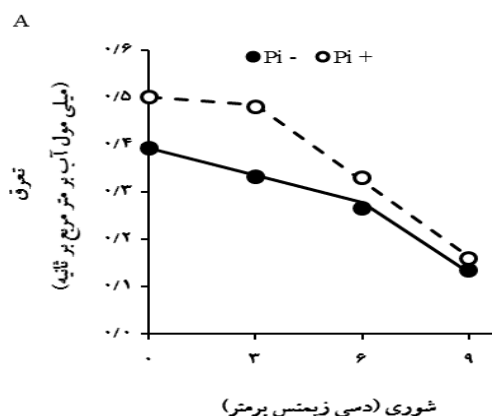
آنتی اکسیدانی در پاسخ به افزایش شوری در عدم تلقیح با قارچ به صورت دو تکه‌ای و در تیمار تلقیح قارچ *P. indica* به صورت خطی بود (شکل ۵-B، جدول ۴). در گیاهان همزیست‌نشده، با افزایش تنش شوری از غلظت صفر تا ۶ دسی زیمنس بر متر روند تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی به صورت افزایشی (۳/۶۱۴ واحد) بود؛ ولی در ادامه (از ۶ تا ۹ دسی زیمنس بر متر) با شیب ۳/۵۱- واحد کاهش یافت. روند تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی در تیمار قارچی به صورت افزایشی بود. با افزایش غلظت شوری، ظرفیت آنتی اکسیدانی با شیب ۱۵/۴۳ واحد به صورت خطی افزایش یافت و بیشترین میزان آن (با حدود ۵۷ درصد افزایش نسبت به شاهد) در غلظت شوری ۹ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد. علاوه بر این، در پژوهش حاضر فعالیت آنتی اکسیدانی با میزان فنل رابطه مستقیم داشت ($r = 0.86$ ، $P < 0.001$)؛ به طوری که گیاهانی که ترکیبات فنلی بیشتری داشتند، فعالیت ضد رادیکال‌های آزاد بیشتری نشان دادند (شکل ۶).

۹ دسی زیمنس بر متر تفاوت معنی داری بین میزان تعرق در برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ و بدون تلقیح مشاهده نشد (شکل ۷-۸).

میزان هدایت روزنه‌ای با افزایش شوری از صفر تا ۹ دسی زیمنس بر متر در هر دو تیمار شاهد و تیمار قارچی روند کاهشی داشت. در شوری صفر تا ۶ دسی زیمنس بر متر میزان هدایت روزنه‌ای برگ گیاهان همزیست شده با قارچ شبه میکوریز بیشتر از تیمار بدون تلقیح بود؛ اما در تیمار بدون قارچ، هدایت روزنه‌ای به صورت معادله خطی با شیب $-1/32$ واحد کاهش یافت. با وجود این، با افزایش شوری تا ۹ دسی زیمنس بر متر تفاوت معنی داری بین میزان هدایت روزنه‌ای در برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ و تیمار بدون تلقیح مشاهده نشد (شکل ۷-۹).



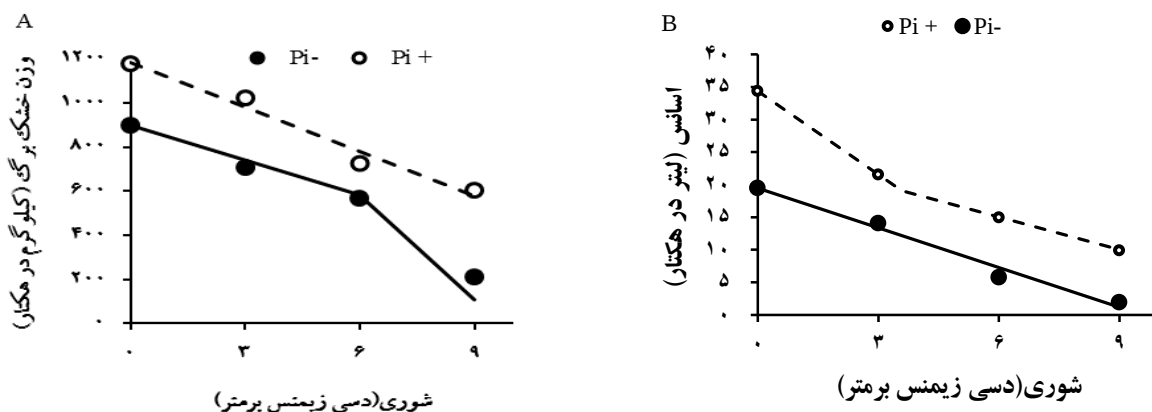
هدایت روزنه‌ای و سرعت تعرق: روند تغییرات سرعت تعرق نیز در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری به صورت معادله دوتکه‌ای بود و کاهش معنی دار سرعت تعرق در هر دو گروه تیمار قارچی به ویژه در تنش شوری زیاد مشهود بود. بیشترین تعرق در غلظت صفر شوری مشاهده شد و با افزایش غلظت شوری از صفر تا ۶ دسی زیمنس بر متر در تیمار بدون تلقیح، روند تغییرات آن به صورت کاهشی ($-0/02$ واحد) بود؛ سپس با شیب بیشتری ($-0/045$ واحد) کاهش یافت. از سویی، میزان تعرق در تیمار هم‌زمان همزیستی قارچی و تنش شوری، با شیب حدود $-0/005$ کاهش یافت؛ به طوری که با افزایش غلظت شوری با شیب حدود $-0/005$ واحد کاهش یافت. با وجود این، با افزایش شوری تا



شکل ۷- نمودار پاسخ صفات تعرق (A) و هدایت روزنه‌ای برگ (B) گیاه نعنای فلفلی به غلظت‌های مختلف شوری در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با قارچ اندوفیت *P. indica* - مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD، با استفاده از آزمون LSD و تجزیه رگرسیونی (مدل دوتکه‌ای و مدل خطی) است.

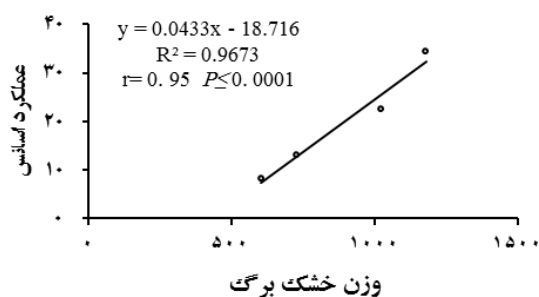
تیمار شاهد شیب تغییرات وزن خشک در غلظت‌های اندک شوری کمتر بود و به تدریج با افزایش غلظت شوری شیب تغییرات افزایش یافت به طوری که بیشترین اثر افزایشی قارچ در غلظت شوری ۹ دسی زیمنس بر متر با ۶۵ درصد افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد.

وزن خشک برگ: روند تغییرات وزن خشک برگ در تیمار شاهد (بدون تلقیح) به صورت معادله دوتکه‌ای و کاهشی بود؛ اما در تیمار تلقیح با قارچ *P. indica* این کاهش روند خطی داشت (شکل ۸-۸). افزودن قارچ اثر مثبتی بر میزان وزن خشک برگ در همه غلظت‌های شوری داشت. در



شکل ۸- نمودار پاسخ صفات وزن خشک برگ (A) و عملکرد اسانس (B) گیاه نعنای فلفلی به غلظت‌های مختلف شوری در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با قارچ اندوفیت *P. indica*، مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD، با استفاده از آزمون LSD و تجزیه رگرسیونی (مدل دو تکه‌ای و مدل خطی) است.

مثبتی ($P < 0.01$, $R^2 = 0.96^{**}$) مشاهده شد؛ به طوری که با هر واحد افزایش ماده خشک برگ، میزان عملکرد اسانس 0.043 واحد افزایش یافت (شکل ۹).



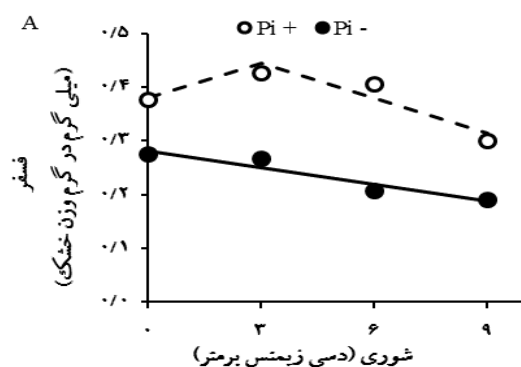
شکل ۹- رابطه بین درصد وزن خشک برگ و عملکرد اسانس در نعنای فلفلی

فسفر، پتاسیم، سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم: براساس یافته‌ها، روند تغییرات میزان فسفر و پتاسیم برگ در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری در تیمارهای شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح با قارچ *P. indica* معادله دو تکه‌ای و کاهشی بود؛ تنها محتوای فسفر برگ در تیمار شاهد روند خطی داشت (شکل

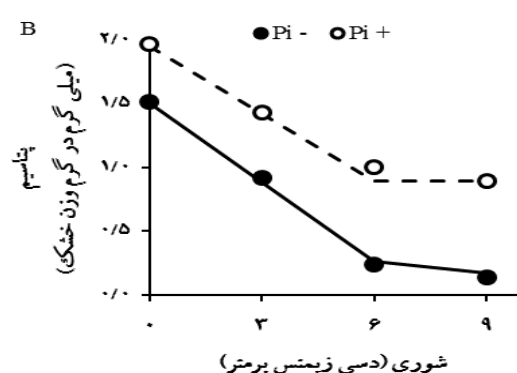
عملکرد اسانس: درباره عملکرد اسانس بیشترین پاسخ مثبت گیاه در غلظت صفر شوری مشاهده شد و از $19/4$ لیتر در هکتار در غلظت صفر به $1/93$ لیتر در هکتار در غلظت شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر رسید. به عبارت دیگر، تلقیح قارچ در افزایش $43/37$ تا $80/44$ درصدی عملکرد اسانس گیاه دارویی نعنای فلفلی نقش داشت. این روند تغییرات عملکرد اسانس در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری در تیمار شاهد (بدون تلقیح) به صورت خطی و در تیمار تلقیح با قارچ *P. indica*، از نوع معادله دو تکه‌ای بود (شکل ۸-B، جدول ۴). گیاهان همزیست شده با قارچ شبه میکوریز، با افزایش شوری آب آبیاری عملکرد اسانس برگ بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند (شکل ۸-B)؛ به طوری که میزان اسانس در تیمار قارچی در غلظت‌های اندک شوری با شیب زیاد ($-4/27$) و سپس با افزایش غلظت‌های شوری، با شیب کمتری ($-1/69$) کاهش یافت. براساس یافته‌ها بین عملکرد اسانس و عملکرد ماده خشک برگ رابطه خطی و

برگ در تیمار همزیستی با قارچ بیشتر از تیمار شاهد بود (شکل ۱۰- A، جدول ۵).

محتوای پتاسیم برگ با افزایش غلظت‌های شوری در هر دو تیمار زیستی روند کاهشی داشت. کمترین میزان پتاسیم برگ در سطح شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. با وجود این در گیاهان همزیست‌شده، تقریباً در همه غلظت‌های شوری محتوای پتاسیم برگ نسبت به تیمار بدون تلقیح بیشتر بود (شکل ۱۰- B، جدول ۵).



۱۰، جدول ۵). با افزایش شوری، محتوای فسفر برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۱۰- A). با وجود این، تغییرات محتوای فسفر برگ در پاسخ به تنش شوری در غلظت‌های مختلف تیمار زیستی متفاوت بود. در تیمار همزیست با قارچ، محتوای فسفر برگ از شوری صفر تا سطح ۳ دسی‌زیمنس بر متر روند افزایشی و سپس در ادامه (از ۳ تا ۹ دسی‌زیمنس بر متر) با شیب ۰/۰۲۱- واحد کاهش یافت (شکل ۱۰- A)؛ درحالی‌که در تیمار شاهد، روند تغییرات آن همواره کاهشی بود. با این حال در همه غلظت‌های شوری، محتوای فسفر



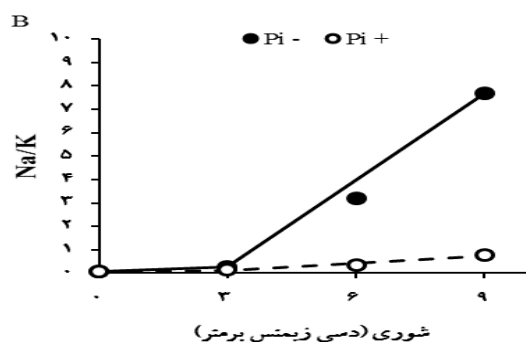
شکل ۱۰- نمودار پاسخ صفات فسفر (A) و پتاسیم برگ (B) گیاه نعناع فلفلی به غلظت‌های مختلف شوری در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با قارچ اندوفیت *P. indica* - مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD، با استفاده از آزمون LSD و تجزیه رگرسیونی (مدل دو تکه‌ای و مدل خطی) است.

جدول ۵- معادله مناسب توصیف‌کننده اثر همزیستی قارچ اندوفیت *P. indica* بر روند تغییرات عناصر برگ در پاسخ به افزایش شوری خاک در برگ گیاه نعناع فلفلی

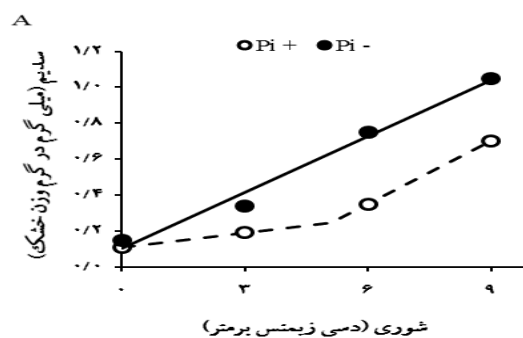
تیمار زیستی	نام صفت	شاهد	تلقیح با قارچ
فسفر		$y = -0.0105x + 0.2815$ $R^2 = 0.91$ $P = 0.02$	$y = 0.0217x + 0.38$ if $x \leq 3$ $y = -0.0217x + 0.4451$ if $x > 3$ $R^2 = 0.86$ $P = 0.03$ $RMSE = 0.024$
		$y = -0.9091x + 7.2$ if $x \leq 6.32$ $y = -0.1971x + 4.4727$ if $x > 6.32$ $R^2 = 0.99$ $p > 0.0004$ $RMSE = 0.023$	$y = -0.1617x + 1.95$ if $x \leq 6.11$ $y = -0.00196x + 0.8941$ if $x > 6.11$ $R^2 = 0.99$ $p < 0.001$ $RMSE = 0.031$
پتاسیم		$y = 0.1037x + 0.106$ $R^2 = 0.98$ $P = 0.002$	$y = 0.0267x + 0.11$ if $x \leq 3$ $y = 0.1167x + 0.2464$ if $x > 3$ $R^2 = 0.99$ $P < 0.0001$ $RMSE = 0.005$
		$y = 0.093x + 0.093$ if $x \leq 3$ $y = 1.2323x + 0.2817$ if $x > 3$ $R^2 = 0.98$ $p > 0.005$ $RMSE = 0.023$	$y = 0.0157x + 0.056$ if $x \leq 3$ $y = 0.1083x + 0.1032$ if $x > 3$ $R^2 = 0.96$ $p < 0.01$ $RMSE = 0.031$
نسبت سدیم به پتاسیم			

برگ و جذب پتاسیم (شکل ۱۲- A) و فسفر (شکل ۱۲- B) برگ رابطه خطی و منفی مشاهده شد. بنابراین با هر واحد سدیم، میزان جذب پتاسیم، ۱/۵ واحد و فسفر، ۰/۱ واحد کاهش یافت.

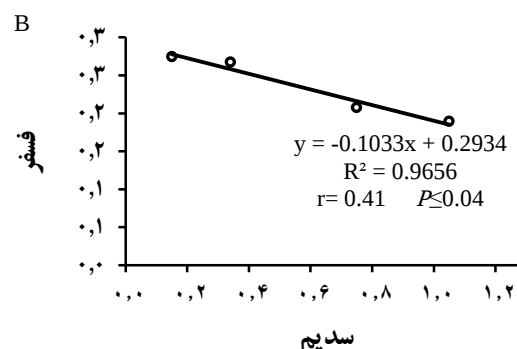
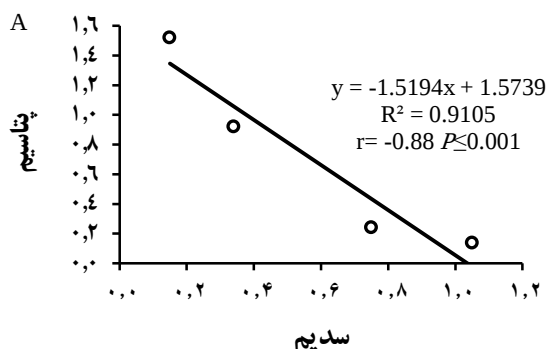
بر اساس یافته‌ها، با افزایش غلظت شوری روند تغییرات نسبت سدیم به پتاسیم در تیمار تلقیح و بدون تلقیح قارچ به صورت دو تکه‌ای بود. نسبت سدیم به پتاسیم در غلظت‌های اندک شوری تغییر چندانی نکرد؛ ولی با ادامه افزایش غلظت شوری محیط به ۹ دسی‌زیمنس بر متر برای تیمار بدون تلقیح و تیمار تلقیح قارچ میزان آن به ترتیب با شیب ۱/۲۳ و ۰/۱ واحد افزایش یافت. در مجموع، گیاهان تلقیح شده با *P. indica* نسبت سدیم به پتاسیم کمتری داشتند (شکل ۱۱- B).



برخلاف فسفر و پتاسیم، روند پاسخ سدیم برگ در هر دو تیمار قارچی نسبت به تغییرات شوری به صورت افزایشی بود. این روند تغییرات در تیمار بدون تلقیح به صورت خطی و در تیمار تلقیح قارچ *P. indica* به صورت معادله دو تکه‌ای بود. با افزایش غلظت‌های شوری، شیب نمودار پاسخ سدیم برگ نیز افزایش یافت و در شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر به بیشترین مقدار خود رسید. با وجود این، گیاهانی که با قارچ، همزیست شده بودند کاهش در خور توجهی در محتوای سدیم برگ داشتند؛ به طوری که میزان اختلاف صفت یاد شده در غلظت شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر در همزیستی قارچی و بدون همزیستی (۳۳/۳ درصد) بسیار در خور توجه بود (شکل ۱۱، جدول ۵). بر اساس یافته‌ها، بین میزان سدیم



شکل ۱۱- نمودار پاسخ محتوای سدیم برگ (A) و نسبت سدیم به پتاسیم (B) گیاه نعنای فلفلی به غلظت‌های مختلف شوری در شرایط تلقیح و بدون تلقیح با قارچ اندوفیت *P. indica* - مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ STD، با استفاده از آزمون LSD و تجزیه رگرسیونی (مدل دو تکه‌ای و مدل خطی) است.



شکل ۱۲- رابطه بین میزان سدیم و پتاسیم (A) و فسفر (B) در برگ نعنای فلفلی

بحث

در پژوهش حاضر، شبکه قارچ به صورت بین سلولی و درون سلولی در اپیدرم سلول های ریشه تشکیل شد. Kost و Rexer (۲۰۱۳) گزارش کردند که کل آمیدوسپورهای گلابی شکل به صورت گروهی و خوشه ای، از هیف های متورم شده در اطراف نخستین اسپور جوانه زده یا در انتهای شاخه کوتاه هیف توسعه می یابند. از سوی دیگر، افزایش شوری افزایش ترکیبات فنولیک برگ نعنای فلفلی را سبب شد و افزودن قارچ میزان این ترکیبات را ۲۵ تا ۳۷ درصد بهبود بخشید. به نظر می رسد در گیاه نعنای فلفلی واکنش دفاعی مناسب نسبت به افزایش شوری، افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی، فلاونوئید و آنتوسیانین باشد. همبستگی مثبت بین انباشتگی فنل کل ($r=0.86^{**}$)، فلاونوئید ($r=0.83^{**}$)، آنتوسیانین ($r=0.81^{**}$) و فعالیت آنتی اکسیدانی گواه این موضوع است. همچنین گیاهانی که ترکیبات فنلی بیشتری داشتند، فعالیت ضد رادیکال های آزاد بیشتری نشان دادند (داده ها نشان داده نشده است). فعالیت آنتی اکسیدانی فنل ها ناشی از فعالیت زیاد هیدروژن یا الکترون دهنده گی آن ها است (Rice- Evance et al., 1997). فلاونوئیدها گروه مهمی از ترکیبات پلی فنولیک هستند که با روش تغییر دادن پراکسیداسیون سینتیک با تغییر دستور تراکم لیپید و کاهش سیالیت غشاء، افزایش فعالیت آنتی اکسیداتیو را موجب می شوند (Arora et al., 2002). علاوه بر این، آنتوسیانین ها گروهی از فلاونوئیدهای محلول در آب هستند که در یک نقطه پایانی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها سنتز می شوند. این ترکیبات در شرایط تنش شوری، از یک سو محلول

سازگار کننده اسمزی هستند (Chaparzade et al., 2011) و از سوی دیگر با خاصیت آنتی اکسیدانی از گیاه در برابر گونه های فعال اکسیژن حفاظت می کنند. در بررسی های انجام شده بر تاثیر شوری بر میزان پلی فنل ها در گیاه رزماری نیز با افزایش غلظت شوری از ۵۰ به ۱۵۰ میلی مولار، محتوای پلی فنل ها بیشتر شد (Kiarostami et al., 2010). همچنین در پژوهشی دیگر بر گیاه دارویی بادرشبو، میزان فلاونوئید، آنتوسیانین و ترکیبات فنلی افزایش یافت و محافظت از گیاه را در تنش خشکی موجب شد (Abbaspoor et al., 2014). انباشتگی ترکیبات فنلی در برگ های ذرت و نخود در شرایط شور نیز بسیار بیشتر از گیاهانی بود که در وضعیت بدون تنش قرار داشتند (Hichem et al., 2009; Jovanka et al., 2013).

نتایج این پژوهش نشان داد که همزیستی قارچی افزایش فنل کل، فلاونوئید و آنتوسیانین را موجب شده است (شکل های ۲ و ۴، جدول ۴). همچنین در این ریز جانداران با افزایش تجمع این ترکیبات، فعالیت آنتی اکسیدانی نیز در غلظت های مختلف شوری، ۱۷ تا ۵۷ درصد افزایش یافت (شکل ۶). به نظر می رسد ترکیبات فنولیک در تعاملات بین گیاهان و قارچ ها بیشتر تولید می شود. در واقع قارچ با ایجاد تغییرات در خور توجه در فعالیت های آنزیمی و ساز و کارهای فیزیولوژیک در گیر، به تجمع پلی فنل ها در گیاهان میزبان منجر می شود (Bagheri et al., 2014). نتایج مشابهی مبنی بر افزایش تجمع آنتوسیانین در کاربرد قارچ میکوریز در گیاه ریحان (Lee, and Scagel, 2009) و نعنای (Ahmadi et al., 2014; Bagheri et al., 2013) (khoei et al., 2013) گزارش شده است. این نتایج

بیان‌کننده بهبود تحمل گیاهان تلقیح‌شده با قارچ نسبت به تنش شوری در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده است.

در آزمایش حاضر، اعمال تنش شوری با کاهش میزان فسفر، پتاسیم، نسبت سدیم به پتاسیم و به دنبال آن افزایش محتوای سدیم برگ همراه بود (شکل‌های ۱۰ و ۱۱). یک رابطه منفی و معنی‌داری بین تجمع سدیم در برگ و کاهش محتوای فسفر و پتاسیم مشاهده شد (شکل ۱۲). در تنش شوری به‌علت جذب زیاد یون‌های سدیم و کلر و اثر آن‌ها بر فرایندهایی مانند سنتز دیواره سلولی، نفوذپذیری سلول‌های غشای ریشه کاهش می‌یابد و در جذب مواد غذایی از جمله پتاسیم اختلال ایجاد می‌شود (Kaya et al., 2001; Munuss, 2002; Hakim et al., 2014). این، شوری با دخالت در عمل ناقل‌ها و کانال‌های یونی در ریشه، مانند کانال‌های انتخابی پتاسیم (رقابت سدیم با پتاسیم) یا با تاثیر سدیم بر ساختار خاک کاهش جذب آب و مواد معدنی را موجب می‌شود. از سوی دیگر، جایگزینی سدیم با کلسیم در فضای آپوپلاستی به دیلاریزاسیون غشا و اختلال در جذب انتخابی برخی از یون‌ها و از بین رفتن تعادل یونی در گیاه منجر می‌شود (Molassiotis et al., 2006; Parida and Das, 2005; Mahajan and Tuteja, 2005). جایگزینی پتاسیم با سدیم می‌تواند آنزیم‌های کلیدی در فتوسنتز و تنفس، حفظ یکپارچگی سیستم فتوسنتزی و سنتز ATP را غیر فعال کند و کاهش رشد یا حتی مرگ سلول یا گیاه را سبب شود (Mahajan and Tuteja, 2005; Wu et al., 2008). همزیستی قارچی، با کاهش تجمع سدیم و آثار منفی ناشی از آن در سلول و تغییر نسبت سدیم به پتاسیم در سیتوپلاسم، بهبود جذب فسفر و پتاسیم و فرآیندهای بیوانرژی‌تیک

را در گیاه موجب شد. قارچ *P. indica* احتمالاً تجمع یون‌های سدیم را در ریشه باعث می‌شود و از ورود آن‌ها به بخش‌های هوایی گیاهان با فعال کردن سازوکارهای فیزیولوژیک یا مولکولی ناشناخته ممانعت می‌کند. این وقایع به کاهش آثار منفی تنش شوری بر گیاه منجر می‌شود (Sepehri et al., 2009). از سویی در گیاه همزیست با قارچ، کاهش محتوای فسفر در شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر ممکن است به‌علت کاهش فعالیت فتوسنتزی و انتقال کربوهیدرات به قارچ باشد که کاهش جذب فسفر از قارچ، تغییر تخصیص فسفر در قسمت‌های مختلف سلول قارچی و کاهش انتقال فسفر به گیاه را موجب شود؛ به‌طوری‌که محتوای فسفر سیتوپلاسمی در هیف، برعکس شبکه هارتینگ افزایش می‌یابد (Bücking and Heyser, 2003).

افزایش تنش شوری میزان هدایت روزنه‌ای و سرعت تعرق برگ را کاهش داد (شکل ۷). به نظر می‌رسد کاهش پتانسیل آب ناشی از افزایش فشار اسمزی محلول اطراف ریشه، کاهش جذب آب از ریشه و القای پاسخ‌های روزنه‌ای را موجب می‌شود. این نشان می‌دهد که گیاه با افزایش میزان شوری، برای کاهش آثار تنش شوری و حفظ تعادل آب برگ، به بستن روزنه‌ها و کاهش خروج آب از گیاه به‌صورت تعرق اقدام می‌کند. کاهش هدایت روزنه‌ای در شرایط شور در گیاهان دیگر مانند آفتابگردان (Shahbaz et al., 2011) و کلزا (Qasim et al., 2003) نیز گزارش شده است. از سویی میزان هدایت روزنه‌ای و تعرق در گیاهان همزیست با قارچ شبه‌میکوریز بهبود یافت که علت آن ممکن است توانایی این قارچ در افزایش جذب پتاسیم باشد. همچنین رابطه خطی مثبت

و زیادی ($R^2 = 0.99^{**}$, $P < 0.01$) بین هدایت روزنه‌ای و محتوای پتاسیم مشاهده شد؛ به‌طوری‌که به ازای هر یک واحد افزایش میزان پتاسیم برگ، هدایت روزنه‌ای برگ، $9/69$ واحد افزایش یافت (داده‌ها نشان داده نشده است).

به‌علاوه، جذب بیشتر آب با گسترش سیستم ریشه‌ای توسط شبکه قارچی ممکن است بهبود هدایت روزنه‌ای و تعرق را در گیاهان همزیست با قارچ باعث شود. همچنین تغییراتی را در سرعت حرکت آب به داخل، سراسر یا خارج گیاه میزبان ایجاد می‌کند و با تأثیر بر آب‌گیری بافت و فعالیت‌های فیزیولوژیک برگ (Amerian and Stewart, 2001)، تغییر را در مقاومت روزنه‌ای برگ موجب می‌شود.

به‌علت نقش مثبت پتاسیم در حفظ تورژسانس، متابولیسم سلولی و فعالیت‌های آنزیمی، ممکن است همبستگی مثبت زیادی بین محتوای پتاسیم و وزن خشک برگ گیاه باشد (Wang et al., 2014). از سویی در شوری زیاد، سدیم بازدارنده جذب پتاسیم از ریشه است. تجمع زیاد سدیم در آپوپلاست ممکن است از ورود پتاسیم ممانعت کند و به‌طور غیرمستقیم از بارگیری آوندهای آبکش جلوگیری کند (Chen et al., 2005). علاوه بر این، با جایگزینی سدیم به جای پتاسیم و افزایش نسبت سدیم به پتاسیم، متابولیسم سلولی و فرایندهای دخیل در تولید انرژی مانند فتوسنتز و تنفس مختل می‌شود (Blumwald, 2000)؛ در نتیجه، وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد. یکی از دلایل بهبود وزن خشک گیاه را در کاربرد قارچ همزیست ممکن است با نقش آن در افزایش جذب عناصر غذایی از جمله فسفر و پتاسیم مرتبط باشد. Chandel و Garg

(۲۰۱۱) گزارش کردند که سازوکار حفاظتی قارچ *Glomus mosseae* در گیاه نخود، با تنظیم جذب مواد غذایی و ممانعت از تجمع سدیم در برگ، بهبود رشد گیاه و جذب عناصر K^+ ، N ، P و Ca^{2+} را در هر دو شرایط نرمال و تنش موجب شود. همچنین کاهش عملکرد ماده خشک در شوری زیاد ممکن است به‌علت هدایت روزنه‌ای کمتر و محدودیت در جذب کربن از برگ‌ها یا جذب کمتر آب در ریشه باشد (Cornic and Massacci, 1996) که با کاهش عملکرد اسانس نیز همراه است. Gharib و همکاران (۲۰۱۴) علت کاهش اسانس گیاه رزماری را در تنش شوری، به‌طور مستقیم تجمع سدیم و به‌هم‌خوردن تعادل عناصر غذایی مانند فسفر و پتاسیم یا سوخت و ساز عناصر ضروری و در نتیجه، کاهش هورمون‌های رشد و افزایش هورمون‌های بازدارنده رشد در سلول‌های گیاهی و به‌دنبال آن، کاهش رشد، شاخه‌زنی و وزن خشک گیاه دانستند.

نتایج ارائه‌شده در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تیمار قارچی در شرایط بهینه رشد و در شدت‌های متفاوت تنش شوری بهبود وزن خشک برگ و عملکرد اسانس را باعث شد (شکل ۸، جدول ۴). برپایه نتایج حاصل از بررسی آزمون همبستگی، رابطه مثبت و معنی‌داری ($I = 0.61^{**}$) بین میزان اسانس و محتوای فسفر مشاهده شد (داده‌ها نشان داده نشده است). بنابراین چنین نتیجه‌گیری می‌شود که همزیستی با قارچ شبه‌میکوریز در شرایط مختلف تنش شوری می‌تواند افزایش میزان اسانس را باعث شود. به نظر می‌رسد علت چنین افزایشی، بهبود انسجام و ثبات غشای پلاسمایی سلول‌های ریشه آلوده‌شده با قارچ به علت جذب بیشتر فسفر باشد؛ به‌طوری‌که تعدادی از ریشه‌های قارچ

و در نتیجه، افزایش ییوستنر آرتمیسنین منجر شد (Kapoor et al., 2007).

جمع‌بندی

کاربرد قارچ *P. indica* علاوه بر تحریک گیاه به افزایش سنتز ترکیبات فنولیک و افزایش جذب فسفر و پتاسیم با هیف‌های قارچی، تخفیف آثار تنش شوری را در گیاه دارویی نعنای فلفلی موجب شد. به نظر می‌رسد کاربرد این قارچ بتواند با القای مقاومت به شوری، ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی نعنای فلفلی را به‌طور چشمگیری در شرایط آبیاری با آب دریا بهبود بخشد.

سپاسگزاری

در اینجا از همکاری پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان در انجام این پروژه سپاسگزاری می‌شود.

خارج از سیستم ریشه، اسیدهای آلی حل‌کننده فسفر مانند مالیک اسید را ترشح می‌کنند و افزایش جذب فسفر را از ریشه گیاه موجب می‌شوند (Khalvati et al., 2005). با توجه به اینکه اسانس‌ها ترکیباتی ترپنوییدی هستند و واحدهای سازنده آن‌ها (ایزوپروپنویده) به NADPH و ATP نیاز مبرم دارند، جذب عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های ترپنوییدی، ضروری است (Loomis, and Corteau, 1972). از سویی افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان همزیست با ریزجاندارن، واکنشی دفاعی و ضد میکروبی شناخته شده است (Sangwan et al., 2001) که نشان‌دهنده تحریک تولید آن‌ها با قارچ شبه میکوریز است. گزارش شده است که همزیستی قارچی به افزایش شکل‌گیری کرک‌های غده‌ای سپروار (مرکز ییوستنر اسانس) در گیاهانی مانند آرتمیسیا نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی (Zolfaghari et al., 2013)

منابع

- 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. Journal of Plant Research 27(5): 893-903 (in Persian).
- Abe, N., Murata, T. and Hirota, A. (1998) Novel 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 62: 661-662.
- Ahmadi khoei, M., Shabani, L. and Bagheri, S. (2013) Assay of phenolic compounds and essential oils in mycorrhizal mint genotypes. Iranian Journal of Plant Biology 5(18): 81-94 (in Persian).
- Alaei, Sh., Khosh-Khui, M., Kobraee, S. and Zaji, B. (2014) Effect of different salinity levels on essential oil content and composition of *Dracocephalum moldavica*. Agricultural Communications 2(2): 42-46.
- Amerian, M. R. and Stewart, W. S. (2001) Effect of two species of arbuscular mycorrhizal fungi on growth assimilation and leaf water relations in maize (*Zea mays*). Journal of Aspects of Applied Biology 63: 1-6.
- Arora, A., Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2002) Oxidative stress and antioxidative system in plants. International Journal of Current Science 82(10): 1227-1235.

- Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman, S. and Rha, E. S. (2004) Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). *Photosynthetica* 42: 543-550.
- Aziz Eman, E., Al-Amier, H. and Craker Lyle, E. (2008) Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 14(1): 77-87.
- 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. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences* 4(4): 339-348.
- Bakhshandeh, E., Soltani, A., Zeinali, E. and Kallate-Arabi, M. (2012) Prediction of plant height by allometric relationships in field-grown wheat. *Cereal Research Communications* 40: 487-496.
- Blumwald, E. (2000) Sodium transport and salt tolerance in plants. *Current Opinion in Cell Biology* 12: 431-434.
- Chaparzadh, N. and Zarandi Miandoab, L. (2011) Rngdan content and effect of salinity on growth of two cultivars of rapeseed (*Brassica napus*). *Plant Biology* 9: 13-26 (in Persian).
- Bücking, H. and Heyser, W. (2003) Uptake and transfer of nutrients in ectomycorrhizal association's interactions between photosynthesis and phosphate nutrition. *Mycorrhiza* 13: 59-68.
- Chen, Z., Newman, I., Zhuo, M., Mendham, N., Zhang, G. and Shabala, S. (2005) Screening plants for salt tolerance by measuring K^+ flux: a case study for barely. *Plant, Cell and Environment* 28: 1230-1246.
- Cornic, C. and Massacci, A. (1996) Leaf photosynthesis under drought stress. In: *Photosynthesis and Environment* (Ed. Baker, N. R.) 347-366. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Garg, N. and Chandel, Sh. (2011) Effect of mycorrhizal inoculation on growth, nitrogen fixation and nutrient uptake in *Cicer arietinum* (L.) under salt stress. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 35: 205-214.
- Gharib, F. A. L., Mohamed Zeid, I., Abdel-Hameed Salem, O. M. and Zakaria Ahmed, E. (2014) Effects of sargassum latifolium extract on growth, oil content and enzymatic activities of rosemary plants under salinity stress. *Life Science Journal* 11(10): 933-945.
- Hajibagheri, S. and Enteshari, S. h. (2011) Effects of mycorrhizal fungi on some physiological characteristics of salt stressed *Ocimum basilicum* L. *Journal of Plant Physiology* 1: 215-222.
- Hakim, M. A., Juraimi, A. S., Hanafi, M. M., Ismail, M. R., Rafii, M. Y., Islam, M. M. and Selamat, A. (2014) The effect of salinity on growth, ion accumulation and yield of rice varieties. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 24(3): 874-885.
- 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. *Journal of Industrial Crops and Products* 30: 144-151.
- Jackson, M. L. (1958) Soil chemical analysis. Prentice Hall, New Delhi.
- Jovanka, M. D., Nemanja, S. Svetlana, R. Živko, 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. *Australian Journal of Crop Science* 7(13): 2145-2153.
- Kapoor, R., Chaudhary, V. and Bhatnagar, A. K. (2007) Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annul*. *Mycorrhiza* 17: 581-587.

- Kari Dolatabadi, H., Mohammadi Goltapeh, E., Moieni, A. and Varma, A. (2010) Evaluation of different densities of auxin and endophytic fungi (*Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera*) on *Mentha piperita* and *Thymus vulgaris* growth. *African Journal of Biotechnology* 11(7): 1644-1650.
- 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. *Journal of Scientia Horticulturae* 121: 1-6.
- Khalvati, M. A., Mozafar, A. and Schmidhalter, V. (2005) Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology Stuttgart* 6: 706-712.
- Kiarostami, K. h., Mohseni, R. and Saboori, A. (2010) Biochemical changes of *Rosmarinus officinalis* under salt stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 6(3): 114-122.
- Kost, G. and Rexer, K. H. (2013) Morphology and ultrastructure of *Piriformospora indica*. *Soil Biology* 33: 25-26.
- Krizek, D. T., Kramer, G. F., Upadhyaya, A. and Mirecki, R. M. (1993) UV-B response of cucumber seedling grown under metal halid and high pressure sodium/deluxe lamps. *Journal of Plant Physiology* 88: 350-358.
- Lee, J. and Scagel, C. F. (2009) Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Journal of Food Chemistry* 115: 650-656
- Loomis, W. D. and Corteau, R. (1972) Essential oil biosynthesis. *Recent Advances in Phytochemistry* 6: 147-185.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archive of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.
- Meyers, K. J., Watkins, C. B., Pritts, M. P. and Hai-Liu, R. (2003) Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6887-6892.
- Molassiotis, A. N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, I. (2006) Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum* 50(1): 61-68.
- Mousavi Nodoshan, S., Owlia, P., Moein Najafabadi, L., Rasooli, I., Sadari, H. and Salari, M. H. (2010) Effect of sub inhibitory concentrations of essential oils of *Mentha spicata* and *Cuminum Cyminum* on virulence factors of *pseudomonas aeroginusa*. *Journal of Medicinal Plants* 9: 124-130.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25: 239-250.
- Omid Beighi, R. (2001) Approaches to the production and processing of medicinal plants. *Thought of the day Publications, Mashhad* (in Persian).
- Parida, S. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Qasim, M., Ashraf, M., Jamil, M. A., Ashraf, M. Y., Rehman, S. U. and Rha, E. S. (2003) Water relations and leaf gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus* L.) lines under salt stress. *Annual Application of Biology* 142: 307-316.
- Rafiqi, M., Jelonek, L., Akum, N. F., Zhang, F. and Kogel, K. (2013) Effector candidates in the secretome of *Piriformospora indica*, a ubiquitous plant-associated fungus. *Plant Science* 228(4): 1-5.

- Rahimi, R., Mohammakhani, A., Roohi, V. and Armand, N. (2012) Effects of salt stress and silicon nutrition on chlorophyll content, yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 21(4): 1591-1595.
- Razmjoo, K., Heydarizadeh, P. and Sabzalain, M. R. (2008) Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomila*. International Journal of Agriculture and Biology 10: 451-454.
- Rice- Evance, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2: 152- 159.
- Roodbari, N., Roodbari, S., Ganjali, A. and Ansarifar, M. (2013) The effect of salinity stress on growth parameters and essential oil percentage of peppermint (*Mentha piperita* L.). International Journal of Basic and Applied Science 1: 294-299.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F. and Sangwan, R. S. (2001) Regulation of essential oil production in plants. Journal of Plant Growth Regulation 34: 3-21.
- Sepehri, 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. Journal of Rangeland 3: 508-518 (in Persian).
- Shahbaz, M., Ashraf, M., Akram, N. A., Hanif, A., Hameed, S., Joham, S. and Rehman, R. (2011) Salt-induced modulation in growth, photosynthetic capacity, proline content and ion accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Journal of Acta Physiologiae Plantarum 33: 1113-1122.
- Tarraf, W., Ruta, C., Cillis, F. D., Tagarelli, A., Tedone, L. and Mastro, G. D. (2015) Effects of mycorrhiza on growth and essential oil production in selected aromatic plants. Italian Journal of Agronomy 10 (3): 160-162.
- Varma, A., Verma, S., Sudha Sahay, N., Bu'tehorn, B. and Franken, P. (1999) *Piriformospora indica*, a cultivable plant growth promoting root endophyte. Applied and Environmental Microbiology 65(6): 2741-2744.
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U. and Piche, Y. (1998) Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Journal of Applied and Environmental Microbiology 12: 5004-5007.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., ckelhoven, R., Neumann, Ch., Wettstein, D., Philipp Franken, P. and Kogel, K. (2005) The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt stress tolerance, disease resistance and higher yield. Proceedings of the National Academy of Sciences 102(38): 13386-13391.
- Wang, X., Mohamed, I., Xia, Y. and Chen, F. (2014) Effects of water and potassium stresses on potassium utilization efficiency of two cotton genotypes. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 14(4): 833-844.
- Wu, Y., Hu, Y. and Xu, G. (2008) Interactive effects of potassium and sodium on root growth and expression of K/Na transporter genes in rice. Plant Growth Regulation 57(3): 271-280.
- Yaghoubian, Y., Mohammadi Goltapeh, E., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Kari Dolatabadi, H., Varma, A. and Haryani Hassim, M. (2014) Effect of *Glomus mosseae* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought Stress. Journal of Agricultural Research 3: 239-245.
- Zolfaghari, M., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Rejali, F. (2013) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. Iranian Journal of Plant Physiology 3(2): 643-650.