

## تأثیر همزیستی قارچ میکوریزا آربسکولار با پایه‌های مختلف پسته در شرایط تنش شوری

مسعود فتاحی<sup>۱</sup>، عبدالرحمان محمدخانی<sup>۱\*</sup>، بهروز شیران<sup>۲</sup>، بهرام بانی‌نسب<sup>۳</sup> و رودابه راوش<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، <sup>۲</sup> گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، <sup>۳</sup> گروه علوم

باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳)

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر همزیستی میکوریزا بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی چهار پایه مختلف پسته در شرایط تنش شوری طراحی شد. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه فاکتور اجرا گردید. فاکتورها شامل پایه در چهار سطح (بادامی ریز زرد، قزوینی، سرخس و UCBI)، میکوریزا در دو سطح (گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده) و شوری آب آبیاری در چهار سطح (۰/۹۱، ۷/۵۷، ۱۶/۱۲ و ۲۴/۶۳ دسی‌زیمنس بر متر) بود. نمونه برداری از گیاهان شش ماهه که به مدت ۶۰ روز در شرایط تنش شوری بودند انجام شد. سپس شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی مانند تعداد برگ، ارتفاع، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، کارایی مصرف آب (WUE)، کلروفیل و کارتوئید، هیدروژن پراکسید (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)، مالون دی‌آلدئید (MAD)، ساکارز و پروتئین محلول کل اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد در اثر تنش تعداد برگ در همه پایه‌ها و ارتفاع در همه پایه‌ها بجز پایه سرخس کاهش و درصد ریزش برگ افزایش یافت. شاخص‌های RWC، WUE، کلروفیل *a* و *b* و کل و پروتئین برگ و ریشه در گیاهان همزیست با میکوریزا نسبت به گیاهان غیرهمزیست با میکوریزا بیشتر بود. همچنین غلظت H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> برگ و MAD ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده با میکوریزا کمتر بود. کمترین محتوای کلروفیل *a* و *b* و کل، RWC و WUE و بیشترین میزان H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> برگ و ریشه و MAD برگ در پایه سرخس وجود داشت. تفاوت معنی‌داری بین پایه‌های بادامی ریز زرد و UCBI از نظر کلروفیل کل، H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> برگ و ریشه و MAD برگ وجود نداشت. تنش شوری باعث کاهش کلروفیل کل، RWC و پروتئین برگ و ریشه و افزایش H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>، MAD و ساکارز برگ و ریشه گردید. به‌طور کلی در پژوهش حاضر میکوریزا باعث بهبود تحمل پایه‌ها در برابر تنش شوری گردید. پایه سرخس نسبت به پایه‌های دیگر به شوری حساس‌تر بود و پایه‌های بادامی ریز زرد و UCBI واکنش تقریباً یکسانی در برابر تنش داشتند.

کلمات کلیدی: پایه، پسته، هیدروژن پراکسید، شوری، مالون دی‌آلدئید

### مقدمه

(Bagheri et al., 2011). عملکرد پسته در استان‌های مختلف کشور متفاوت است، به‌طوری که استان کرمان با تولید ۴۷۹ کیلوگرم کمترین و استان خراسان جنوبی با تولید ۱۴۲۱ کیلوگرم در هکتار بالاترین عملکرد را دارند (آمارنامه

پسته اهلی (*Pistacia vera* L.) گیاهی نیمه‌گرمسیری از تیره پسته‌سانان (Anacardiaceae) است. ایران مهم‌ترین تولیدکننده پسته و یکی از مرکزهای تنوع گونه‌های پسته در دنیا است

استفاده از همزیستی قارچ‌های میکوریزا، یک استراتژی مؤثر در کاهش زیان‌های شوری است (Rosendahl and Rosendahl, 1991). میکوریزا می‌تواند با افزایش ظرفیت جذب از طریق برقراری تعادل اسمزی مناسب، سبب حفظ روند فتوسنتز در گیاهان گردد که نتیجه آن افزایش رشد گیاه، رقیق‌شدن املاح و کاهش سمیت یون‌های نمک است (Rosendahl and Rosendahl, 1991; Al-karaki and Clark, 2003; Ruiz-lozano, 1998). قارچ میکوریزا آربسکولار به‌طور گسترده‌ای در خاک‌های شور وجود دارد و به تازگی محققان گزارش کرده‌اند که قارچ میکوریزا می‌تواند باعث افزایش توانایی گیاه برای مقابله با تنش شوری گردد که ناشی از بهبود جذب عناصر غذایی گیاه، برقراری تعادل یونی، حفاظت از آنزیم‌ها و تسهیل جذب آب است (Sannazzaro et al., 2007). سایر مکانیسم‌های حفاظتی میکوریزا آربسکولار ممکن است شامل تنظیم فشار اسمزی و حفظ فشار تورژانس برگ، حفظ هدایت روزنه‌ای و در نتیجه ادامه فتوسنتز و تعرق در گیاه و همچنین افزایش کارایی استفاده از آب در گیاهان میزبان باشد (Ashraf and Foolad, 2007). قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری می‌شوند به طوری که در برخی موارد قارچ را به‌عنوان یک اصلاح‌کننده خاک‌های شور در نظر می‌گیرند (Parvaiz and Satyawati, 2008). مطالعات متعددی نشان داده‌اند تلقیح با میکوریزا باعث بهبود رشد گیاه در شرایط شوری می‌شود (Kumar et al., 2010; Abbasi et al., 2011; Manchanda and Garg, 2011). رشد در اثر گیاهان میکوریز به‌علت جذب بهتر مواد معدنی به‌ویژه فسفر و نیتروژن است (Kumar et al., 2015). فتاحی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی تأثیر همزیستی میکوریزا با گیاه پسته (*P. vera*) در شرایط تنش شوری نشان دادند شوری باعث کاهش تعداد برگ، سطح برگ و میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با میکوریزا شد اما میزان کاهش این شاخص‌ها در گیاهان تلقیح‌نشده بیشتر بود. در پژوهشی، اثر قارچ‌های میکوریزا آربسکولار (*Glomus mosseae* و *G. versiform*) بر مقاومت به شوری دانه‌های نارنج سه برگ

کشاورزی، ۱۳۹۵). از علل عملکرد پایین پسته در ایران وجود تنش‌های محیطی متعدد از جمله شوری در نقاط پسته خیز و عدم‌آشنایی باغداران با چگونگی کنترل تنش‌ها است (خضری، ۱۳۸۹). با توجه به کاهش کیفیت آب‌های آبیاری و شورشدن تدریجی خاک در زمین‌های زیر کشت پسته، در حال حاضر اثرهای مخرب شوری در مناطق پسته‌کاری یکی از بزرگ‌ترین مشکل‌های تولید پسته در این مناطق است.

شوری خاک یکی از چالش‌های جدی و رو به افزایش در بسیاری از قسمت‌های جهان به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک است (فتاحی و همکاران، ۱۳۹۴)، که از مهم‌ترین پیامدهای آن، کاهش محصولات کشاورزی است. تحمل گیاهان در مقابل شوری بین گونه‌های مختلف و حتی بین ارقام و پایه‌های مختلف، متغیر است. اثرات زیان‌آور شوری در گیاهان بیشتر به‌صورت کاهش رشد و مرگ آنها نمایان می‌شود. (فتاحی و همکاران، ۱۳۹۳). به‌خوبی معلوم شده تنش شوری باعث تنش اکسیداتیو در گیاهان در سطح درون سلولی می‌شود. تنش شوری باعث تجمع رادیکال  $H_2O_2$  در اندامک‌های سلول از جمله کلروپلاست، میتوکندری و فضای آپوپلاست شده و منجر به پراکسیداسیون و اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها می‌گردد (Motos et al., 2017). پراکسیداسیون لیپیدی غشا، یک فرآیند متابولیکی طبیعی تحت شرایط عادی بوده و یکی از مهم‌ترین پیامدهای عمل گونه‌های فعال اکسیژن روی ساختار و عمل غشا است. اسیدهای چرب غیراشباع از مهم‌ترین ترکیبات لیپیدی غشا هستند که در برابر پراکسیداسیون بسیار آسیب‌پذیر هستند. تخمین مقدار MAD که محصول ثانویه و نهایی اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع است عمدتاً برای اندازه‌گیری مقدار پراکسیداسیون لیپید به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو استفاده می‌شود (Blokhina et al., 2003). به‌طور کلی تنش شوری فرایندهای عمده‌ای مانند رشد، فتوسنتز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که اثرات مخرب آنها به‌وسیله قارچ‌های میکوریزا قابل تعدیل است (فتاحی و همکاران، ۱۳۹۳؛ فتاحی و محمدخانی، ۱۳۹۷).

(*et al.*, 2015). در بررسی تأثیر احتمالی قارچ میکوریزا بر گیاه ارزن (*Panicum turgidum*) در شرایط تنش شوری نتایج نشان داد در اثر تنش میزان MAD و  $H_2O_2$  افزایش یافت در حالی که همزیستی میکوریزا باعث کاهش آنها در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده گردید. میکوریزا با افزایش مواد معدنی مانند فسفر، پتاسیم و کلسیم اثرات منفی تنش شوری را کاهش می‌دهد و سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز می‌شود (Hashem *et al.*, 2015). در پژوهشی تأثیر همزیستی میکوریزا و تنش شوری بر گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن نشان داد در اثر تنش شوری MAD و  $H_2O_2$  و WUE افزایش و غلظت پروتئین محلول کل در برگ و ریشه کاهش یافت. همچنین همزیستی میکوریزا سبب کاهش غلظت MAD و  $H_2O_2$  و افزایش غلظت پروتئین نسبت به گیاهان غیرهمزیست شد (Hajiboland *et al.*, 2010).

از آنجا که پسته یک محصول مهم و اقتصادی است و از طرفی کشت و کار آن بیشتر در مناطق خشک مواجه با شوری است، باید به دنبال راهکار اساسی برای پرورش آن با کمترین اثرات تخریبی در خاک بود (Zrig *et al.*, 2016). با توجه به شرایط موجود گزینش پایه مناسب در بین پایه‌های رایج پسته و استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاک مانند میکوریزا می‌تواند راه مناسبی برای افزایش کارایی گیاه در شرایط تنش در جهت بهبود عملکرد گیاه باشد. در مطالعات قبلی میزان تحمل برخی پایه‌ها از جمله بادامی ریز، قزوینی و سرخس نسبت به تنش شوری بررسی شده اما در این آزمایش از پایه UCB1 که بیشترین کاربرد را در آمریکا دارد استفاده شد تا با پایه‌های داخلی مورد مقایسه قرار گیرد. از طرفی از همزیستی میکوریزا جهت بررسی تأثیر آن بر کاهش اثرات مخرب تنش شوری استفاده شد.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه و آزمایشگاه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۹۶-۱۳۹۵ به اجرا در آمد.

(*Poncirus trifoliata*) بررسی گردید و شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک مثل تعداد برگ و ارتفاع و محتوای رنگدانه‌های گیاهی در گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان بدون میکوریزا افزایش یافت (Wu *et al.*, 2010). همچنین با بررسی اثر میکوریزا آربسکولار (*G. fasciculatum*) بر مقاومت به شوری نهال‌های انگور (*Vitis vinifera*) مشخص شد که میزان کلروفیل *a*، *b* و کل در گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان بدون میکوریزا، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. با افزایش میزان شوری از غلظت کلروفیل در نهال‌های میکوریزایی و غیرمیکوریزایی کاسته شد که این کاهش در نهال‌های تلقیح نشده با میکوریزا بیشتر بود (Derbew *et al.*, 2007). در بررسی اثرات همزیستی میکوریزا (*Glomus mosseae*) بر مقاومت به شوری گیاهان گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)، مشخص گردید که با افزایش شوری MAD در برگ و ریشه همه گیاهان تجمع یافت. همزیستی میکوریزا به‌طور معنی‌داری تجمع MAD را نسبت به گیاهان بدون میکوریزا کاهش داد و در سطوح شوری یکسان میزان رادیکال‌های آزاد ( $H_2O_2$ ) در گیاهان بدون میکوریزا بیشتر از گیاهان همزیست با میکوریزا بود (Duc *et al.*, 2018). میزان کمتر MAD در گیاهان میکوریزایی، فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در این گیاهان مشخص می‌کند (Chang *et al.*, 2018). در پژوهشی اثر قارچ میکوریزا آربسکولار بر رشد، رنگدانه‌های گیاهی و پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه جاتروفا (*Jatropha curcas* L.) در سطوح مختلف تنش شوری بررسی شد. نتایج آن نشان داد افزایش سطوح شوری باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد، RWC، میزان کلروفیل و افزایش نشت الکترولیت‌ها گردید. استفاده از میکوریزا در این آزمایش باعث بهبود عملکرد زیست‌توده و شاخص‌های فیزیولوژیکی (RWC، کلروفیل، قند محلول) شد. علاوه بر این همزیستی میکوریزا باعث کاهش غلظت MAD نسبت به گیاهان غیرهمزیست شد. کاهش در میزان MAD در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نسبت داده شده است (Kumar

گلیسیرین + ۶۳ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شدند. سپس ۱۰۰ نمونه ریشه ۱ سانتی متری تهیه و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰× مشاهده شدند و درصد همزیستی از رابطه ۱ محاسبه شد.

(رابطه ۱)

$$۱۰۰ \times \frac{\text{شمار ریشه همزیست}}{\text{شمار ریشه مشاهده شده}} = \text{درصد همزیستی ریشه}$$

بذرهای مورد نیاز پایه‌ها از مؤسسه تحقیقات پسته رفسنجان تهیه شد و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جهت جوانه‌زنی قرار گرفتند. پس از جوانه‌زدن، بذور در گلدان‌های ۵ لیتری کاشته شدند. همزمان با کشت بذور پسته، مایه‌کوبی در تیمارهای تلقیح‌شده با میکوریزا با اضافه‌کردن ۱۰۰ گرم مایه قارچ در عمق ۲ سانتی متری خاک به صورت نواری انجام شد و در تیمار تلقیح‌نشده مایه قارچ به گلدان‌ها اضافه نشد. دانه‌های پسته به مدت ۴ ماه در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد با دمای  $28 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد، میانگین رطوبت نسبی ۲۸/۷ درصد، شدت نور میانه روز  $10 \pm 42$  کیلولوکس و آبیاری سه روز یکبار رشد کردند. بعد از این مدت همزیستی پایه‌ها با قارچ میکوریزا جهت اطمینان از همزیستی بین قارچ و گیاهان، اندازه‌گیری گردید. پس از اطمینان از همزیستی پایه‌ها با قارچ، تیمار شوری در چهار سطح براساس هدایت الکتریکی آب آبیاری (۰/۹۱، ۷/۵۷، ۱۶/۱۲ و ۲۴/۶۳ دسی‌زیمنس بر متر) و با استفاده از نمک سدیم کلرید به مدت ۶۰ روز اعمال گردید. تنش شوری به صورت تدریجی اعمال شد به طوری که ابتدا با سطح اول شوری ۷/۵۷ دسی‌زیمنس بر متر آبیاری صورت گرفت و به تدریج به سطح ۱۶/۱۲ و ۲۴/۶۳ دسی‌زیمنس بر متر رسید. در اولین آبیاری بعد از شروع تنش شوری از محلول نمک ۷/۵۷ دسی‌زیمنس بر متر، در آبیاری دوم از ۷/۵۷ و ۱۶/۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و در آبیاری سوم از ۷/۵۷، ۱۶/۱۲ و ۲۴/۶۳ دسی‌زیمنس بر متر استفاده شد. جهت جلوگیری از تجمع نمک، گلدان‌ها تا ۳۰ درصد بیشتر از ظرفیت زراعی آبیاری شدند.

به منظور بررسی تأثیر همزیستی میکوریزا بر تحمل به شوری چهار پایه پسته بادامی ریز زرنده، قزوینی، سرخس و UCBI آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل یک گلدان (هر گلدان محتوی دو گیاه پسته) بود. از نمک سدیم کلرید به منظور اعمال تنش شوری در چهار سطح ۰/۹۱ (شاهد)، ۷/۵۷ (تنش خفیف)، ۱۶/۱۲ (تنش متوسط) و ۲۴/۶۳ دسی‌زیمنس بر متر (تنش شدید) استفاده شد. تیمار میکوریزا شامل گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با میکوریزا بود.

خاک مورد استفاده در این آزمایش مخلوطی از دو سوم خاک مزرعه و یک سوم ماسه بود (هدایت الکتریکی ۰/۹ دسی‌زیمنس بر متر، pH ۷/۵۴) که قبل از استفاده به منظور حذف تمام عوامل پاتوژن و در صورت وجود حذف گونه‌های دیگر قارچ به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر اتوکلاو شد. در این آزمایش از گونه قارچ *Funneliformis mosseae* تهیه‌شده از شرکت زیست فناوران توران (دارای ۸۰ عدد اسپور در گرم خاک خشک) استفاده شد. قارچ مورد نظر به مدت چهار ماه در گلخانه دانشگاه شهرکرد روی گیاه ذرت به عنوان گیاه تله جهت تولید مایه قارچ (اینوکولوم) پرورش یافت. پس از اطمینان از همزیستی مناسب قارچ با گیاه ذرت (همزیستی ۹۰ درصد) از مخلوط ریشه گیاه ذرت و خاک گلدان به عنوان مایه قارچ برای مراحل بعدی آزمایش استفاده گردید. برای ارزیابی میزان همزیستی میکوریزا، نمونه‌های ریشه جدا و به قطعه‌های یک سانتی متری تقسیم و رنگ‌آمیزی به روش Schenck و Perez (۱۹۹۰) انجام شد. ریشه‌ها پس از شستشو در آغاز در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۵ درصد، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر اتوکلاو شدند، سپس ۲۰ دقیقه در محلول هیدروژن پراکسید قرار داده شده و پس از شستشو، چهار دقیقه در محلول کلریدریک اسید ۱ درصد قرار داده شدند. برای رنگ‌آمیزی، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در معرف تریپان بلو قرار گرفتند. در پایان به منظور از بین رفتن رنگ اضافی نمونه‌ها در محلول حاوی ۵۷۵ میلی لیتر لاکتیک اسید + ۶۳ میلی لیتر

$$\text{ChT} = \text{chl}b + \text{Chla}$$

$$\text{Car} = [1000 (A_{470}) - 1.8 (\text{chla}) - 85.02 (\text{chl}b)] / 198$$

در فرمول‌های بالا A میزان جذب نور، V حجم نهایی محلول و W وزن تر نمونه مورد استفاده هستند.

سنجش هیدروژن پراکسید با استفاده از روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. ۰/۲۵ گرم بافت تازه برگ و ریشه روی یخ با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده و در دمای ۴ درجه به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=۷) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه شد. در ادامه به مدت یک ساعت در تاریکی قرار گرفت و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار هیدروژن پراکسید در هر نمونه، با استفاده از ضریب خاموشی  $0.28 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$  و رابطه ۵ محاسبه و بر حسب میکرومول در گرم وزن تر گزارش شد.

$$A = \ell bc \quad (\text{رابطه ۵})$$

در رابطه فوق A میزان جذب خوانده‌شده،  $\ell$  ضریب خاموشی، b عرض کوت و c غلظت بر حسب مولار است.

جهت اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید، ۰/۲۵ گرم بافت تازه برگ و ریشه به صورت جداگانه در ۵ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرو استیک اسید) ۰/۱ درصد داخل هاون چینی ساییده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید بعد از آن ۱ میلی‌لیتر از عصاره رویی با ۴ میلی‌لیتر از TCA ۲۰ درصد که حاوی تیوباربتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد بود، مخلوط گردید. سپس نمونه مورد نظر به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بلافاصله سرد شد. اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۵۰، ۵۳۲، ۶۰۰ نانومتر صورت گرفت و مقدار مالون دی‌آلدهید با استفاده از رابطه ۴ بر حسب میکرومول در گرم وزن تر محاسبه گردید (Zhao et al., 1993).

$$\text{MDA} (\text{umol g}^{-1} \text{FW}) = 6.45 (A_{532} - A_{600}) - 0.56 A_{450}$$

جهت استخراج ساکارز، ۰/۵ گرم از بافت برگ و ریشه با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی کوبیده شد و به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. ۰/۲ میلی‌لیتر

در پایان آزمایش (۶۰ روز پس از اعمال تنش شوری) تعداد برگ شمارش شد، ارتفاع با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. درصد ریزش برگ با شمارش تعداد برگ ریزش‌کرده تا پایان آزمایش محاسبه شد. برای محاسبه کارایی استفاده از آب، مجموع میزان آب مصرفی برای هر گلدان در مدت زمان رشد گیاه و وزن خشک کل گیاه ثبت و با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید (Wu and Zou, 2009).

$$\text{WUE} = \text{DW} / \text{UW} \quad (\text{رابطه ۲})$$

کل ماده خشک تولیدشده در پایان فصل رشد (گرم) = DW

میزان آب مصرف‌شده در طول دوره رشد (میلی‌لیتر) = UW

اندازه‌گیری میزان آب نسبی برگ (RWC) به روش Bastam و همکاران (۲۰۱۲) صورت گرفت. ابتدا ۱۰ عدد دیسک برگ به صورت تصادفی گرفته شد و پس از توزین (FW) داخل شیشه‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۴ ساعت در دمای ۰-۴ درجه سلسیوس در تاریکی قرار داده شدند. دیسک‌ها روی کاغذ صافی قرار داده شدند تا رطوبت اضافی آنها گرفته شود، سپس وزن نمونه‌ها در حالت آماس کامل (TW) ثبت و نمونه‌ها در آون خشک شدند و وزن خشک دیسک‌ها (DW) نیز اندازه‌گیری شد. میزان آب نسبی برگ با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید.

$$\text{RWC} = [(\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW})] \times 100 \quad (\text{رابطه ۳})$$

میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در پایان آزمایش (۶۰ روز پس از اعمال تنش شوری) با استفاده از روش طیف‌سنجی اندازه‌گیری گردید (Lichtenthaler, 1987). بدین منظور ۰/۲۵ گرم از نمونه برگ تازه در هاون چینی سرد با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ ساییده شد و به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان جذب نور محلول رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instruments, T80) در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸، ۴۷۰ و ۶۷۰ نانومتر خوانده و محتوای رنگیزه‌ها براساس میلی‌گرم در یک گرم وزن تر با استفاده از روابط ۴ محاسبه شد.

$$\text{Chla} = \{12.25 (A_{663.2}) - 2.79 (A_{646.8})\} \times V/1000 \times W$$

$$\text{Chlb} = \{25.51 (A_{646.8}) - 5.10 (A_{663.2})\} \times V/1000 \times W$$

### نتایج و بحث

نتایج نشان داد اثرات سه جانبه تیمارها بر تعداد برگ معنی‌دار بود. بیشترین تعداد برگ در شاهد و کمترین تعداد برگ در بالاترین سطح تنش شوری وجود داشت. کاهش تعداد برگ پایه‌های پسته در اثر تنش شوری در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود و از طرف دیگر تعداد برگ گیاهان همزیست با میکوریزا نسبت به گیاهان غیرهمزیست بیشتر بود. بیشترین تعداد برگ در پایه UCB1 وجود داشت که با پایه‌های دیگر دارای تفاوت معنی‌دار بود. به‌طور کلی در شرایط طبیعی تعداد برگ پایه سرخس نسبت به پایه‌های دیگر کمتر بود (شکل ۱).

در شرایط تنش شوری بیشترین درصد ریزش برگ در پایه‌های قزوینی و سرخس با میانگین ۳۰٪ وجود داشت (شکل ۲ A). درصد ریزش برگ با افزایش شدت تنش شوری در گیاهان همزیست و غیرهمزیست با میکوریزا افزایش یافت با این وجود، میزان افزایش درصد ریزش برگ در گیاهان غیرهمزیست با میکوریزا (بیش از دو برابر، ۵۵٪) نسبت به گیاهان همزیست با میکوریزا (کمتر از دو برابر، ۴۱٪) به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۲ B).

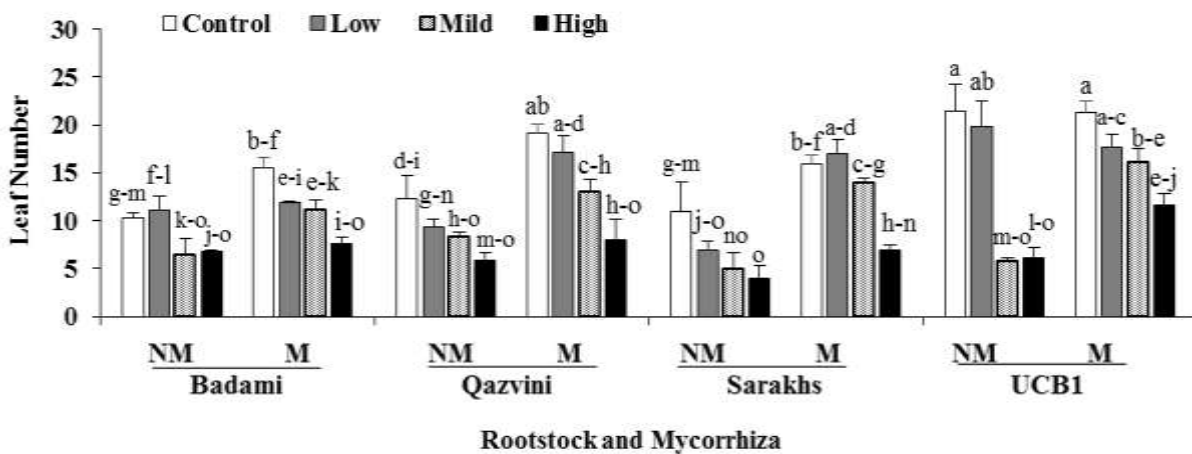
در ارتباط با ارتفاع پایه‌ها نتایج نشان داد اثرات متقابل پایه با میکوریزا و تنش با پایه در شرایط تنش شوری معنی‌دار بود (شکل ۳). تحت تنش شوری تنها در پایه سرخس گیاهان تلقیح‌شده (M) نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده (NM) با میکوریزا ارتفاع بیشتری داشتند. در سایر پایه‌ها تفاوت معنی‌داری بین گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده از نظر ارتفاع وجود نداشت (شکل ۳ A). براساس نتایج، ارتفاع پایه بادامی ریز زرد، قزوینی و UCB1 در اثر شوری نسبت به شاهد کاهش یافت اما در پایه سرخس تفاوت معنی‌داری در مقایسه با شاهد وجود نداشت (شکل ۳ B).

گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا با میانگین ۰/۸۰ میلی‌گرم ماده خشک ساخته‌شده در ازای میلی‌لیتر آب از دست‌رفته در تعرق، WUE بالاتری نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده با میکوریزا با میانگین ۰/۶۴ میلی‌گرم ماده خشک ساخته‌شده در ازای میلی‌لیتر آب از دست‌رفته در تعرق داشتند (شکل ۴ A).

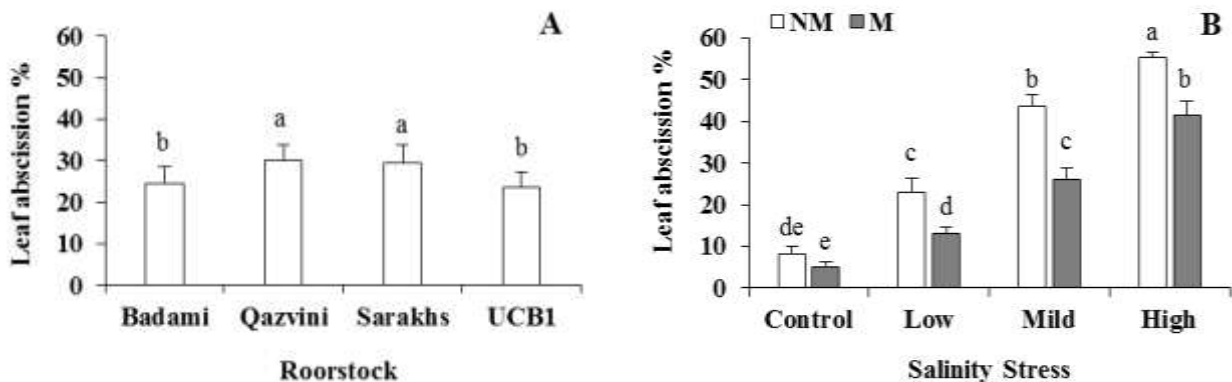
از عصاره را برداشته و ۰/۱ میلی‌لیتر KOH ۳۰ درصد به همه نمونه‌ها اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از خنک‌شدن (تا دمای اتاق) ۳ میلی‌لیتر آنترون به نمونه‌ها اضافه و در ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰-۱۵ دقیقه نگهداری شدند. جذب در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده و غلظت ساکارز با استفاده از منحنی استاندارد تهیه‌شده از غلظت‌های صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ساکارز محاسبه گردید (Vanhandel, 1968).

پروتئین محلول کل با استفاده از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگ و ریشه در ۶/۲۵ میلی‌لیتر بافر تریس کلریدریک اسید با pH=۷/۵ همگن و ۴۰ دقیقه با ۱۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول رویی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول A (۲/۸۶ گرم NaOH و ۱۴/۳۱ گرم  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول B (۲/۵۸ گرم تارتارات سدیم ۲ آبه)، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول C (۱/۴۲۳ گرم  $\text{CuSO}_4$  ۵ آبه)، محلول D (شامل محلول‌های A، B و C به نسبت حجمی ۱:۱:۱۰۰) و معرف فولین سیکالتوژ (۵ میلی‌لیتر فولین سیکالتوژ ۲ نرمال + ۶ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر) تهیه گردید. جهت برآورد پروتئین ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی به تیوب انتقال و ۰/۷ میلی‌لیتر از محلول D به تیوب‌ها اضافه شد. جهت مخلوط‌شدن عصاره با محلول D نمونه‌ها ورتکس و به‌مدت ۲۰ دقیقه در اتاق تاریک نگهداری شدند. در مرحله بعد ۰/۱ میلی‌لیتر از معرف فولین به هر تیوب اضافه و ورتکس شد. یکبار دیگر نمونه‌ها به‌مدت ۳۵ دقیقه در اتاق تاریک نگهداری و سپس به‌طور مختصری ورتکس شدند. جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. جهت محاسبه پروتئین از منحنی استاندارد تهیه‌شده از سرم آلبومین گاوی (BSA) در غلظت‌های صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد.

تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 25 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ( $P < 0.05$ ) صورت گرفت.



شکل ۱- تأثیر همزیستی میکوریزا (NM: بدون میکوریزا و M: با میکوریزا)، سطح‌های مختلف تنش شوری (شاهد Control، خفیف Low، متوسط Mild، شدید High) و پایه‌های مختلف پسته (بادامی ریز، قزوینی، سرخس و UCB1) بر تعداد برگ. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰.۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.



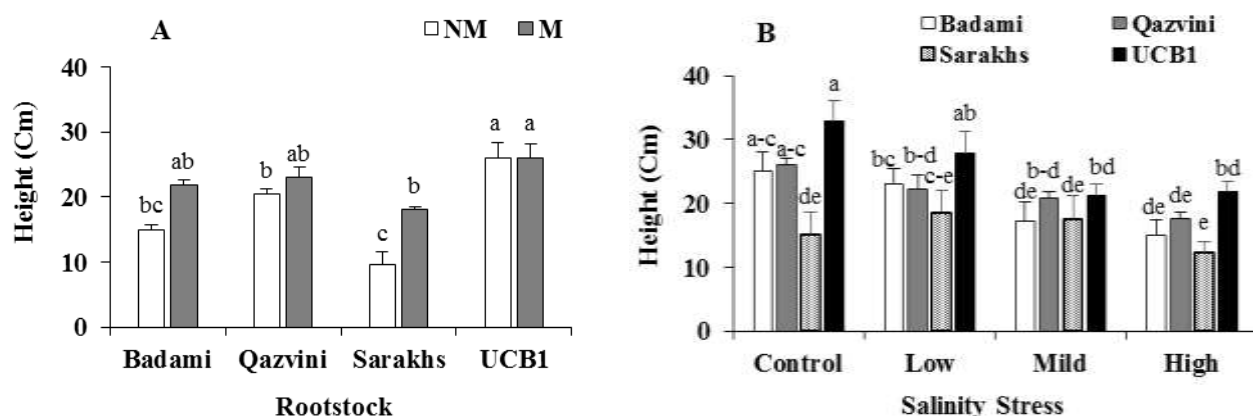
شکل ۲- تأثیر همزیستی میکوریزا (NM: بدون میکوریزا و M: با میکوریزا)، سطح‌های مختلف تنش شوری (شاهد Control، خفیف Low، متوسط Mild، شدید High) و پایه‌های مختلف پسته (بادامی ریز، قزوینی، سرخس و UCB1) بر درصد ریزش برگ. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰.۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

نداشت. از طرف دیگر RWC تحت تأثیر برهمکنش تنش شوری با پایه قرار گرفت. نتایج نشان داد، افزایش شدت تنش شوری باعث کاهش RWC در همه پایه‌ها گردید و بیشترین کاهش آن در پایه سرخس دیده شد (شکل B ۵).

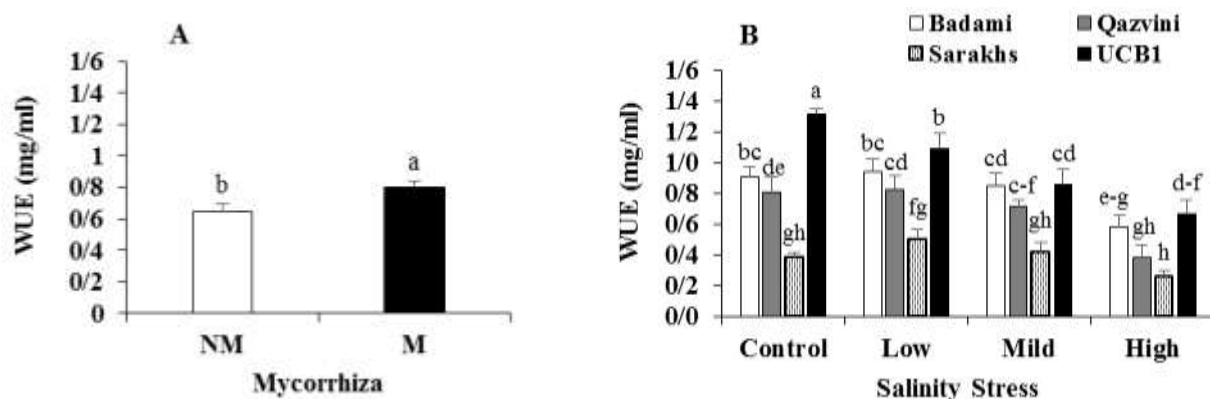
در شرایط تنش شوری میزان کلروفیل *a* و *b* و کل در گیاهان همزیست با میکوریزا نسبت به گیاهان غیرهمزیست با میکوریزا بیشتر بود و از نظر آماری معنی‌دار بود. پایه‌های استفاده‌شده در این آزمایش نیز از نظر محتوای کلروفیل *a* و *b* کل با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشتند و کمترین میزان کلروفیل

همچنین WUE در اثر تنش شوری در تمام پایه‌ها کاهش یافت و پایه سرخس و UCB1 به ترتیب کمترین و بیشترین WUE را دارا بودند (شکل B ۴).

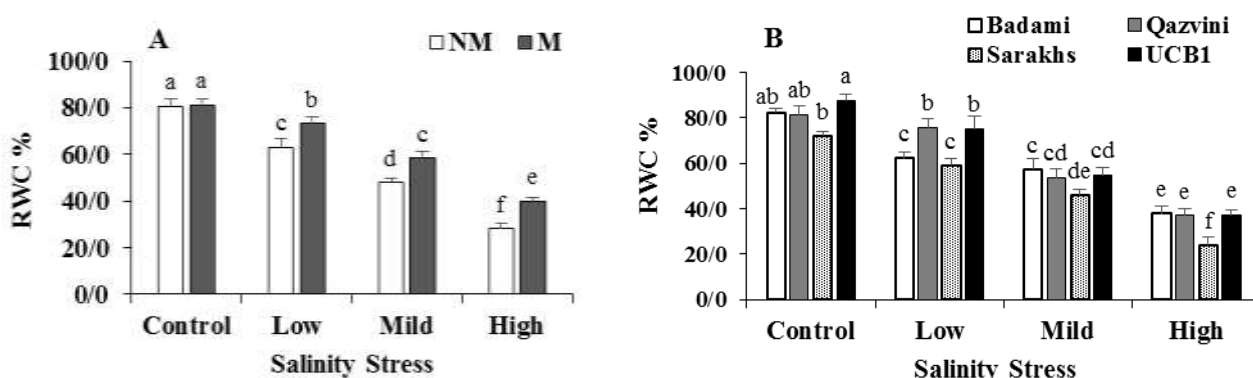
محتوای نسبی آب برگ در گیاهان همزیست و غیرهمزیست با میکوریزا با شدیدتر شدن تنش کاهش یافت اما میزان RWC در گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده بیشتر بود (شکل A ۵). در شرایط طبیعی پایه UCB1 و سرخس از نظر RWC با یکدیگر متفاوت بودند اما تفاوت معنی‌داری بین آنها و پایه قزوینی و بادامی ریز وجود



شکل ۳- تأثیر همزیستی میکوریزا (NM: بدون میکوریزا و M: با میکوریزا)، سطح‌های مختلف تنش شوری (شاهد Control، خفیف Low، متوسط Mild، شدید High) و پایه‌های مختلف پسته (بادامی ریز، قزوینی، سرخس و UCB1) بر ارتفاع. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۴- تأثیر همزیستی میکوریزا (NM: بدون میکوریزا و M: با میکوریزا)، سطح‌های مختلف تنش شوری (شاهد Control، خفیف Low، متوسط Mild، شدید High) و پایه‌های مختلف پسته (بادامی ریز، قزوینی، سرخس و UCB1) بر کارایی استفاده از آب (WUE). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۵- تأثیر همزیستی میکوریزا (NM: بدون میکوریزا و M: با میکوریزا)، سطح‌های مختلف تنش شوری (شاهد Control، خفیف Low، متوسط Mild، شدید High) و پایه‌های مختلف پسته (بادامی ریز، قزوینی، سرخس و UCB1) بر محتوای نسبی آب برگ (RWC). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.



جدول ۱- شاخص‌های کلروفیل، هیدروژن پراکسید و مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه پایه‌های پسته همزیست با میکوریزا تحت تنش شوری

میکوریزا	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئیدها	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> برگ	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ریشه	MAD برگ	MAD ریشه
بدون میکوریزا	۱/۱۸ <sup>b</sup>	۰/۴۶ <sup>b</sup>	۱/۷۲ <sup>b</sup>	۰/۹۱ <sup>a</sup>	۲/۳۷ <sup>a</sup>	۱/۶۵	۰/۵۱	۰/۲۹ <sup>a</sup>
با میکوریزا	۱/۳۸ <sup>a</sup>	۰/۶۱ <sup>a</sup>	۱/۸۹ <sup>a</sup>	۰/۷۸ <sup>b</sup>	۱/۵۴ <sup>b</sup>	۱/۳۷	۰/۳۱	۰/۲۰ <sup>b</sup>
پایه								
بادامی ریز	۱/۳۱ <sup>ab</sup>	۰/۴۵ <sup>b</sup>	۱/۷۶ <sup>ab</sup>	۰/۹۳ <sup>a</sup>	۱/۹۱ <sup>ab</sup>	۱/۴۲ <sup>c</sup>	۰/۳۶ <sup>b</sup>	۰/۲۱
قزوینی	۱/۴۱ <sup>a</sup>	۰/۴۴ <sup>b</sup>	۱/۸۵ <sup>a</sup>	۰/۸۹ <sup>a</sup>	۱/۷۷ <sup>b</sup>	۱/۶۰ <sup>b</sup>	۰/۳۸ <sup>b</sup>	۰/۲۴
سرخس	۱/۲۶ <sup>bc</sup>	۰/۳۸ <sup>b</sup>	۱/۶۴ <sup>c</sup>	۰/۷۹ <sup>b</sup>	۲/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۸۹ <sup>a</sup>	۰/۴۸ <sup>a</sup>	۰/۲۵
UCB1	۱/۱۶ <sup>c</sup>	۰/۶۷ <sup>a</sup>	۱/۸۳ <sup>a</sup>	۰/۷۶ <sup>b</sup>	۱/۸۳ <sup>b</sup>	۱/۵۸ <sup>bc</sup>	۰/۳۴ <sup>b</sup>	۰/۲۵
تنش شوری								
شاهد (۰/۹۱ ds/m)	۱/۹۲ <sup>a</sup>	۰/۶۷ <sup>a</sup>	۲/۵۹ <sup>a</sup>	۰/۹۱ <sup>a</sup>	۰/۹۰ <sup>d</sup>	۰/۹۰ <sup>a</sup>	۰/۱۸ <sup>c</sup>	۰/۱۶ <sup>c</sup>
تنش خفیف (۷/۵۷ ds/m)	۱/۲۵ <sup>b</sup>	۰/۵۵ <sup>b</sup>	۱/۸۰ <sup>b</sup>	۰/۹۳ <sup>a</sup>	۱/۲۸ <sup>c</sup>	۱/۳۰ <sup>b</sup>	۰/۲۱ <sup>c</sup>	۰/۱۹ <sup>c</sup>
تنش متوسط (۱۶/۱۲ ds/m)	۱/۱۹ <sup>b</sup>	۰/۴۳ <sup>c</sup>	۱/۶۲ <sup>c</sup>	۰/۸۰ <sup>b</sup>	۲/۱۸ <sup>b</sup>	۱/۸۱ <sup>c</sup>	۰/۴۵ <sup>b</sup>	۰/۲۶ <sup>b</sup>
تنش شدید (۲۴/۶۳ ds/m)	۰/۷۶ <sup>c</sup>	۰/۳۰ <sup>d</sup>	۱/۰۶ <sup>d</sup>	۰/۷۴ <sup>b</sup>	۳/۲۵ <sup>a</sup>	۲/۴۸ <sup>d</sup>	۰/۷۱ <sup>a</sup>	۰/۳۹ <sup>a</sup>
میکوریزا × شوری								
بدون میکوریزا شاهد	۱/۹۱ <sup>a</sup>	۰/۶۳	۲/۵۳ <sup>a</sup>	۰/۹۲ <sup>b</sup>	۰/۹۳ <sup>d</sup>	۱/۰۳	۰/۱۷ <sup>d</sup>	۰/۱۷
بدون میکوریزا تنش خفیف	۱/۰۹ <sup>c</sup>	۰/۴۷	۱/۵۷ <sup>d</sup>	۱/۰۸ <sup>a</sup>	۱/۵۰ <sup>c</sup>	۱/۴۰	۰/۲۵ <sup>d</sup>	۰/۲۴
بدون میکوریزا تنش متوسط	۱/۰۸ <sup>c</sup>	۰/۳۴	۱/۴۳ <sup>d</sup>	۰/۸۴ <sup>b-d</sup>	۲/۶۲ <sup>b</sup>	۱/۹۲	۰/۵۲ <sup>b</sup>	۰/۳۰
بدون میکوریزا تنش شدید	۰/۶۵ <sup>e</sup>	۰/۲۴	۰/۸۹ <sup>f</sup>	۰/۸۰ <sup>b-e</sup>	۳/۶۲ <sup>a</sup>	۲/۶۶	۰/۸۰ <sup>a</sup>	۰/۳۹
با میکوریزا شاهد	۱/۹۳ <sup>a</sup>	۰/۷۲	۲/۶۵ <sup>a</sup>	۰/۸۹ <sup>bc</sup>	۰/۸۷ <sup>d</sup>	۰/۷۷	۰/۱۹ <sup>d</sup>	۰/۱۴
با میکوریزا تنش خفیف	۱/۴۲ <sup>b</sup>	۰/۶۲	۲/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۷۸ <sup>c-e</sup>	۱/۰۶ <sup>d</sup>	۱/۲۲	۰/۱۷ <sup>d</sup>	۰/۱۶
با میکوریزا تنش متوسط	۱/۳۰ <sup>b</sup>	۰/۵۳	۱/۸۲ <sup>c</sup>	۰/۷۵ <sup>de</sup>	۱/۷۴ <sup>c</sup>	۱/۷۰	۰/۳۸ <sup>c</sup>	۰/۲۲
با میکوریزا تنش شدید	۱/۸۷ <sup>d</sup>	۰/۳۵	۱/۲۲ <sup>e</sup>	۰/۶۷ <sup>e</sup>	۲/۸۹ <sup>b</sup>	۲/۳۰	۰/۶۲ <sup>b</sup>	۰/۲۷
پایه × شوری								
بادامی ریز شاهد	۱/۹۰	۰/۶۵	۲/۵۵	۱/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۹۲	۰/۵۸ <sup>h</sup>	۰/۱۶ <sup>e</sup>	۰/۱۸
بادامی ریز تنش خفیف	۱/۳۱	۰/۵۲	۱/۸۳	۰/۹۴ <sup>a-c</sup>	۱/۵۳	۱/۳۰ <sup>e-g</sup>	۰/۱۷ <sup>e</sup>	۰/۱۷
بادامی ریز تنش متوسط	۱/۲۰	۰/۳۹	۱/۵۸	۰/۹۰ <sup>a-d</sup>	۲/۰۴	۱/۵۸ <sup>de</sup>	۰/۴۱ <sup>c</sup>	۰/۲۳
بادامی ریز تنش شدید	۰/۸۱	۰/۲۶	۱/۰۷	۰/۸۶ <sup>a-d</sup>	۳/۱۷	۲/۲۰ <sup>b</sup>	۰/۶۸ <sup>b</sup>	۰/۲۸
قزوینی شاهد	۲/۰۸	۰/۶۵	۲/۷۳	۰/۹۰ <sup>a-d</sup>	۰/۸۹	۰/۹۵ <sup>f-h</sup>	۰/۲۷ <sup>c-e</sup>	۰/۱۵
قزوینی تنش خفیف	۱/۳۳	۰/۵۲	۱/۸۴	۰/۹۹ <sup>ab</sup>	۱/۱۳	۱/۳۲ <sup>ef</sup>	۰/۲۰ <sup>e</sup>	۰/۲۱
قزوینی تنش متوسط	۱/۳۵	۰/۳۷	۱/۷۲	۰/۸۳ <sup>b-d</sup>	۲/۰۵	۱/۷۹ <sup>cd</sup>	۰/۴۱ <sup>c</sup>	۰/۲۹
قزوینی تنش شدید	۰/۸۷	۰/۲۴	۱/۱۰	۰/۸۴ <sup>a-d</sup>	۰/۰۳	۲/۳۶ <sup>b</sup>	۰/۶۵ <sup>b</sup>	۰/۳۴
سرخس شاهد	۱/۹۱	۰/۶۲	۲/۵۳	۰/۸۷ <sup>ab</sup>	۰/۸۹	۱/۱۶ <sup>fg</sup>	۰/۱۴ <sup>e</sup>	۰/۱۴

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال مختلف است. معنی‌دار  $p < 0.05$ ، \*؛  $p < 0.01$ ، \*\*؛  $p < 0.001$  و ns

غیرمعنی‌داری

ادامه جدول ۱-

MAD ریشه	MAD برگ	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ریشه	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> برگ	کارتونوئیدها	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	میکوریزا
۰/۲۰	۰/۲۵ <sup>de</sup>	۱/۲۶ <sup>e-g</sup>	۱/۲۱	۰/۹۷ <sup>ab</sup>	۱/۷۴	۰/۴۶	۱/۲۸	سرخس تنش خفیف
۰/۲۶	۰/۶۰ <sup>b</sup>	۲/۱۴ <sup>bc</sup>	۲/۵۹	۰/۷۹ <sup>cd</sup>	۱/۴۴	۰/۳۱	۱/۱۳	سرخس تنش متوسط
۰/۳۸	۰/۹۱ <sup>a</sup>	۳/۰۲ <sup>a</sup>	۳/۶۶	۰/۵۵ <sup>e</sup>	۰/۸۴	۰/۱۵	۰/۷۰	سرخس تنش شدید
۰/۱۷	۰/۱۵ <sup>e</sup>	۰/۹۰ <sup>gh</sup>	۰/۹۰	۰/۸۳ <sup>a-d</sup>	۲/۵۶	۰/۷۸	۱/۷۹	UCB1 شاهد
۰/۲۰	۰/۲۲ <sup>e</sup>	۱/۳۲ <sup>ef</sup>	۱/۲۵	۰/۸۳ <sup>a-d</sup>	۱/۷۹	۰/۶۹	۱/۱۰	UCB1 تنش خفیف
۰/۲۵	۰/۳۸ <sup>cd</sup>	۱/۷۴ <sup>d</sup>	۲/۰۴	۰/۷۱ <sup>de</sup>	۱/۷۶	۰/۶۷	۱/۰۸	UCB1 تنش متوسط
۰/۳۲	۰/۶۲ <sup>b</sup>	۲/۳۴ <sup>b</sup>	۳/۱۶	۰/۶۹ <sup>de</sup>	۱/۲۱	۰/۵۵	۰/۶۷	UCB1 تنش شدید
**	ns	ns	*	***	**	**	*	میکوریزا
ns	*	***	*	**	*	***	***	پایه
***	***	***	***	***	***	***	***	شوری
ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	میکوریزا × پایه
ns	*	ns	**	*	*	ns	**	میکوریزا × شوری
ns	*	*	ns	**	ns	ns	ns	پایه × شوری
ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	میکوریزا × پایه × شوری

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال مختلف است. معنی دار  $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$  و  $ns$

#### غیر معنی داری

گیاهان دارای میکوریزا، به طور معنی داری کمتر از گیاهان بدون میکوریزا بود. پایه‌ها از نظر MAD ریشه با یکدیگر تفاوتی نداشتند از طرف دیگر MAD در برگ پایه سرخس (۰/۴۸ میلی گرم در گرم وزن تر) به طور معنی داری بیشتر از پایه‌های دیگر بود و پایه‌های بادامی ریز زرد، قزویی و UCB1 تفاوت معنی داری از این نظر نداشتند (جدول ۱).

نتایج این آزمایش نشان داد اثرات متقابل میکوریزا با پایه و اثر سه جانبه میکوریزا، پایه و شوری بر محتوای کلروفیل‌ها، کارتونوئید، H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و MAD برگ و ریشه معنی دار نبود. کمترین محتوای کلروفیل (۰/۸۹ میلی گرم در گرم وزن تر) و بیشترین مقدار H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و MAD برگ در گیاهان بدون میکوریزا و تنش شدید وجود داشت. اثر متقابل پایه با شوری نشان داد بیشترین میزان H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ریشه و MAD برگ در پایه سرخس تحت تنش شدید وجود داشت و تفاوت معنی داری بین پایه‌های دیگر وجود نداشت (جدول ۱).

کل در پایه سرخس مشاهده شد اما تفاوتی بین پایه‌های بادامی ریز و UCB1 از نظر کلروفیل کل مشاهده نگردید. در اثر تنش شوری میزان کلروفیل a، b و کل کاهش یافت و در مقایسه با شاهد دارای تفاوت معنی دار بود.

هیدروژن پراکسید برگ گیاهان همزیست با میکوریزا (۱/۵۴ میلی گرم در گرم وزن تر) کمتر از گیاهان غیرهمزیست با میکوریزا (۲/۳۷ میلی گرم در گرم وزن تر) بود و میکوریزا تأثیر معنی داری در H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ریشه نداشت. بیشترین میزان H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> برگ و ریشه به ترتیب با میانگین ۲/۰۹ و ۱/۸۹ میلی گرم در گرم وزن تر در پایه سرخس دیده شد و تفاوتی بین پایه‌های دیگر از نظر H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> برگ مشاهده نگردید. شوری باعث افزایش معنی دار غلظت H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در برگ و ریشه شد و کمترین میزان H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در شاهد مشاهده گردید.

همزیستی با میکوریزا تأثیری در مالون دی‌آلدئید برگ نداشت در حالی که در بافت ریشه میزان مالون دی‌آلدئید

بر اساس نتایج پژوهش حاضر ساکارز برگ و ریشه تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (شکل ۶). با افزایش شدت تنش شوری میزان ساکارز برگ در گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با میکوریزا افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری در سطوح مختلف بجز سطح تنش خفیف وجود نداشت (شکل ۶ A). همچنین در اثر تنش شوری ساکارز برگ در همه پایه‌ها افزایش یافت و در مقایسه با شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (شکل ۶ B). اثرات ساده پایه و شوری بر محتوای ساکارز ریشه معنی‌دار گردید به طوری که بیشترین ساکارز ریشه در پایه UCB1 برآورد شد و بین سایر پایه‌ها اختلاف معنی‌داری از نظر محتوای ساکارز ریشه وجود نداشت (شکل ۶ C) از طرفی افزایش شدت تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار ساکارز ریشه گردید (شکل ۶ D).

محتوای پروتئین برگ در بالاترین سطح تنش شوری به میزان ۴۱٪ نسبت به شاهد کاهش یافت و کمترین میزان پروتئین برگ در این سطح وجود داشت (شکل ۷ A). تحت تنش شوری اثرات ساده تیمارها بر محتوای پروتئین برگ معنی‌دار بود و بیشترین میزان پروتئین برگ در پایه UCB1 با میانگین ۰/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر وجود داشت اما تفاوت معنی‌داری بین پایه‌های بادامی ریز زرنده، قزوینی و سرخس مشاهده نشد (شکل ۷ B). پروتئین برگ و ریشه در گیاهان همزیست با میکوریزا نسبت به گیاهان بدون میکوریزا بیشتر بود (شکل ۷ C و D). با افزایش شدت تنش، پروتئین ریشه در پایه‌های بادامی ریز زرنده، قزوینی و سرخس کاهش یافت اما تفاوت معنی‌داری در پروتئین ریشه پایه UCB1 دیده نشد. همچنین کمترین میزان پروتئین ریشه در پایه سرخس وجود داشت (شکل ۷ D).

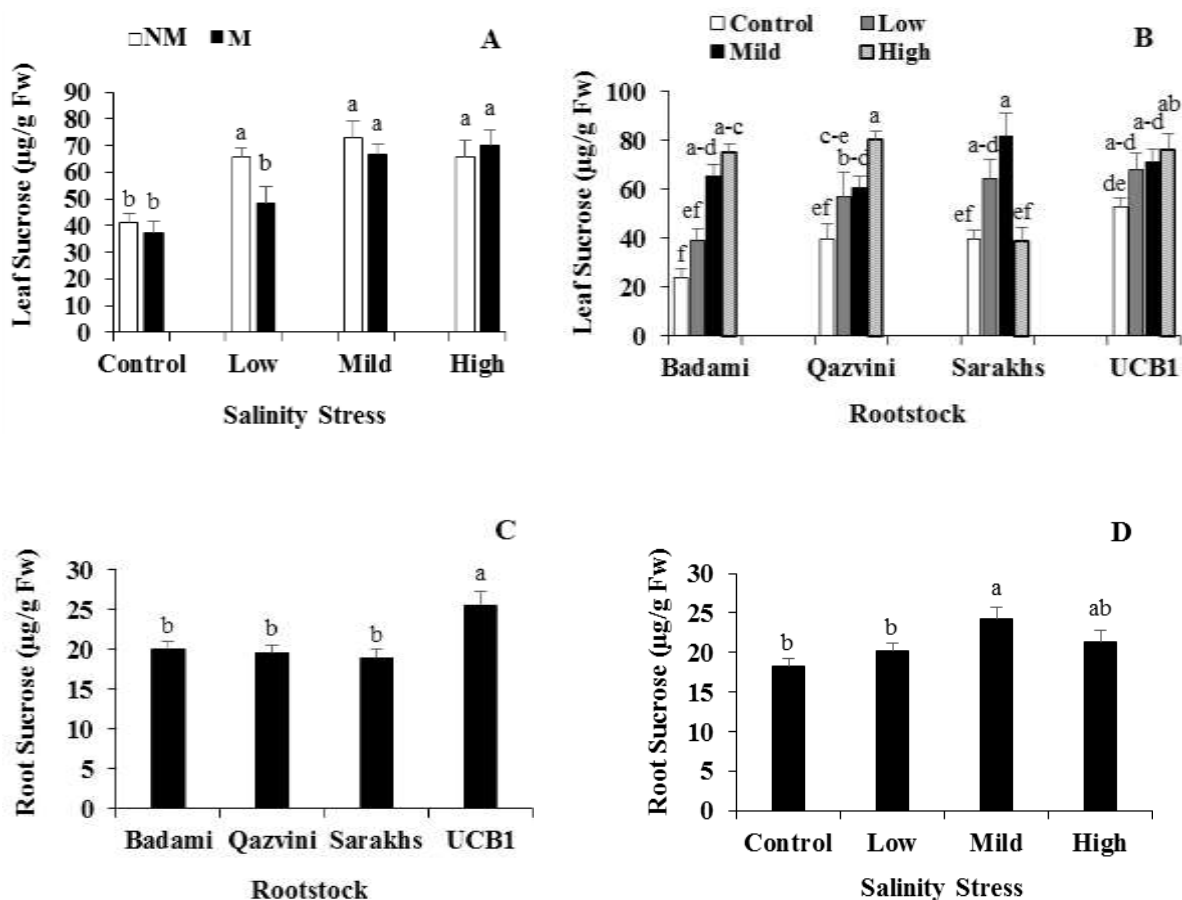
اثر تنش بر کاهش خصوصیات رشدی گیاه مانند تعداد برگ، رشد قطری و طولی شاخساره گیاهان پسته و آلو در گزارش‌های متعددی نشان داده شده است (Shamshiri and Fattahi, 2016; Ruiz-canale et al., 2006; Taffou et al., 2009). همچنین گزارش شده است که تعداد برگ با سطوح مختلف تنش شوری همبستگی منفی دارد (Rui et al., 2009) و شوری باعث کاهش رشد طولی گیاهان می‌شود (Memon et

al., 2010) که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد. به‌طور کلی میزان رشد گیاه مربوط به تقسیم و توسعه سلولی و تمایز آن است و این رویدادها متأثر از تنش شوری هستند (Cabuslay et al., 2002) بنابراین وقتی گیاهان در شرایط تنش قرار می‌گیرند، به‌علت محدودیت آب، انعطاف‌پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد اندام‌ها کم می‌شود و توسعه سلولی و رشد کاهش می‌یابد که در نتیجه کاهش تعداد برگ و ارتفاع گیاه اتفاق می‌افتد (Kaiser et al., 2015). از طرف دیگر همزیستی قارچ با ریشه پایه‌های پسته باعث افزایش ریزوسفر آنها شده و دسترسی گیاه به بخش‌های بیشتری از خاک را میسر می‌کند که باعث جذب آب و مواد معدنی بیشتر از سطح بیشتری از خاک شده و رشد گیاه کمتر تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد (Barzana et al., 2012; Kaiser et al., 2015). شبکه گسترده هیفی قارچ‌های میکوریزا آربسکولار (AMF) به‌عنوان کانال‌هایی برای مبادله آب بین ریشه و محیط خاک عمل می‌کنند (Buscot, 2015). این هیف‌های باریک می‌توانند به داخل منافذ خارج از دسترس تارهای کشنده ریشه نفوذ کند و آب و مواد معدنی خارج از دسترس گیاهان را جذب و باعث بهبود رشد رویشی گیاهان نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده شوند (فتاحی و محمد خانی، ۱۳۹۷). گیاهان همزیست با میکوریزا نسبت به گیاهان بدون میکوریزا، WUE و RWC بالاتری داشتند. همچنین در پایه‌های پسته، تنش باعث کاهش این شاخص‌ها در گیاهان میکوریزایی و بدون میکوریزا گردید. گیاهان در خاک‌های شور با خشکسالی فیزیولوژیکی درونی مواجه می‌شوند، زیرا یون‌های سدیم و کلر آب را محصور می‌کنند و آب برای گیاه قابل دسترس نمی‌باشد (Fuzy et al., 2008). در این شرایط همزیستی با میکوریزا می‌تواند به گیاه کمک کند. در پژوهش‌های گذشته بیان شده که گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا، WUE و RWC بالاتری در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده دارند (Colla et al., 2008; Sheng et al., 2008). همچنین Colla و همکاران (۲۰۰۸) بهبود وضعیت آبی گیاهان میکوریزایی کدو مسمایی (*Cucurbita pepo*) تحت تنش شوری را ناشی از بهبود هدایت هیدرولیکی

بر اساس نتایج پژوهش حاضر ساکارز برگ و ریشه تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (شکل ۶). با افزایش شدت تنش شوری میزان ساکارز برگ در گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با میکوریزا افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری در سطوح مختلف بجز سطح تنش خفیف وجود نداشت (شکل ۶ A). همچنین در اثر تنش شوری ساکارز برگ در همه پایه‌ها افزایش یافت و در مقایسه با شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (شکل ۶ B). اثرات ساده پایه و شوری بر محتوای ساکارز ریشه معنی‌دار گردید به طوری که بیشترین ساکارز ریشه در پایه UCB1 برآورد شد و بین سایر پایه‌ها اختلاف معنی‌داری از نظر محتوای ساکارز ریشه وجود نداشت (شکل ۶ C) از طرفی افزایش شدت تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار ساکارز ریشه گردید (شکل ۶ D).

محتوای پروتئین برگ در بالاترین سطح تنش شوری به میزان ۴۱٪ نسبت به شاهد کاهش یافت و کمترین میزان پروتئین برگ در این سطح وجود داشت (شکل ۷ A). تحت تنش شوری اثرات ساده تیمارها بر محتوای پروتئین برگ معنی‌دار بود و بیشترین میزان پروتئین برگ در پایه UCB1 با میانگین ۰/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر وجود داشت اما تفاوت معنی‌داری بین پایه‌های بادامی ریز زرنده، قزوینی و سرخس مشاهده نشد (شکل ۷ B). پروتئین برگ و ریشه در گیاهان همزیست با میکوریزا نسبت به گیاهان بدون میکوریزا بیشتر بود (شکل ۷ C و D). با افزایش شدت تنش، پروتئین ریشه در پایه‌های بادامی ریز زرنده، قزوینی و سرخس کاهش یافت اما تفاوت معنی‌داری در پروتئین ریشه پایه UCB1 دیده نشد. همچنین کمترین میزان پروتئین ریشه در پایه سرخس وجود داشت (شکل ۷ D).

اثر تنش بر کاهش خصوصیات رشدی گیاه مانند تعداد برگ، رشد قطری و طولی شاخساره گیاهان پسته و آلو در گزارش‌های متعددی نشان داده شده است (Shamshiri and Fattahi, 2016; Ruiz-canale et al., 2006; Taffou et al., 2009). همچنین گزارش شده است که تعداد برگ با سطوح مختلف تنش شوری همبستگی منفی دارد (Rui et al., 2009) و شوری باعث کاهش رشد طولی گیاهان می‌شود (Memon et

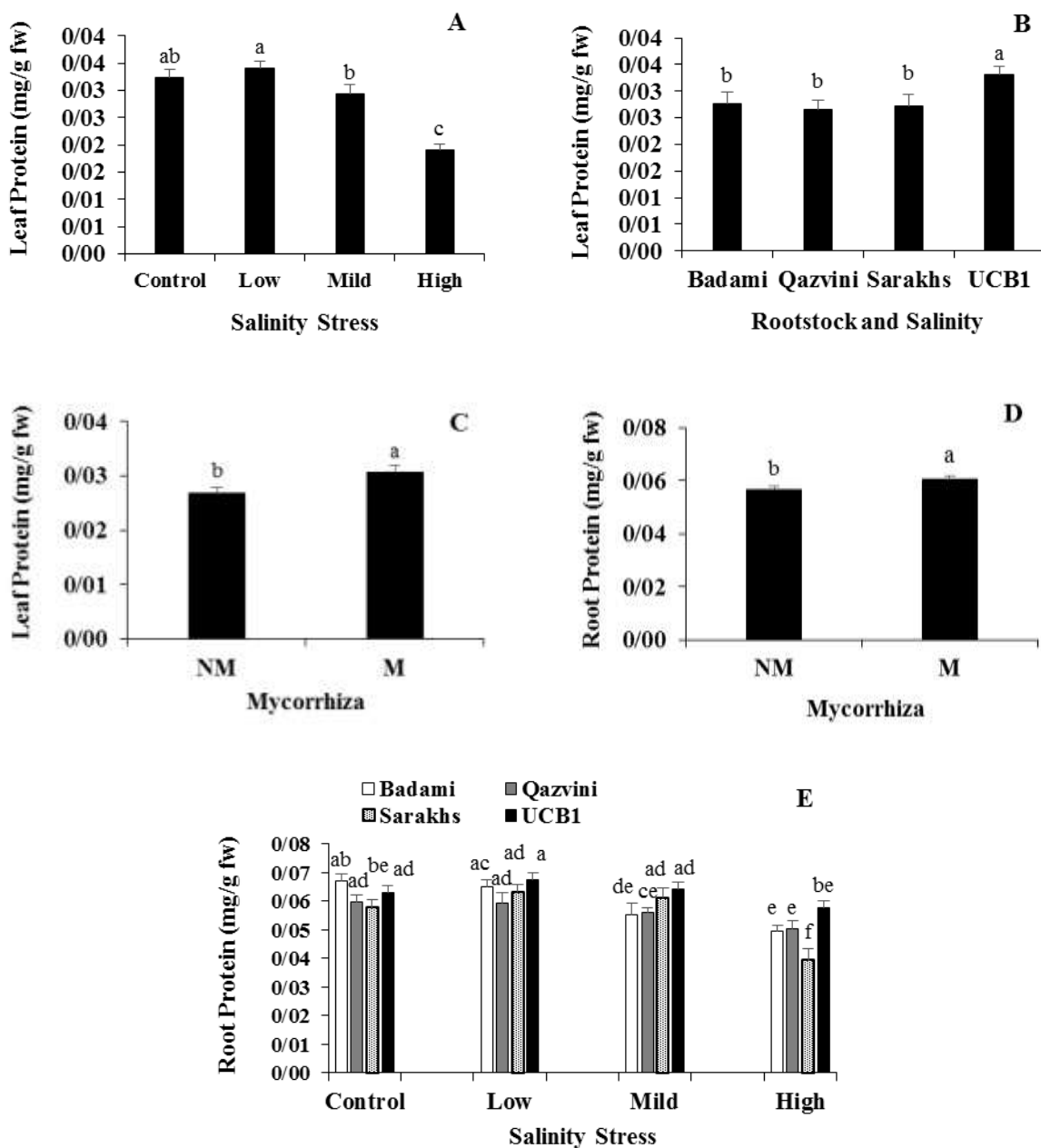


شکل ۶- تأثیر همزیستی میکوریزا (NM: بدون میکوریزا و M: با میکوریزا)، سطح‌های مختلف تنش شوری (شاهد Control، خفیف Low متوسط Mild، شدید High) و پایه‌های مختلف پسته (بادامی ریز، قزوینی، سرخس و UCB1) بر محتوای ساکارز برگ و ریشه. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

غشای سلولی و نفوذپذیری آن است. همچنین کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به دلیل فعالیت بیشتر کلروفیل‌ها در شرایط تنش شوری باشد (Woodward and Benet, 2005). افزایش میزان کلروفیل در گیاهان همزیست با میکوریزا نسبت به گیاهان غیرهمزیست می‌تواند به دو دلیل باشد: اول، کاهش غلظت سدیم در اندام هوایی گیاهان دارای میکوریزا (به عبارتی در گیاهان میکوریزایی تأثیر سمیت سدیم روی سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد زیرا قارچ میکوریزا با جذب سدیم در اندام‌های خود مانع جذب آن توسط گیاه شده و نسبت جذب پتاسیم به سدیم را افزایش می‌دهد) و دوم، میکوریزا با افزایش جذب مواد معدنی همانند منیزیم و نیتروژن باعث افزایش سنتز کلروفیل در گیاه می‌گردد (فتاحی و همکاران، ۱۳۹۳). نتایج این آزمایش نشان داد میزان کارتنوئید در اثر تنش شوری

ریشه دانستند زیرا همزیستی با میکوریزا باعث افزایش ریزوسفر گیاه شده و هدایت‌پذیری ریشه با افزایش طول ریشه و تغییر مورفولوژی سیستم ریشه‌ای به وسیله AMF بهبود می‌یابد.

متفاوت بودن میزان کلروفیل و کارتنوئید توسط Ranjbar و همکاران (۲۰۰۰) در گونه‌های دیگر پسته (خنجوک و بنه) و همچنین Eskandari و همکاران (۲۰۱۱) در ارقام قزوینی و بادامی ریز زرنند تحت تنش شوری گزارش شده که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد، این واکنش ممکن است به دلیل پاسخ متفاوت گونه‌های مختلف گیاهی و ژنوتیپ‌های مختلف درون یک گونه به تنش شوری باشد (Jogaiah et al., 2014). برخی پژوهشگران معتقدند تأثیر شوری بر متابولیسم گیاه بیشتر ناشی از اثرات مخرب یون‌های نمکی (کلر و سدیم) بر ساختار



شکل ۷- تأثیر همزیستی میکوریزا (NM: بدون میکوریزا و M: با میکوریزا)، سطح‌های مختلف تنش شوری (شاهد Control، خفیف Low، متوسط Mild، شدید High) و پایه‌های مختلف پسته (بادامی ریز، قزوینی، سرخس و UCB1) بر محتوای پروتئین برگ و ریشه. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

بالاتر بودن میزان کاروتنوئید در پایه‌ها نشان‌دهنده مقاومت بهتر آنها در برابر تنش است (Zrig *et al.*, 2011, 2016). نتایج این پژوهش نشان داد در اثر تنش شوری کلروفیل‌ها و پروتئین کاهش یافت و  $H_2O_2$  و MAD افزایش یافت (جدول ۱). اکسیژن تولیدشده در کلروپلاست‌ها در طول

کاهش یافت که می‌تواند به علت تخریب اکسیداتیو باشد زیرا آنها به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس هستند (فتاحی و همکاران، ۱۳۹۳). کاروتنوئیدها علاوه بر اینکه به‌عنوان رنگدانه کمکی عمل می‌کنند به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت مؤثر در حفاظت از فرایندهای فتوشیمیایی و پایداری آنها نقش دارد بنابراین

محتوای پروتئین ممکن است به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و سیستمین پروتئیناز باشد که نقش مهمی در تجزیه پروتئین‌ها دارند این آنزیم‌ها در شرایط تنش افزایش می‌یابند (Abbaspour *et al.*, 2012). همچنین کاهش پروتئین محلول کل ممکن است به دلیل کاهش شدید فتوسنتز و فراهم‌نشدن مواد لازم جهت سنتز پروتئین باشد (Fahimi *et al.*, 2016).

تفاوت بین پایه‌ها در سازگاری به تنش به احتمال زیاد تحت کنترل ژنتیکی است. مکانیسم‌های تحمل به شوری این چهار پایه متفاوت و در نتیجه آستانه‌ی تحمل آنها متفاوت است. برای مثال تفاوت در فعالیت فتوسنتزی، منجر به تفاوت در کارایی استفاده از آب در پایه‌ها گردید. Karimi و همکاران (۲۰۱۱) اظهار داشتند که تفاوت بین پایه‌های پسته ممکن است به دلیل گرده‌افشانی و مکانیسم دوپایه‌بودن آنها باشد. در پژوهش حاضر واکنش پایه‌های پسته در برابر تنش شوری متفاوت بود. این تفاوت ممکن است ناشی از اختلاف ژنتیکی آنها باشد. همزیستی با میکوریزا باعث بهبود بسیاری از شاخص‌های اندازه‌گیری شده نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده گردید که می‌تواند در تعدیل اثرات مخرب تنش شوری مؤثر باشد.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد همزیستی با میکوریزا باعث بهتر شدن شاخص‌های تعداد برگ، کاهش ریزش برگ، کلرفیل کل، WUE، RWC،  $H_2O_2$  برگ و MAD ریشه، پروتئین برگ و ریشه در شرایط تنش شوری نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده با میکوریزا گردید. در گیاهان همزیست با میکوریزا محتوای  $H_2O_2$  و MAD کمتر و از طرفی محتوای کلروفیل و پروتئین بیشتر بود که نشان‌دهنده کاهش اثرات مخرب تنش شوری توسط میکوریزا است. بررسی پارامترهای فیزیومورفولوژیکی نشان داد پایه سرخس (از نظر کلرفیل، WUE، RWC،  $H_2O_2$  و MAD) نسبت به پایه‌های دیگر حساس‌تر است و تفاوت زیادی بین پایه بادامی ریز زرد و UCB1 وجود نداشت.

فتوسنتز ممکن است باعث تشکیل  $H_2O_2$  شده و در غلظت بالا (که منجر به سمیت می‌شود) در شرایط تنش باعث آسیب به غشا، کلروفیل و پروتئین‌ها می‌گردد (Gill and Tuteja, 2010). تولید  $H_2O_2$  در مجاورت غشاهای دارای اسیدهای چرب غیراشباع ممکن است باعث هیدروپراکسیداسیون لیپیدها و تولید آلدئیدهای سمی (MAD) تخریب‌کننده شود (Yamauchi *et al.*, 2010). در شرایط تنش شوری پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد که منجر به از دست‌دادن کامل فعالیت فتوسنتزی و کاهش کلروفیل می‌شود (Turoczy *et al.*, 2011). در این آزمایش گیاهان همزیست با میکوریزا میزان MAD کمتری نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده داشتند که نشان می‌دهد میکوریزا باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا شده است. کاهش سطوح MAD و  $H_2O_2$  در شرایط تنش‌های مختلف در گیاهان همزیست با میکوریزا را می‌توان به بهتر شدن فعالیت‌های آنزیمی برای از بین‌بردن ROSها ربط داد (Maya and Matsubara, 2013). میکوریزا با جذب آب و مواد مغذی باعث کاهش اثرات تنش‌ها می‌شود. زیرا هیف‌های قارچ امکان نفوذ به مناطقی از خاک که ریشه به آن دسترسی ندارد را دارد. همان‌طور که در نتایج دیده شد میکوریزا می‌تواند راندمان مصرف آب را بالا ببرد همچنین باعث بهبود هدایت روزنه‌ای می‌گردد. بنابراین میکوریزا به‌طور مستقیم و غیرمستقیم باعث افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد (Li *et al.*, 2019).

نتایج این آزمایش نشان داد با افزایش شدت تنش شوری میزان ساکارز ریشه و برگ افزایش یافت (شکل ۶) که ممکن است ناشی از تجزیه قندهای نامحلول (نشاسته) به قندهای محلول باشد (Parvaiz and Satyawati, 2008). همچنین علت افزایش قند محلول در اثر تنش شوری ممکن است ناشی از کاهش میزان فتوسنتز و یا مصرف کمتر کربوهیدرات توسط گیاه در شرایط تنش باشد (Karimi *et al.*, 2009). مطالعات گذشته کاهش میزان پروتئین در گیاه پسته را گزارش کرده‌اند (Abbaspour *et al.*, 2012; Fahimi *et al.*, 2016) که با نتایج این آزمایش همسو است. براساس مطالعات قبلی کاهش

## منابع

- آمارنامه جهاد کشاورزی (۱۳۹۵) انتشارات دفتر آمار و فناوری اطلاعات. معاونت برنامه‌ریزی و اقتصاد.
- خضری، م. (۱۳۸۹) مطالعه تأثیر پایه‌ها و محلول‌پاشی عناصر نیتروژن، بور و روی و پلی‌آمین‌های آزاد بر کاهش برخی از مشکلات پسته رقم کله قوچی. رساله دکتری. دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- فتاحی، م.، شمشیری، م. ح. و اسماعیلی‌زاده، م. (۱۳۹۳) ارزیابی واکنش‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی برگ در سه پایه پسته مایه‌کوبی‌شده با قارچ مایکوریزا آربسکولار نسبت به تنش شوری. مجله علوم و فنون باغبانی ایران ۱۵: ۴۸۲-۴۶۹.
- فتاحی، م. و محمدخانی، ع. ر. (۱۳۹۷) اثر کم آبیاری بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی انگور عسگری (*Vitis vinifera* cv. Asgari) همزیست با قارچ ریشه آربسکولار. نشریه علوم باغبانی ۳۲: ۵۹۲-۵۸۱.
- Abbasi, M. K., Sharif, S., Kazmi, M., Sultan, T. and Aslam, M. (2011) Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. *Plant Biosystem* 145: 159-168.
- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H. and Abdol-Wahhab, M. (2012) Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Plant Physiology* 169: 704-709.
- Al-Karaki, G. N. and Clark, R. B. (1998) Growth, mineral acquisition and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of Plant Nutrition* 21: 263-276.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 207-216.
- Bagheri, V., Shamshiri, M. H., Shirani, H. and Roosta, H. R. (2011) Effect of mycorrhizal inoculation on ecophysiological responses of pistachio plants grown under different water regimes. *Photosynthetica* 49: 531-538.
- Barzana, G., Aroca, R., Paz, J. A., Chaumont, F., Martinez-Ballesta, M. C., Carvajal, M. and Ruiz-Lozano, J. M. (2012) Arbuscular mycorrhiza symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions. *Annals Botany* 109: 1009-1017.
- Bastam, N., Baninasab, B. and Ghobadi, C. (2012) Improving salt tolerance by exogenous application of salicylic acid in seedlings of pistachio. *Plant Growth Regulators* 51: 156-163.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagersted, K. (2003) Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of Botany* 91: 179-194.
- Buscot, F. (2015) Implication of evolution and diversity in arbuscular and ectomycorrhizal symbioses. *Journal of Plant Physiology* 172: 55-61.
- Cabuslay, G. S., Ito, O. and Alejal, A. A. (2002) Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. *Journal of Plant Science* 63: 815-827.
- Colla, G., Roupahel, Y., Cardarelli, M., Tullio, M., Rivera, C. M. and Rea, E. (2008) Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology and Fertility of Soils* 44: 501-509.
- Chang, W., Sui, X., Fan, X., Jia, T. and Song, F. (2018) Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response and ion distribution in salt-stressed *Elaeagnus angustifolia* seedlings. *Frontier Microbiology* 9: 652.
- Derbew, B. Y., Mokashi, A. N., Patil, C. P. and Hegde, R. V. (2007) Effect of mycorrhizal inoculation at different salinity levels on root colonization, growth and chlorophyll content of different grape rootstocks (*Vitis* spp). *Tropical Agricultural Research and Extension* 10: 79-82.
- Duc, N. H., Csintalan, Z. and Posta, K. (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants. *Plant Physiology Biochemistry* 132: 297-307.
- Eskandari, S., Mozafari, V. and Tajabadipour, A. (2011) Effects of copper and salinity on some physiological and anatomical indices of two pistachio cultivars under greenhouse conditions. *Journal of Water and Soil* 3: 1210-1223.
- Fahimi, F., Shamshiri, M. H. and Estaji, A. (2016) Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Scientia Horticulturae* 198: 44-51.
- Fuzy, A., Biro, B., Toth, T., Hildebrandt, U. and Bothe, H. (2008) Drought, but not salinity, determines the apparent effectiveness of halophytes colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Physiology* 165: 1181-1192.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Hajiboland, R., Aliasgharzadeh, N., Laiegh, S. F. and Poschenrieder, C. (2010) Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Plant and Soil* 331: 313-327.

- Hashem, A., Fathi, E., Abdulaziz, A. A., Alqarawi, A., Aldubise, A. and Egamberdieva, D. (2015) Arbuscular mycorrhizal fungi enhances salinity tolerance of *Panicum turgidum* Forssk by altering photosynthetic and antioxidant pathways. *Journal of Plant Interaction* 1: 230-242.
- Jogaiah, S., Ramteke, S. D., Sharma, J. and Upadhyay, A. K. (2014) Moisture and salinity stress induced changes in biochemical constituents and water relations of different grape rootstock cultivars. *International Journal of Agronomy* 2: 1-8.
- Kaiser, C., Kilburn, M. R., Clode, P. L., Fuchslueger, L., Koranda, M., Cliff, J. B., Solaiman, Z. M. and Murphy, D. V. (2015) Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: Mycorrhizal pathway vs direct root exudation. *New Phytology* 205: 1537-1551.
- Karimi, S., Rahemi, M., Maftoun, M., Eshghi, S. and Tavallali, V. (2009) Effect of long-term salinity on growth and performance of two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Australian Journal of Crop Science* 3: 1630-1639.
- Karimi, H. R., Ebadi, A., Zamani, Z. and Fatahi, R. (2011) Effect of water salinity on growth indices and physiological parameters in some pistachio rootstocks. *Journal of Plant Nutrition* 34: 935-944.
- Kumar, A., Sharma, S. and Mishra, S. (2010) Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. *Journal of Plant Growth Regulator* 29: 297-306.
- Kumar, A., Sharma, S., Mishra, S. and Dames, J. F. (2015) Arbuscular mycorrhizal inoculation improves growth and antioxidative response of *Jatropha curcas* (L.) under Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> salt stress. *Plant Biosystems* 149: 260-269.
- Li, J., Meng, B., Chai, H., Yang, X., Song, W., Li, S., Lu, A., Zhang, T. and Sun, W. (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in C3 (*Leymus chinensis*) and C4 (*Hemarthria altissima*) grasses via altering antioxidant enzyme activities and photosynthesis. *Frontiers in Plant Science* 10: 499.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology* 148: 350-380.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry* 193: 265-275.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2011) Alleviation of salt-induced ionic, osmotic and oxidative stresses in *Cajanus cajan* nodules by AM inoculation. *Plant Biosystem* 145: 88-97.
- Maya, M. A. and Matsubara, Y. (2013) Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and antioxidative activity in cyclamen under heat stress. *Mycorrhiza* 23: 381-390.
- Memon, S. A., Hou, X. and Wang, L. J. (2010) Morphological analysis of salt stress response of pak-Choi. *Electron. Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry* 9: 248-254.
- Motos, J. R. A., Ortuno, M. F., Vicente, A. B., Vivancos, P. D., Blanco, M. J. S. and Hernandez, J. A. (2017) Plant responses to salt stress. *Adaptive Mechanisms Agronomy* 7: 18.
- Parvaiz, A. and Satyawati, S. (2008) Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environment* 54: 89-99.
- Ranjbar, R., Lemeur, R. and Vandamme, P. (2000) Ecophysiological characteristic of two pistachio species (*Pistacia khinjuk* and *P. mutica*) in response to salinity. *Gent University* 53: 179-188.
- Rosendahl, C. and Rosendahl, S. (1991) Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi (*Glomus* spp.) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 31: 313-318.
- Rui, L., Wei, S. and Boping, C. (2009) Leaf anatomical changes under salt stress. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* 17: 169-175.
- Ruiz-Canales, A., Franco, J. A., Plana, V. and Abrisqueta, J. M. (2006) Root distribution in apricot orchard (*Prunus armeniaca* L. 'Bulida') under trickle irrigation. *International Society for Horticultural Science Acta Horticulturae* 717: 307-311.
- Ruiz-Lozano, J. M. (2003) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress: New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza* 13: 309-317.
- Sannazzaro, A. I., Echeverria, M., Alberto, E. O. and Ruiz, O. A. (2007) Menendez AB. Modulation of polyamine balance in *Lotus glaber* by salinity and arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiological and Biochemical* 45: 39-46.
- Schenck, N. C. and Perez, K. (1990) Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. Synerdistic Publishing, Gainesville, Florida, USA.
- Shamshiri, M. H. and Fattahi, M. (2016) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosystem II activity of three pistachio rootstocks under salt stress as probed by the OJIP-test. *Russian Journal of Plant Physiology* 63: 101-110.
- Sheng, M., Tang, M., Chan, H., Yang, B., Zhang, F. and Huang, Y. (2008) Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18: 287-296.
- Taffouo, V. D., Wamba, O. F., Yombi, E. G., Nono, V. and Akoe, A. (2009) Growth, yield, water status and ionic distribution response of three bambara groundnut (*Vigna subterranean* L. verdc.) landraces grown under saline conditions. *International Journal of Botany* 6: 53-58.



- Turoczy, Z., Petra, K. K., Torok, M., Cserha, A., Lendvai, D., Dudits, G. and Horvath, V. (2011) Overproduction of a rice aldo-keto reductase increases oxidative and heat stress tolerance by malondialdehyde and methylglyoxal detoxification. *Plant Molecular Biology* 75: 399-412.
- Vanhandel, E. (1968) Direct micro determination of sucrose. *Analytical Biochemistry* 22: 280-283.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidative systems in acid rane treated bean plants. *Plant Science* 51: 59-66.
- Woodward, A. J. and Benntt, I. J. (2005) The effect of salt stress and abscisic acid on proline production, chlorophyll content and growth of *in vitro* propagated shoot of *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Cell* 82: 189-200.
- Wu, Q. S. and Zou, Y. N. (2009) Arbuscular mycorrhizal symbiosis improves growth and root nutrient status of citrus subjected to salt stress. *Science Asia* 35: 388-391.
- 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 Environment* 56: 470-475.
- Yamauchi, Y. and Sugimoto, Y. (2010) Effect of protein modification by malondialdehyde on the interaction between the oxygen-evolving complex 33 kDa protein and photosystem II core proteins. *Plantarum* 231: 1077-1088.
- Zhao, G. Q., Zhao, Q., Zhou, X., Mattei, M. G. and De Crombrughe, B. (1993) TFEC, a basic helix-loop-helix protein, forms heterodimers with TFE3 and inhibits TFE3-dependent transcription activation. *Molocular and Cellular Biology* 13: 4505-4512.
- Zrig, A., Mohamed, H. B., Tounekti, T., Khemira, H., Serrano, M., Valeroc, D. and Vadel, A. M. (2016) Effect of rootstock on salinity tolerance of sweet almond (cv. Mazzetto). *South African Journal of Botany* 102: 50-59.
- Zrig, A., Tounekti, T., Vadel, A. M., Ben Mohamed, H., Valero, D., Serrano, M., Chtara, C. and Khemira, H. (2011) Possible involvement of polyphenols and polyamines in salt tolerance of almond rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 1313-1320.

## Influence of arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis with different pistachio rootstocks under salinity stress condition

Masoud Fattahi<sup>1</sup>, Abdolrahman Mohammadkhani<sup>1\*</sup>, Behroz Shiran<sup>2</sup>, Bahram Baninasab<sup>3</sup>,  
Rudabeh Ravash<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticulture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, <sup>2</sup> Department of Biotechnology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, <sup>3</sup> Department of Horticulture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran  
(Received: 14/12/2019, Accepted: 12/02/2020)

### Abstract

This study was designed to investigate the effect of Mycorrhiza symbiosis on some orphophysiological characteristics of four different pistachio rootstocks under salinity stress. This research was conducted in a completely randomized design with factorial arrangement with three factors. The factors included rootstocks at four levels (Badami-e Riz Zarand, Qazvini, Sarakhs, and UCB1), mycorrhiza at two levels (inoculated and non-inoculated plants) and irrigation water salinity at four levels (0.91, 7.57, 16.12 and 24.63 dS/m). Samples were taken from of 6-month-old plants that they were under salinity stress conditions for 60 days. Then morphophysiological indices such as leaf number, height, relative water content (RWC), water use efficiency (WUE), chlorophyll and carotenoid, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), malondialdehyde (MAD), sucrose and protein content were measured. The results showed that the leaf number of all rootstocks and height of all rootstocks except Sarakhs decreased and leaf abscission percentage increased. The RWC, WUE, a, b and total chlorophyll and leaf and root protein content in mycorrhizal plants were higher than non-mycorrhizal plants. In addition, leaf H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and root MAD concentration on inoculated plants were lower than non-inoculated plants. The lowest content of a, b and total chlorophyll, RWC and WUE and the highest content of leaf and root H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and leaf MAD were founded in Sarakhs rootstock, and there was no significant difference between Badami-e Riz zarand and UCB1 rootstocks in terms of total chlorophyll, leaf and root H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and leaf MAD. Salinity stress decreased total chlorophyll, RWC and leaf and root protein and increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MAD and sucrose in leaves and roots. Generally, in the present study, mycorrhiza improved rootstocks tolerance under salinity stress. The Sarakhs rootstock was more salinity-sensitive than other rootstocks and the Badami-e Riz zarand and UCB1 rootstock had almost the same response to salinity stress.

Keywords: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MAD, Pistachio, Rootstock, Salinity

Corresponding author, Email: mohammadkhani@sku.ac.ir