

اثر تلقیح قارچ مایکوریزا در کاهش خسارات ناشی از شوری در بنفشه ایرانی

مهرداد رسولی^{۱*}، علیرضا نوروزی شرف^۲

^۱گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشگاه سیدجمال الدین اسدآبادی، اسدآباد، ایران

^۲گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲)

چکیده

شوری خاک اغلب مانع از بهره‌وری گیاهان در محیط‌های طبیعی و کشاورزی می‌شود. همزیستی قارچ مایکوریزا آربسکولار به‌عنوان یک کود بیولوژیک می‌تواند باعث تحمل به شوری گیاهان گردد. این مطالعه به منظور بررسی تأثیر تلقیح قارچ مایکوریزا بر کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری در بنفشه ایرانی اجرا گردید. ارزیابی اثر متقابل همزیستی قارچ مایکوریزا در سه سطح (بدون همزیستی، *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices*) و تیمار تنش شوری در چهار سطح (شاهد، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) بر پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی بنفشه ایرانی به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در مقایسه با گیاهان غیرمایکوریزایی، گیاهان مایکوریزایی در حضور سطوح مختلف شوری دارای زیست‌توده اندام هوایی و ریشه، کاروتنوئید و کلونیزاسیون بالاتری بودند. بیشترین میزان کلروفیل کل (۱/۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۶۶/۵۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، فلاونوئید (۲۴۴/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، فنل (۲۸/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۱۰۳/۱۶ واحد) از تیمار تلقیح‌شده با قارچ گونه *G. mosseae* در غلظت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار حاصل شد. کمترین میزان نشت یونی در تیمار با قارچ گونه *G. mosseae* در شرایط بدون شوری (۱۸/۰۴ درصد) بدست آمد. نتایج پژوهش نشان داد تلقیح گیاهان میزبان با قارچ‌های مایکوریزا به ویژه گونه *G. mosseae* بر رشد و فیزیولوژی گیاه تأثیرگذار بود و اثر مثبت تلقیح گیاهان با قارچ، در شرایط تنش شوری گیاهان قابل توجه بود.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، رنگیزه‌های فتوسنتزی، نشت الکترولیت، همزیستی

مقدمه

یون، جوانه‌زنی بذر، تنظیم اسمزی، فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن می‌شود (Porcel et al., 2012). تنش شوری به ویژه در غلظت‌های بالاتر از آستانه تحمل، باعث آسیب به سلول‌ها از طریق تغییر در شرایط اسمزی، سمیت یونی و به دنبال آن تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن از قبیل پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل می‌شود (Garcia-Caparrós et al., 2019). برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القاشده از شوری، گیاهان از یک سازوکار پیچیده آنتی‌اکسیدانی

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی موجود در خاک و یا آب است که در زمین‌های خشک و نیمه‌خشک به‌طور جدی باعث محدودشدن رشدونمو گیاهان در آن اراضی می‌شود (Yaish and Kumar, 2015). استفاده از آب شور برای آبیاری و تأثیر تغییرات اقلیمی مسئله جدی‌تر و حائز اهمیتی است (Roy et al., 2014) که موجب افزایش شوری خاک و برهم زدن فعالیت‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مانند تعادل

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: rasouli@sjau.ac.ir

ضدویروس نقص ایمنی انسان (HIV) برای این گیاه گزارش شده است (Drozdova and Bubenchikov, 2004; Vukics et al., 2008). یکی از مشکلات تولید گیاهان جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌های آنها است، که این مسئله در تولید گیاهان دارویی از اهمیت بیشتری برخوردار است. روش‌های زیستی مبتنی بر استفاده از ظرفیت ریزجانداران مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، راهکار مؤثری در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی بیان شده است (Porter et al., 2020). همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریزا باعث جذب آب، جذب مواد غذایی و رشد تحت شرایط تنش محیطی می‌شود (Zhang et al., 2019). همزیستی گیاه و قارچ‌های همزیست خاکزی مانند میکوریزا، راهکار مفیدی در جهت افزایش مواد آلی خاک، تقویت جوامع میکروبی، افزایش کارایی مصرف نهاده‌های کشاورزی به ویژه آب آبیاری و در نهایت بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان محسوب می‌شود (Asghari, 2022). استفاده از قارچ میکوریزا، سرعت رشد گیاه را افزایش داده و بر تخصیص و انتقال مواد بین ریشه و ساقه اثر می‌گذارد، به طوری که از طریق افزایش جذب عناصر غذایی و انتقال آنها، افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی را موجب می‌شود. کاربرد قارچ میکوریزا، به احتمال زیاد میزان جذب نیتروژن را در گیاه افزایش داده است. این افزایش نیتروژن در گیاه سبب افزایش رشد، نمو و مقدار سبزینه‌گی برگ‌ها و متعاقب آن افزایش میزان فتوسنتز می‌گردد که در نهایت، افزایش عملکرد گیاه را به همراه دارد (Sohrabi et al., 2019; Xie et al., 2022). در گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) و گل استکانی (*Campanula rotundifolia* L.) نیز تلقیح با قارچ میکوریزا منجر به افزایش کلروفیل کل، فلاونوئید کل و رنگیزه‌های گیاه شد (Bennett and Meek, 2020). در این راستا نتایج تحقیقی نشان داد که گیاهان جعفری (*Tagetes erecta* L.) میکوریزی شده با قارچ (*Glomus constrictum* Trappe) بهتر از گیاهان شاهد توانستند خشکی را تحمل کنند، همزیستی باعث افزایش در میزان رشد، رنگیزه‌ها و جذب فسفر و بهبود کیفیت گل در شرایط تنش

استفاده می‌کنند که شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند کاروتنوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (AXP)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR)، کاتالاز (CAT) و غیره هستند. در پاسخ گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) به افزایش تنش شوری مشاهده شد که همبستگی مثبت بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پرولین با صفات رشدی شامل طول ریشه، طول ساقه و وزن خشک وجود داشت که می‌توان بیان کرد افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و POD سبب جلوگیری از کاهش وزن خشک و افزایش طول ریشه و طول ساقه در این گیاه شده است (Noroozisharaf and Rasouli, 2021). طبق نتایج بدست آمده در گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.)، با افزایش شوری، میزان کلروفیل کل کاهش و میزان آنتی‌اکسیدان کل و پراکسید هیدروژن افزایش یافت (Rasouli and Noroozisharaf, 2022). اعمال تنش شوری در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) باعث کاهش نامحلول ریشه، افزایش قند محلول و پرولین در جهت کاهش اثرات سوء تنش شد (Nikee et al., 2014). تحقیقات نشان داد در شرایط تنش شوری، محتوای نسبی آب و رشد اندام هوایی گیاهان کاهش می‌یابد. همچنین در شرایط تنش شوری، عواملی که موجب تجمع میزان پنتاسیم در برگ گیاهان می‌گردد نقش مهمی در تنظیم اسمزی در طی توسعه سلولی و فعالیت‌های روزنه‌ای گیاه دارد و باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش می‌شود (Asrar and Elhindi, 2011; Rasouli et al., 2018).

در حال حاضر با افزایش وسعت زمین‌های در معرض تنش شوری و خشکی در ایران و جهان و با در نظر گرفتن روند روبه رشد جمعیت، همراه با کاهش و تخریب منابع آب و خاک، پژوهش در زمینه گیاهان مقاوم به شرایط نامساعد محیطی اهمیت دارد (Fallahi et al., 2009). گیاه بنفشه با نام علمی *Viola odorata* L. متعلق به تیره ویولاسه (Violaceae) از گل‌های زینتی ایران است و تا کنون خواص دارویی زیادی از جمله اثرات ضدالتهابی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ادرار آوری و خواب‌آوری، تسکین‌دهنده، ضد مسمومیت و

شوری شد (Asrar and Elhindi, 2011). بنابراین پژوهش حاضر با هدف تعیین گونه مطلوب و بررسی تأثیر همزیستی گونه‌های قارچ *G. intraradices* و *G. mosseae* بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه بنفشه ایرانی در معرض تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۲ انجام پذیرفت. تیمارها شامل چهار سطح شوری (شاهد، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار)، قارچ مایکوریزا (*Glomus intraradices mosseae* و شاهد) که از کلینیک گیاهپزشکی ارگانیک واقع در شهر همدان به ترتیب با کد شناسه BEG 25 و DAOM197198 FR750067_R تهیه شد. در این آزمایش گلدان‌هایی که بدون تلقیح قارچ مایکوریزا و شوری صفر میلی‌مولار بودند، به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند.

بذور گیاه بنفشه ایرانی که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد در داخل پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی در دمای اتاق و نور روزانه کشت شدند. برای تلقیح قارچ مایکوریزا با بذور ابتدا یک محلول ۲۰٪ ساکارز تهیه و روی بذور اسپری شد. سپس بذور با قارچ‌ها به روش بذر مال آغشته شد (Majidi and Rejali, 2023). برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. تمام خاک مورد استفاده با حرارت ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی شد. نشاهای یک هفته‌ای به داخل گلدان‌های با قطر ۷ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر حاوی خاک اتوکلاو شده انتقال داده و در هر گلدان هشت گیاه کشت شد. از زمان کشت گیاهان با آب شهری (۰/۶۴ دسی‌زیمنس بر متر) تا زمان رسیدن گیاهان به مرحله شش تا هشت برگی آبیاری گردیدند. جهت اعمال تنش شوری از کلرید سدیم استفاده شد. برای این منظور pH توسط pH متر (۷/۱) و هدایت الکتریکی توسط EC متر (شاهد، ۱/۶۲، ۹۳ و ۲/۵۴۹ دسی‌زیمنس بر مترمربع) اندازه‌گیری شد. گلدان‌ها در شرایط دمای 21 ± 2 و روشنایی $280 \mu\text{mol PAR photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ در ۱۲/۱۲ ساعت شبانه‌روز

نگهداری شدند. گلدان‌ها به صورت هفتگی با میزان ۲۰۰ میلی‌لیتر آبیاری و سپس ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی اندام هوایی: جهت اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی، بافت‌های تازه بلافاصله پس از برداشت وزن شدند. وزن خشک اندام هوایی بعد از ۴۸ ساعت خشک‌شدن در آن ۷۵ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد. طول اندام هوایی یا ارتفاع کانوبی قبل از برداشت نهایی محاسبه شد. جهت این کار یک طرف خط‌کش را با سطح خاک تماس کرده و میزان رشد برگ از میانگین ده نقطه تصادفی از فاصله بین سطح خاک تا سطح تماس بر نوک اندام هوایی با استفاده از خط‌کش میلی‌متری به دست آمد.

اندازه‌گیری صفات ریشه: بعد از برداشت اندام هوایی گیاه، ریشه‌ها نیز به آرامی از خاک درون نایلون‌ها واقع در گلدان‌ها خارج شدند و پس از شستشو میزان طول ریشه به روش اندازه‌گیری مستقیم با دقت یک میلی‌متر محاسبه شد. همچنین پس از اتمام آزمایش ریشه‌ها جدا و شستشو داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک و وزن خشک آنها محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان کلونیزاسیون قارچ: برای این منظور از ریشه‌های نمونه برداری شده میزان دو گرم ریشه با آب شسته شد و در محلول اتانول ۵۰٪ نگهداری شد. سپس به منظور رنگ‌گیری، ریشه‌ها در محلول ۱۰٪ هیدروکسید پتاسیم (KOH) به مدت سه ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن ریشه‌ها در محلول اسید کلریدریک (HCL) ۰/۱ مولار قرار گرفت. برای رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها به مدت ۱۲۰ ساعت در محلول تریپان بلو (۰/۱ درصد) در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند (Phillips and Hayman, 1970). سپس مجموع طول ریشه و درصد کلونیزاسیون ریشه با استفاده از میکروسکوپ تشریحی (binocular loupe) و روش تقاطع با خطوط شبکه طبق روش Tennant (۱۹۷۵) تعیین شد.

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید: برای اندازه‌گیری

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

منگنز	مس	آهن	روی	منیزیم	فسفر	پتاسیم	ECE	pH	بافت خاک شنی لومی
							(dSm ⁻¹)		
۴۱/۷	۱/۰۴	۱۱/۵۸	۱/۵۶	۲۱۰/۱۱	۱۱	۴۷۰	۰/۶۴	۶/۸	

وزن تر محاسبه شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین متانولی در غلظت‌های ۱۰۰۰-۲۵۰ $\mu\text{g. ml}^{-1}$ تهیه شد و منحنی با نرم‌افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۰) رسم شد. سپس معادله خط $y=bx+a$ بدست آمد. جذب‌های خوانده‌شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت بدست آمد.

اندازه‌گیری فنل کل: برای اندازه‌گیری فنل کل ابتدا نیم گرم از بافت تر برگ در چهار میلی‌لیتر متانول سائیده شد تا محلول همگنی به دست آید. پس از ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ با ۶۰۰۰ دور بر دقیقه، ۳۰ میکرولیتر از عصاره متانولی شفاف رویی با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰ درصد معرف فولین ترکیب شد و پس از پنج دقیقه مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم هفت درصد به آن اضافه شد. محلول به مدت پنج دقیقه در محلی تاریک قرار گرفت و سپس میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار فنل کل با استفاده از نمودار استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر وزن تر به دست آمد (Veliloglu *et al.*, 1998).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl): ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی (Scavenging effect) رادیکال آزاد DPPH تعیین شد (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998). برای این اندازه‌گیری نیم گرم از بافت در داخل هاون چینی توسط ازت مایع خرد شده و به آن ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ اضافه و به خوبی ساییده شد. محلول به دست آمده داخل بشرهای کوچک از صافی کاغذی عبور داده و ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به دست آمده همراه ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر درون میکروتیوب ریخته و درب آن محکم شد سپس به مدت پنج دقیقه با سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. ۱۰۰

کلروفیل مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ گیاه با یک میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و در نهایت عصاره استونی شفاف را جدا کرده و پس از نیم ساعت تاریکی کلروفیل با استفاده از روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Itd T80 + UV/VIS; PG Instruments, Leicestershire, انگلستان) و در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت. برای تعیین مقدار کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل و کاروتنوئید از روابط زیر (۱، ۲، ۳ و ۴) استفاده شد (Strain and Svec, 1966).

$$\text{Chl } a = 12.25A_{663} - 2.79A_{645} \quad (1)$$

$$\text{Chl } b = 21.50A_{645} - 5.10A_{663} \quad (2)$$

$$\text{Chl } a+b = 7.15A_{663} + 18.71A_{645} \quad (3)$$

$$\text{Car} = (1000A_{470} - 1.8\text{Chl } a - 85.02\text{Chl } b)/198 \quad (4)$$

در روابط بالا A_{663} و A_{645} و A_{470} به ترتیب جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ هستند. Chl : کلروفیل نمونه و واحد آن بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد (Chang *et al.*, 2002). جهت تهیه عصاره متانولی از یک گرم بافت تر فریز شده برگ برای هر نمونه استفاده شد. نیم میلی‌لیتر از هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی، به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰٪ متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (۱ مولار) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و مقدار فلاونوئید کل برای هر یک از عصاره‌ها به صورت میلی‌گرم کوئرستین بر گرم

محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD):

فعالیت این آنزیم بر مبنای قابلیت آن در بازدارندگی واکنش احیایی فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول واکنش شامل EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و متیونین ۱۹۵ میلی‌مولار و نیتروبلوتترازولیوم ۱۱/۲۵ میلی‌مولار و ریبوفلاوین ۶۰ میلی‌مولار بود. محلول واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در محفظه نوری با لامپ فلئورسنت قرار گرفت و جذب آن با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد از آنزیم SOD به آنزیمی گفته می‌شود که سبب مهار ۵۰ درصد NBT به فورمازان شود و واحد آن به ازای هر میلی‌گرم پروتئین (Unit⁻¹mg) محاسبه می‌شود (Giannopolitis and Ries, 1977).

اندازه‌گیری نشت یونی برگ‌ها (EL) (Electrolyte leakage):

نمونه‌های برگ‌ها سه بار با آب دیونیزه شستشو و سپس قطعات نیم سانتی‌متری جدا شده و داخل لوله آزمایش با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر روی شیکر در دمای اتاق قرار داده و هدایت الکتریکی اولیه (Ci) اندازه‌گیری شد. لوله آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و مجدداً هدایت الکتریکی سلول‌های مرده [C_{max}] اندازه‌گیری شد (Blum, 1988). میزان نشت یونی از فرمول زیر (۶) محاسبه شد.

$$EL(\%) = (Ci / C_{max}) \times 100 \quad (6)$$

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) و رسم نمودارها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excell انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

طبق جدول تجزیه واریانس اثر متقابل شوری و کاربرد قارچ بر وزن خشک اندام هوایی، آنتی‌اکسیدان کل، فلاونوئید و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح پنج درصد و برای وزن

میکرولیتر از مایع رویی برداشته و با ۲۹۰۰ میکرولیتر محلول DPPH آماده‌شده درون شیشه آزمایش به سرعت به هم زده شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر با دور ۱۲۰ دور بر دقیقه در محیط کاملاً تاریک در دمای اتاق تا رسیدن محلول به حالت یکنواخت نگهداری شد. کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر تعیین شد. سپس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH از طریق رابطه (۵) زیر محاسبه گردید.

$$\%DPPHsc = (Acont - Asamp) \times 100 / Acont \quad (5)$$

%DPPHsc = درصد بازدارندگی، Asamp = میزان جذب

(نمونه + DPPH) و Acont = میزان جذب DPPH.

تمامی آزمایش‌ها در دمای معمولی اتاق صورت گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX):

جهت استخراج پروتئین کل، نیم گرم از بافت تازه برگ در یک میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷ که حاوی پلی‌وینیل پیرولیدین (Polyvinylpyrrolidone) یک درصد و EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) یک میلی‌مولار بود در هاون با ازت مایع ساییده شد. تمامی مراحل استخراج روی یخ انجام پذیرفت. سپس مواد عصاره‌ای فوق به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. در نهایت محلول شفاف رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم از طریق اندازه‌گیری اکسیدشدن آسکوربات، توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر برای مدت زمان یک دقیقه انجام شد. بلانک با حجم ۵۰۰ میکرولیتر حاوی ۴۹۰ میکرولیتر از بافر APX و ۱۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، و نمونه با حجم ۵۰۰ میکرولیتر حاوی ۴۹۰ میکرولیتر از بافر APX و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. پس از بهم زدن (یعنی با گذاشتن پارافیلیم روی کوط، یک‌بار کوط سر و ته شد) سرعت واکنش آنزیمی به صورت تغییرات جذب بر زمان (OD/min) در طول موج ۲۹۰ نانومتر برای یک دقیقه ثبت شد. سپس تغییرات جذب بر زمان (OD/min) به ثابت $2/8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ تقسیم و فعالیت آنزیمی

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تلقیح قارچ و تنش شوری بر خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی بنفشه ایرانی

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
کلروفیل کل	کلونیزاسیون	وزن خشک ریشه	طول ریشه	ارتفاع گیاه	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی		
۰/۱۸**	۷۰۰۰/۶۷**	۰/۰۰۴**	۶۴/۸۹**	۱۰/۰۳*	۰/۰۲۴*	۱/۶۲**	۲	قارچ
۰/۰۵*	۲۴۸/۶۴**	۰/۰۰۱**	۱۵/۹۹**	۷/۲۱*	۰/۰۱۵ ^{ns}	۱/۷۷**	۳	شوری
۰/۰۷**	۴۲/۶۴**	۰/۰۰۱**	۳/۹۸*	۱۴/۲۶**	۰/۰۱۷*	۰/۴۴**	۶	قارچ × شوری
۰/۰۱	۹/۳۵	۰/۰۰۰۱	۱/۱۵	۲/۰۹	۰/۰۰۵	۰/۰۵	۲۴	خطا
۹/۲۶	۱۰/۳۴	۹/۱۹	۸/۵۵	۱۲/۲۰	۱۴/۸۰	۱۲/۴۷	-	ضریب تغییرات (%)

*, ** و ^{ns}: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

ادامه جدول ۲-

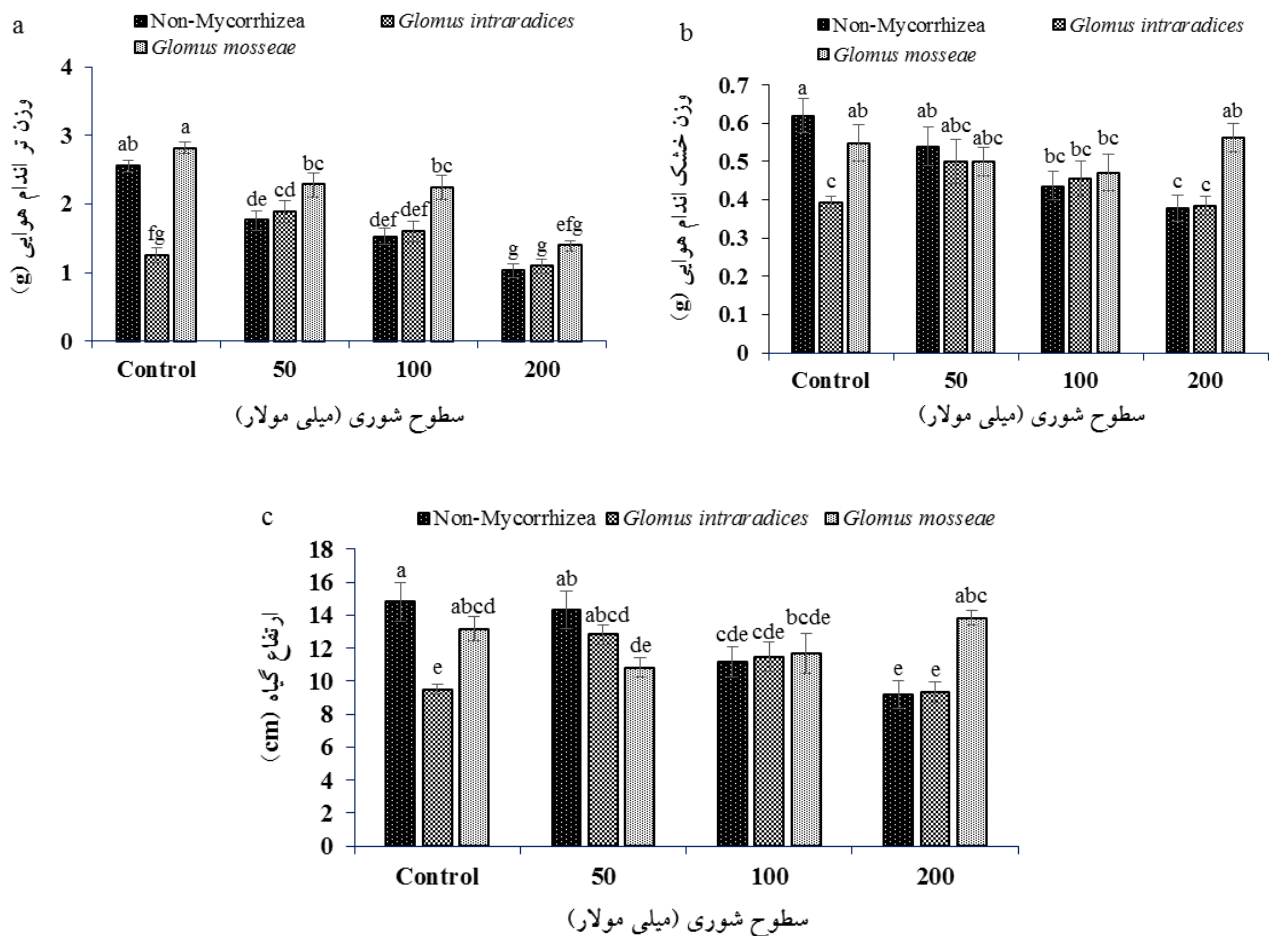
میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
نشت یونی	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	آنتی اکسیدان کل	فنل کل	فلاونوئید	کاروتنوئید		
۱۵۰/۹۵**	۸۴۲۸/۴۶**	۲۶۲/۶۶*	۲۴۴/۳۱**	۱۵۳/۶۵**	۲۴۳۹/۳۲**	۰/۰۰۵**	۲	قارچ
۳۳۲/۷۰**	۱۱۵۴۵/۰۴**	۲۳۱/۸۵*	۱۱۸/۶۱**	۴۷/۳۵/**	۳۲۲۱/۹۷**	۰/۰۰۴*	۳	شوری
۱۳/۵۹**	۱۴۳۳/۰۹*	۱۸۵/۸۸*	۶۴/۶۰*	۲۲/۰۶**	۵۷۰/۱۴*	۰/۰۰۱ ^{ns}	۶	قارچ × شوری
۳/۳۱	۳۹۴/۷۸	۶۵/۸۰	۲۱/۵	۵/۸۹	۲۲۴/۴۷	۰/۰۰۰۱	۲۴	خطا
۶/۹۱	۹/۴۹	۹/۸۶	۸/۶۸	۱۲/۸۹	۷/۱۹	۱۱/۹۳	-	ضریب تغییرات (%)

*, ** و ^{ns}: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

تمامی تیمارهای شوری و شاهد کاربرد قارچ میکوریزا گونه *G. mosseae* باعث بهبود وزن تر اندام هوایی شد و حتی در بیشترین سطح شوری (۲۰۰ میلی مولار) به میزان ۲۶/۰۴ درصد وزن تر گیاه را نسبت به تیمار بدون تلقیح قارچ بهبود بخشید که البته تفاوت معنی داری در این تیمار مشاهده نشد (شکل ۱ a). بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان وزن خشک اندام هوایی تیمار اثر متقابل بدون تلقیح قارچ با تیمار بدون شوری ۰/۶۲ گرم بود و همچنین در تیمار عدم کاربرد قارچ با شوری ۲۰۰ میلی مولار میزان وزن خشک اندام هوایی ۰/۳۸ گرم بود که تفاوتی ۳۹/۱۸ درصدی را نشان می‌دهد. میزان بهبود شرایط رشد در شاخص وزن خشک اندام هوایی در بیشترین سطح شوری بین تیمار بدون تلقیح قارچ و تلقیح

تر اندام هوایی، ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن خشک ریشه، کلونیزاسیون، کلروفیل کل، فنل کل، آنزیم آسکوربات پراکسیداز و نشت یونی در سطح یک درصد معنی دار شد. اثر ساده شوری بر کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی دار بود. اثر ساده کاربرد قارچ بر کاروتنوئید در سطح پنج درصد معنی دار بود (جدول ۲).

شاخص‌های رشدی اندام هوایی: بر اساس نتایج مقایسه میانگین، با افزایش سطوح شوری میزان وزن تر اندام هوایی کاهش یافت ولی اثرات همزیستی قارچ میکوریزا تا حدودی باعث بهبود وضعیت وزن تر اندام هوایی شد و بیشترین درصد وزن تر در اندام هوایی (۲/۸۱ گرم) در سطح بدون تنش شوری و قارچ میکوریزا گونه *G. mosseae* مشاهده شد. در



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ میکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر شاخص‌های رشدی اندام هوایی در بنفشه ایرانی

داشت و به ترتیب ۵۱/۱۱، ۳۶/۴۹ و ۳۵/۹۵ درصد وزن تر، وزن خشک و ارتفاع گیاه را کاهش داد.

قارچ‌های میکوریزا حتی زمانی که میزان همزیستی آنها مشابه باشد از نظر فیزیولوژیکی در توانایی آنها از نظر جذب عناصر غذایی و بهبود رشد گیاهان با همدیگر تفاوت دارند. قارچ‌های میکوریزا از طریق افزایش هورمون آبسزیک اسید روی فعالیت روزنه‌ها اثرگذار است و باعث بسته‌شدن روزنه‌ها می‌شوند (Shahabivand et al., 2012). احتمالاً کاهش معنی‌دار در عملکرد زیست‌توده در تلقیح قارچ با گونه *G. intraradices* به‌علت رفتارهای متفاوت گیاهان به تلقیح گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا باشد، چرا که بسته‌بودن روزنه‌ها باعث کاهش فتوسنتز جاری گیاه می‌گردد و یا از طریق افزایش مقدار اتیلن، باعث تحریک پیری و افزایش

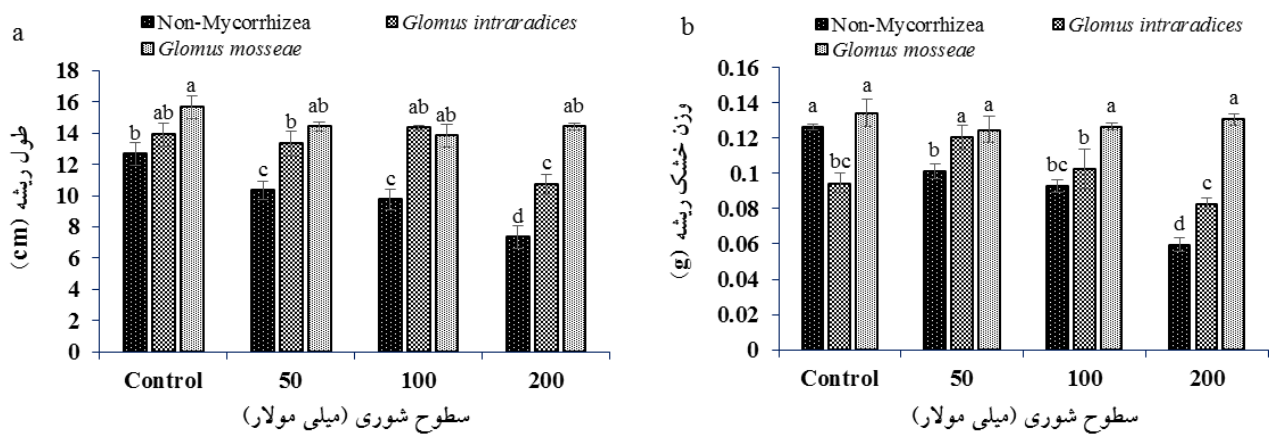
قارچ با گونه *G. mosseae* ۳۲/۸۱ درصد بود که نشان‌دهنده تأثیر مثبت این گونه قارچی در شرایط تنش شوری است (شکل ۱ b). میزان ارتفاع رشد ۹/۱۷ سانتی‌متر و ۱۴/۸۳ سانتی‌متر به‌ترتیب از تیمار بدون کاربرد قارچ در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار شوری و تیمار بدون تلقیح قارچ در غلظت شوری شاهد به دست آمد. تیمار تلقیح قارچ گونه *G. mosseae* در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار شوری تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون تلقیح قارچ و تلقیح قارچ با گونه *G. intraradices* نشان داد و بهبود ارتفاع رشد ۳۳/۷۳ درصدی را نسبت به عدم تلقیح قارچ نشان داد (شکل ۱ c). در تمامی سطوح شوری هر دو گونه قارچ باعث بهبود رشد اندام هوایی شد ولی در شرایط تیمار بدون شوری واکنش گونه‌های قارچ متفاوت بود و گونه *G. intraradices* اثر منفی بر شاخص‌های رشدی اندام هوایی

طویل شدن و تمایز سلولی شده و در نتیجه کوتاه تر شدن طول ساقه می‌گردد (Kumar et al., 2003). محققان گزارش نمودند که قارچ‌های مایکوریزایی با تغییرات هورمونی و ترشح فاکتورهای محرک رشد و افزایش جذب عناصر غذایی می‌توانند ارتفاع و رشد گیاهان را در شرایط تنش شوری افزایش دهد (Copetta et al., 2006).

شاخص‌های رشدی ریشه: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد افزایش سطوح شوری باعث کاهش طول ریشه گردید. کمترین میزان طول ریشه (۷/۳۳ سانتی‌متر) در تیمار بدون کاربرد قارچ در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار شوری به دست آمد. در بالاترین سطح شوری، تیمار تلقیح قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices* به ترتیب ۴۹/۱۳ و ۳۱/۷۸ درصد طول ریشه را نسبت به شاهد افزایش داد و باعث بهبود رشد طول ریشه در شرایط تنش شد (شکل ۲ a). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد. کمترین میزان وزن خشک ریشه (۰/۰۶ گرم) در تیمار سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در شرایط بدون تلقیح قارچ به دست آمد. با افزایش سطوح شوری میزان وزن خشک ریشه کاهش معناداری پیدا کرد ولی تلقیح گیاهان با هر دو گونه قارچ باعث بهبود معناداری در ریشه گردید و در تیمار قارچ *G. mosseae* در مقایسه با شرایط بدون تلقیح و بالاترین شوری توانست ۵۴/۵۰ درصد این صفت را افزایش دهد (شکل ۲ b). یکی از راهکارهایی که گیاهان برای اجتناب از شرایط نامساعد خاک مانند کمبود آب و مواد غذایی به کار می‌برند، افزایش سطح تماس ریشه توسط مایکوریزاست (Turk et al., 2006). در مطالعه‌ای که روی گیاه همیشه‌بهار تحت شرایط تنش خشکی انجام شد مشاهده شد که تلقیح گیاه با مایکوریزای در شرایط اعمال تنش، باعث افزایش میزان وزن خشک گیاه در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح مایکوریزایی گردید که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Asrar and Elhindi, 2011).

میزان کلونیزاسیون قارچ: مقایسه میانگین اثر شوری بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه بنفشه ایرانی نشان داد با افزایش سطح شوری در ۵۰ میلی‌مولار، درصد کلونیزاسیون در هر دو گونه قارچ افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد

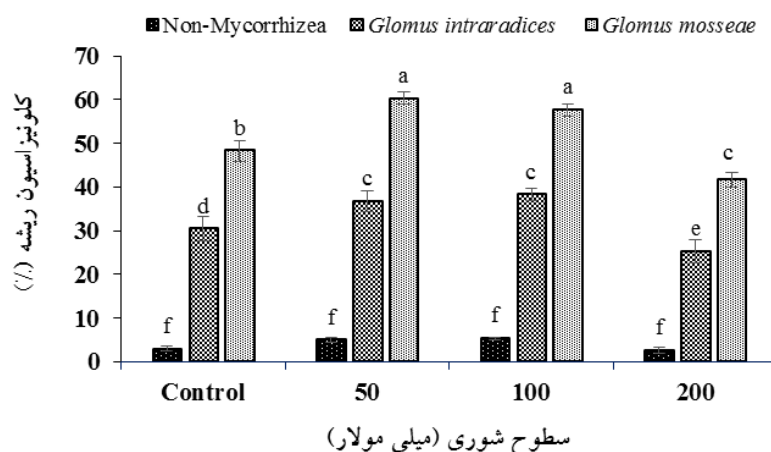
حساسیت گیاه به این تنظیم‌کننده‌های رشد می‌گردد (Sabagh et al., 2021). با تلقیح ریشه گیاهان توسط قارچ، جذب آب و مواد غذایی به‌علت افزایش سطح ریشه افزایش می‌یابد که در نتیجه منجر به افزایش وزن تر و خشک گیاه می‌گردد. تنش شوری به نوعی باعث ایجاد تنش خشکی در گیاه می‌گردد که این به‌علت جلوگیری از جذب آب توسط گیاه است، به‌همین دلیل پتانسیل آب جهت آماس سلول‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه وزن گیاه کم می‌شود. علت کاهش وزن و کندی رشد گیاهان را در غلظت‌های بالای نمک می‌توان به مسمومیت گیاه توسط یون‌های سدیم و کلر نسبت داد که فعالیت فتوسنتزی گیاه را مختل کرده و بدین ترتیب، مواد غذایی لازم برای رشد و نمو سلول‌ها فراهم نمی‌گردد (Safdar et al., 2019). محققان با بررسی روی گیاه همیشه‌بهار نیز نشان دادند با افزایش سطح شوری وزن تر و خشک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ولی کاربرد قارچ مایکوریزای بر ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه اثرات مثبتی داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Mbadi et al., 2015). دلیل کاهش وزن اندام هوایی را در شرایط شوری را کاهش فتوسنتز در اثر کاهش سطح برگ، کاهش هدایت روزنه‌ای، تجمع کلر و سدیم در اندام‌ها و یا تخریب ساختمان کلروپلاست گزارش کرده‌اند. گیاهان تلقیح‌شده با قارچ مایکوریزای در شرایط تنش شوری، جذب یون پتاسیم بیشتری دارند که این امر منجر به جلوگیری از انتقال یون سدیم به بافت‌های ساقه می‌شود. همچنین پتاسیم نقش مهمی در سازوکار گیاهان از جمله فعال‌شدن برخی آنزیم‌ها، حرکات روزنه‌ای و ساخت پروتئین‌ها دارد (Evelin et al., 2009). استفاده از قارچ مایکوریزای توانست اثر سوء تنش شوری را کاهش دهد، هر چند تأثیر مساعدت قارچ مایکوریزای در سطوح بالای شوری به‌طور معنی‌داری بیشتر از سطح پایین شوری بود همچنین نوع قارچ دارای اهمیت است به‌طوری‌که وزن خشک اندام هوایی در تلقیح با قارچ *G. mosseae* در مقایسه با *G. intraradices* بیشتر و از برتری نسبی بالاتری نیز برخوردار بود (شکل ۱ b). شوری از طریق افزایش فشار اسمزی محلول خاک منجر به کاهش جذب آب و در نتیجه کاهش تقسیم،



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر شاخص‌های رشدی ریشه در بنفشه ایرانی

تلقیح گیاه با قارچ مایکوریزا موجب بهبود وضعیت تغذیه‌ای، از جمله افزایش غلظت پتاسیم و فسفر در بافت برگ می‌شود (Sheng *et al.*, 2008). بهبود تغذیه فسفری گیاه (تأثیر غیرمستقیم قارچ در کاهش تنش شوری) نیز منجر به بهبود مؤلفه‌های رشد و عملکردی گیاه میزبان، تحمل بیشتر به تنش شوری می‌شود (Nadian *et al.*, 2013). همچنین همزیستی قارچ مایکوریزا با ریشه سبب افزایش فتوسنتز شده که در نتیجه آن تولید فرآورده بیشتر در گیاه می‌گردد (Farahani *et al.*, 2009). تنش شوری با کاهش جذب آب به دلیل افزایش فشار اسمزی خاک و تأثیر مستقیم بر تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها موجب کاهش وزن خشک گیاه می‌شود و استفاده از قارچ مایکوریزا با داشتن شبکه هیفی گسترده و افزایش سطح و سرعت جذب ریشه، کارایی گیاهان را در جذب آب و عناصر غذایی نظیر منیزیم، مس، روی و نیتروژن را افزایش می‌دهد (Smith and Read, 2010). که این امر توانسته است تا حدودی این کاهش وزن خشک را جبران نماید که با نتایج پژوهش‌های دیگر در گیاه سورگوم تطابق دارد (Netondo *et al.*, 2004). بر همین اساس در محیط شور وابستگی مایکوریزایی گیاهان افزایش می‌یابد. بنابراین، گیاهان تلقیح شده با مایکوریزا دارای وزن تر و خشک بیشتر و یا مقاومت بیشتری در شرایط شوری هستند. همچنین طبق مطالعات محققین از آنجایی که آغستگی مایکوریزایی با میزان جذب فسفر همبستگی مثبتی دارد، منطقی به نظر می‌رسد که با افزایش

داشت. در تیمار شوری ۲۰۰ میلی‌مولار به‌طور معنی‌داری کاهش درصد کلونیزاسیون نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه در تیمار با شوری غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در کاربرد قارچ گونه *G. mosseae* (۶۰/۳۳ و ۵۷/۶۷ درصد) و کمترین درصد کلونیزاسیون ریشه در تیمار با سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در کاربرد قارچ گونه *G. intraradices* (۲۵/۳۳ درصد) به‌دست آمد (شکل ۳). مطالعات مختلف نشان می‌دهند که تلقیح گونه‌های مختلف مرکبات با قارچ‌های مایکوریزایی مختلف می‌تواند درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه را افزایش دهد (Pixao *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008). گزارش شده است که قارچ مایکوریزا خود نیز تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد و در این شرایط میزان کلونیزاسیون مایکوریزایی گیاه کم شده و قارچ تمایل بیشتری به اسپورزایی دارد. احتمالاً کاهش درصد کلونیزاسیون در اثر افزایش شوری، باعث کاهش تأثیر قارچ در تنش شوری نیز می‌گردد. قارچ‌های مایکوریزا با انجام فرایندهای مختلف آنزیمی، هورمونی و بیوشیمیایی قادر است مؤلفه‌های رشدی، فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای گیاه میزبان را بهبود بخشد. شوری بسیاری از فرایندهای حیاتی گیاه مانند فتوسنتز، سنتز پروتئین، فعالیت آنزیمی، هدایت آبی و فرایندهای جذبی گیاه را مختل می‌سازد (Karami *et al.*, 2018). برقراری روابط همزیستی گیاه و قارچ مایکوریزا قادر است به میزان قابل توجهی بسیاری از این اختلالات را در گیاه میزبان کاهش دهد.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ میکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر کلونیزاسیون در بنفشه ایرانی

آغستگی میکوریزا ریشه گیاه و تأمین فسفر مناسب، رشد ریشه افزایش یابد.

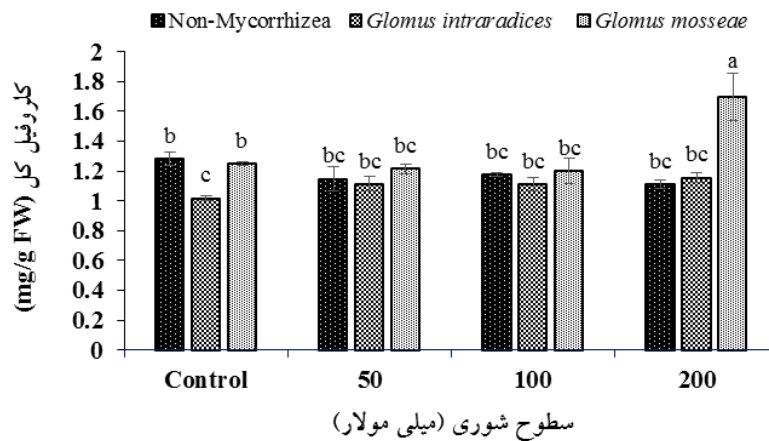
اساس تحمل بالاتر گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط شوری را می‌توان به جلوگیری از جذب سدیم از خاک یا ذخیره سدیم در هیف‌های درون سلولی قارچ در ریشه نسبت داد (Hammer et al., 2011). همچنین قارچ‌های میکوریزا با کاهش جذب سدیم و کلر با انتقال کمتر آنها به اندام‌های هوایی همانند یک بهبوددهنده زیستی در خاک‌های شور عمل می‌کنند. محققین بیان کردند به احتمال زیاد همبستگی طول ریشه با ارتفاع بوته، به جذب بالاتر عناصر از خاک مرتبط است که به علت وجود شبکه هیفی ظریف و گسترده قارچ‌های میکوریزایی است. این شبکه باعث اتصال ذرات خاک به هم شده و خاکدانه‌های پایدار را ایجاد می‌کنند و به این طریق گسترش ریشه را به اعماق خاک افزایش می‌دهد (Podila, 2007).

میزان کلروفیل و کاروتنوئید: نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین میزان کلروفیل کل (۱/۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار تلقیح شده با قارچ گونه *G. mosseae* در غلظت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار حاصل شد که بهبود ۳۴/۶۴ درصدی را نسبت به تیمار عدم تلقیح قارچ در همین سطح شوری نشان داد. کمترین درصد میزان کلروفیل کل (۱/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار کاربرد قارچ گونه *G. intraradices* در سطح شوری شاهد به‌دست آمد (شکل ۴). بیشترین میزان کاروتنوئید مربوط به تیمار قارچ گونه *G. mosseae* (۰/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود و کمترین میزان کاروتنوئید مربوط به تیمار عدم کاربرد قارچ بود که با تیمار گونه *G. intraradices* تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۵ a). با افزایش غلظت شوری میزان کاروتنوئید افزایش پیدا کرد و کمترین درصد میزان کاروتنوئید (۰/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح شوری شاهد مشاهده شد که نسبت به تیمار سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش ۱۷/۶۲ درصدی را نشان داد و تفاوت معنی‌داری با سطوح شوری دیگر نداشت (شکل ۵ b). تنش‌های محیطی باعث کاهش پتانسیل آب برگ، افزایش مقدار برخی از هورمون‌ها نظیر اتیلن و اسید آبسازیک، همچنین افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و یون‌های سمی از جمله یون سدیم می‌گردد (Pessarakli, 2019). به واسطه تجمع یون‌های سمی در بافت برگ، فعالیت کلروفیل‌ها به‌طور ناگهانی زیاد شده و موجب تخریب کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود (Loggini et al., 1999). در چنین شرایطی کاربرد قارچ میکوریزا به دلیل ممانعت از تجمع سدیم در برگ نسبت به سایر تیمارها و به تعویق انداختن اثرات منفی غیرروزی‌ای در نتیجه افزایش غلظت سدیم که موجب تخریب کلروفیل می‌گردد، می‌تواند در ایجاد تحمل به شوری نقش داشته باشد (Parvin et al., 2020). از طرفی، طی تنش شوری

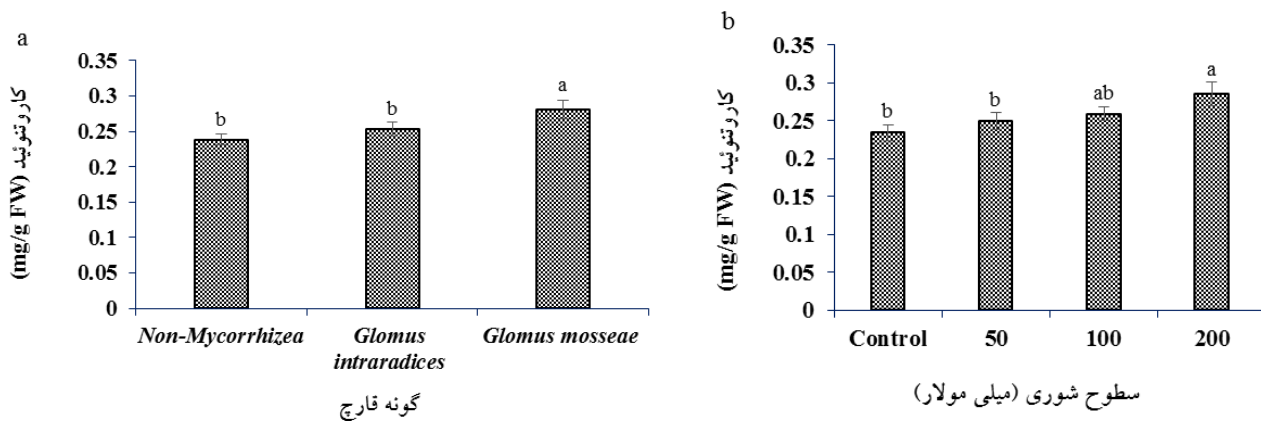
ریشه افزایش یابد.

اساس تحمل بالاتر گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط شوری را می‌توان به جلوگیری از جذب سدیم از خاک یا ذخیره سدیم در هیف‌های درون سلولی قارچ در ریشه نسبت داد (Hammer et al., 2011). همچنین قارچ‌های میکوریزا با کاهش جذب سدیم و کلر با انتقال کمتر آنها به اندام‌های هوایی همانند یک بهبوددهنده زیستی در خاک‌های شور عمل می‌کنند. محققین بیان کردند به احتمال زیاد همبستگی طول ریشه با ارتفاع بوته، به جذب بالاتر عناصر از خاک مرتبط است که به علت وجود شبکه هیفی ظریف و گسترده قارچ‌های میکوریزایی است. این شبکه باعث اتصال ذرات خاک به هم شده و خاکدانه‌های پایدار را ایجاد می‌کنند و به این طریق گسترش ریشه را به اعماق خاک افزایش می‌دهد (Podila, 2007).

میزان کلروفیل و کاروتنوئید: نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین میزان کلروفیل کل (۱/۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار تلقیح شده با قارچ گونه *G. mosseae* در غلظت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار حاصل شد که بهبود ۳۴/۶۴ درصدی را نسبت به تیمار عدم تلقیح قارچ در همین سطح شوری نشان داد. کمترین درصد میزان کلروفیل کل (۱/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار کاربرد قارچ گونه



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر کلروفیل کل در بنفشه ایرانی



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر کاربرد قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر کاروتنوئید در بنفشه ایرانی

نسبت داد. کلروپلاست نقش اساسی در اعمال بیوشیمیایی مانند تولید آمینواسیدها، اسیدهای چرب و نشاسته و نیز نقش اساسی در پاسخ به تنش شوری ایفا می‌کند (Bonales-Alatorre *et al.*, 2013). بررسی‌ها نشان دادند که افزایش تنش شوری موجب کاهش محتوای کلروفیل در نعنای فلفلی (Vatankhah *et al.*, 2017) و گل‌راعی (Rasouli and Noroozisharaf, 2022) نیز شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. بالاتر بودن میزان کلروفیل در بیشترین سطح شوری و قارچ گونه *G. mosseae* را می‌توان به افزایش میزان فتوسنتز و تثبیت کربن بیشتر در این تیمار نسبت داد. بنا به دلایل عنوان‌شده در همین تیمار میزان وزن خشک اندام هوایی و ریشه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌داری از تیمار شاهد و دیگر

و خشکی، تولید رادیکال‌های اکسیژن افزایش می‌یابد و این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌گردد. محققان نشان دادند که تلقیح با قارچ مایکوریزا گونه *G. fasciculatum* با ریشه نعنای، از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی موجب افزایش فتوسنتز و بهبود عملکرد شد (Gupta *et al.*, 2002). هموستازی یونی در محیط‌های تحت تنش شوری، دلیل افزایش سدیم و کلر به عنوان یون‌های سمیت‌زا و حلالیت شدید آنها در آب، جذب سریع و انتقال آنها با جریان تعرق است که باعث بازدارندگی از رشد، فتوسنتز و سایر فرایندهای گیاهی می‌شود. همچنین، می‌توان کاهش کلروفیل و به‌طور کلی فتوسنتز را به کمبود یون پتاسیم در سلول‌های برگ فتوسنتزکننده در اثر تنش شوری

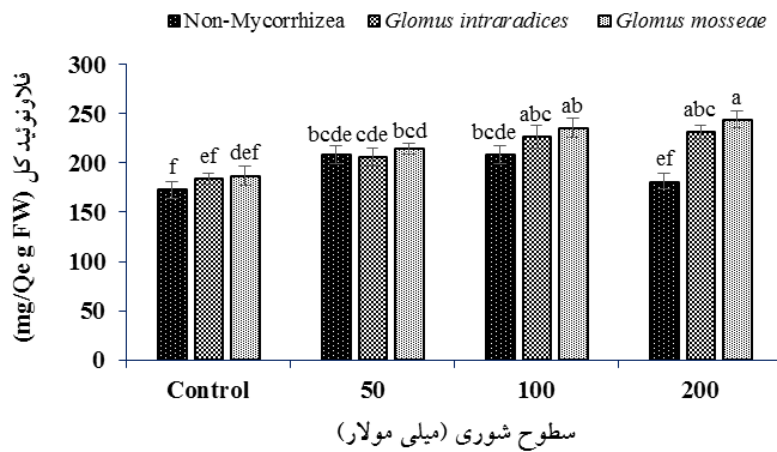
گونه قارچ بالاتر بود که تأثیر مثبت کاربرد گونه *G. mosseae* بر خصوصیات بیوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیک بنفشه ایرانی در شرایط تنش شوری را نشان داد. همچنین می‌توان بیان کرد برهمکنش تنش شوری و کاربرد قارچ *G. mosseae* احتمالاً موجب تحریک یکسری پروتئین‌های درگیر در فرایند فتوسنتز، اسمولیت‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شده که موجب بهبود عملکرد گیاه و نیز افزایش میزان کلروفیل کل در بنفشه ایرانی شده است (Sagar et al., 2021).

علاوه بر اینکه کاروتنوئیدها یک رنگیزه کمکی در فتوسنتز محسوب می‌شوند، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نیز شناخته می‌شوند. افزایش میزان کاروتنوئیدها در شرایط تنش می‌تواند نشان‌دهنده افزایش تولید این رنگیزه در شرایط تنش باشد. کاروتنوئیدها با استفاده از سازوکاری که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در برابر اکسیداسیون می‌گردند. در پژوهش حاضر افزایش میزان کاروتنوئید نقش حفاظتی آنرا در کاهش خسارات اکسیداتیو ناشی از تنش و افزایش مقاومت گیاه نشان می‌دهد. قارچ‌های مایکوریزا با بهبود تغذیه گیاه، تأثیر زیادی بر مسیرهای تولیدی متابولیت‌های ثانویه در گیاه گذاشته و افزایش رشد و سطح برگ آن و در نتیجه در افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کاروتنوئیدها نقش اساسی داشته است. بررسی محققین نشان داد، کاربرد گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا در گیاه همیشه‌بهار باعث افزایش میزان کاروتنوئید گردید و همچنین بیشترین میزان آن در گیاهان تلقیح شده با گونه *G. mosseae* به دست آمد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Keiri et al., 2020). همچنین محققین با بررسی گیاه پروانش گزارش کردند، در شرایط تنش شوری میزان کاروتنوئید کاهش می‌یابد که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد (Abdolmohammadi and Omidi, 2017).

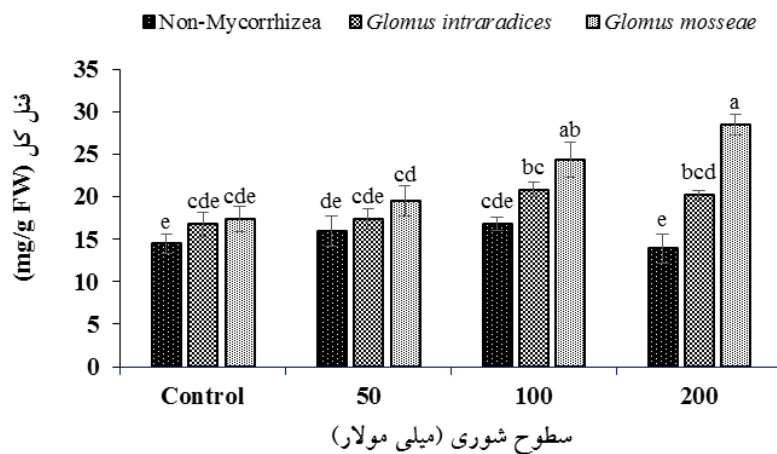
فلاونوئید، فنل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH): مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش سطوح شوری میزان فلاونوئید، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در این گیاه افزایش یافت.

کاربرد قارچ گونه *G. mosseae* در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار میزان فلاونوئید کل را به ۲۴۴/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رساند که باعث بهبودی ۲۵/۷۷ درصدی این شاخص نسبت به تیمار بدون تلقیح قارچ در همین سطح شوری شد. در تیمار عدم کاربرد قارچ و در شرایط عدم اعمال شوری، میزان این شاخص ۱۷۲/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود که تفاوت معنی‌داری با تلقیح گونه‌های قارچ و شوری شاهد نداشت. بالاترین درصد فنل (۲۸/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از کاربرد قارچ گونه *G. mosseae* در تیمار شوری ۲۰۰ میلی‌مولار به دست آمد. با این حال، میزان درصد بهبودی در تیمار فوق نسبت به عدم تلقیح قارچ و سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار ۵۱/۱۰ درصد بود. سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در همزیستی با قارچ گونه *G. mosseae* بالاترین درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با فعالیت ۶۶/۵۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر و بهبودی ۳۳/۳۲ درصد از این صفت را نشان داد. با افزایش سطوح شوری در تیمارهای بدون همزیستی تفاوت معنی‌داری با سطح شاهد مشاهده نشد. در مجموع کاربرد هر دو گونه قارچ اثر مثبتی بر میزان فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در این گیاه داشت (شکل ۶، ۷ و ۸).

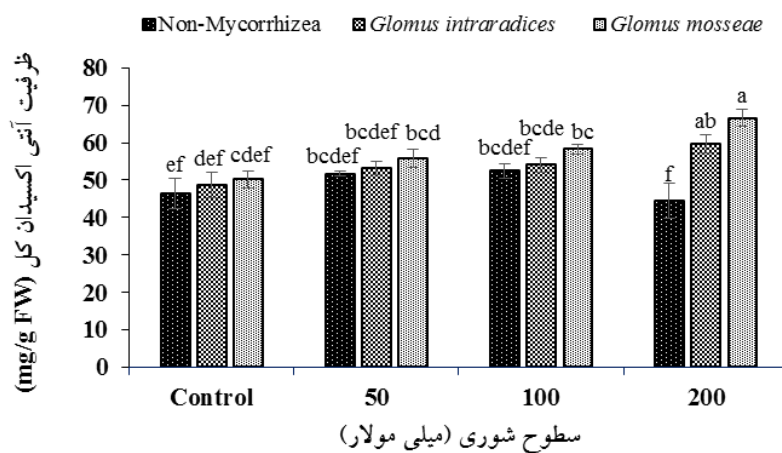
در پژوهش اخیر مقدار فلاونوئیدهای برگ‌های گیاه در شرایط شوری افزایش یافت که بیانگر پاسخ آن به سطوح شوری است. فلاونوئید به کمک پراکسیداز در جهت سم‌زدایی پراکسید هیدروژن در شرایط تنش سلول عمل می‌کند (Yamasaki et al., 1997). در این پژوهش، در تیمار شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مقدار فلاونوئید گیاهان مایکوریزایی روندی افزایشی نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی نشان داد و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند. بنابراین، افزایش میزان فلاونوئیدها توسط مایکوریزا موجب افزایش توان آنتی‌اکسیدان گیاه شده و امکان تحمل گیاه در شرایط تنش را افزایش می‌دهد. افزایش میزان فلاونوئیدهای گیاه توسط قارچ-های مایکوریزا احتمالاً از طریق تغییرات کیفی و کمی فلاونوئیدها و نیز از طریق اثر قوی بر متابولیسم ترکیبات فلاونوئیدی انجام می‌پذیرد (Ponce et al., 2004). در



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر فلاونوئید کل در بنفشه ایرانی



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر فنل کل در بنفشه ایرانی



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در بنفشه ایرانی

بررسی‌های انجام‌شده بر تأثیر شوری بر میزان فلاونوئیدها در گیاه رزماری نیز با افزایش غلظت شوری از ۵۰ به ۱۵۰

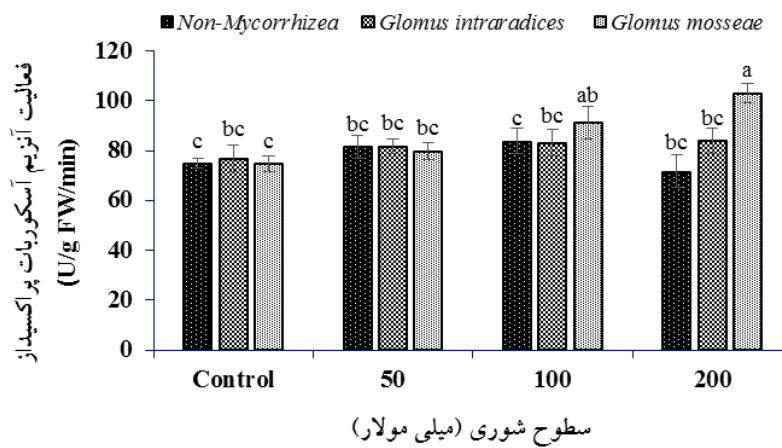
گزارش دادند تیمار گیاه خردل هندی با گونه‌های قارچ میکوریزا علاوه بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این گیاه موجب افزایش رشد گیاه نیز گردید که این افزایش رشد احتمالاً به دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به وسیله قارچ همزیست باشد (Sarwat et al., 2016). همچنین پاسخ‌های دفاعی گیاهان علیه گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده می‌تواند به علت تحریک آنزیم‌های درگیر واکنش‌های آنتی‌اکسیداتیو باشد که باعث ایجاد محیط مساعد برای همزیستی قارچ نیز می‌گردد. در نتیجه، افزایش فعالیت آنزیم‌ها نشان‌دهنده نقش قارچ میکوریزا در افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی است (Prasad et al., 2013).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: نتایج بدست آمده نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و کاربرد قارچ گونه *G. mosseae* (۲۸۹/۴۹ واحد) به دست آمد و کمترین میزان در تیمار بدون میکوریزا با شوری شاهد (۱۳۴/۸۴ واحد) بود (شکل ۱۰). تیمار تلقیح با قارچ *G. mosseae* نسبت به تیمار تلقیح *G. intraradices* برتری داشت و در تیمار تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار به میزان ۱۹/۷۷ درصد فعالیت آنزیم را افزایش داد. مقایسه نمودارهای ۹ و ۱۰ نشان می‌دهد که میزان فعالیت آنزیم‌ها با افزایش سطوح شوری و کاربرد قارچ در مقایسه با شاهد افزایش یافته است که این امر منجر به تحمل شرایط تنش و پراکسیداسیون کمتر لپیدها در بنفشه ایرانی شده است. در نتیجه کاهش صدمات ناشی از فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن را به همراه داشته است و با حفظ مقادیر بالاتر محتوای نسبی آب، کلروفیل و ثبات سلولی به نوعی سعی در کاهش خسارات ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن و جلوگیری از کاهش شدت فتوسنتز داشته است. بررسی‌های محققین نشان داد قارچ میکوریزا با تحریک گیاهان میزبان به بیان بیش از حد ایزوآنزیم‌های SOD باعث افزایش فعالیت این آنزیم در گیاه شده و میزان تجمع رادیکال‌های آزاد را در شرایط تنش کاهش می‌دهد (He et al., 2020).

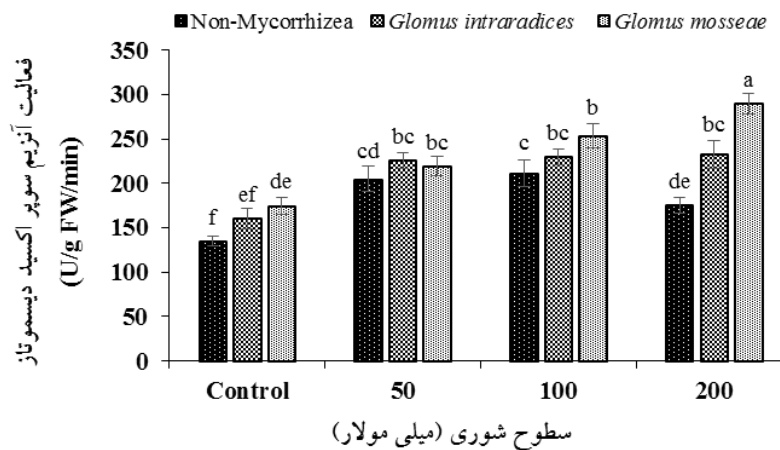
قارچ میکوریزا از دو طریق مجزا آسیب‌های اکسیداتیو

میلی‌مولار، محتوای فلاونوئیدها بیشتر شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Kh et al., 2010). افزایش شوری سبب افزایش ترکیبات فنلی در نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری گردید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. ترکیبات فنلی از اجزای دفاعی سلول گیاه است که تجزیه رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیدها را بر عهده دارد و به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند (Mohammadi et al., 2019). خاصیت آنتی‌اکسیدانی از گیاه در برابر گونه‌های فعال اکسیژن حفاظت می‌کند. مهار رادیکال آزاد DPPH به عنوان یک روش متداول برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان استفاده می‌شود و توانایی گیاهان را برای مقابله با تنش نشان می‌دهد (Miljus-Djukic et al., 2013). در بررسی‌های پژوهشگران دیگر مشاهده گردید تنش شوری باعث القاء فعالیت مهار رادیکال DPPH در آلوئه‌ورا و اسطوخودوس شد، با این حال همزیستی قارچی اثر مثبت بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط شوری داشته است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Cardarelli et al., 2013; Mohammadzadeh and Pirzad, 2021).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: نتایج بدست آمده نشان داد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش غلظت نمک روندی افزایشی داشت. با توجه به نتایج مشخص گردید که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم (۱۰۳/۱۶ واحد) مربوط به گیاهان تیمار شده با تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و کاربرد قارچ گونه *G. mosseae* بود و نسبت به تیمار بدون قارچ و شوری ۲۰۰ میلی‌مولار ۳۰/۵۰ درصد بهبود فعالیت آنزیم نشان داد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین تیمار تلقیح *G. intraradices* در سطوح شوری و شاهد با تیمار بدون قارچ مشاهده نشد که بیانگر عدم تأثیر این گونه در سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود. از نظر آماری در میزان آنزیم برگ بنفشه ایرانی بین اثرات متقابل کاربرد قارچ و تیمارهای شاهد و ۵۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۹). سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه بر اثر همزیستی با قارچ، فعال می‌شود (Varma et al., 2012). در همین راستا محققین



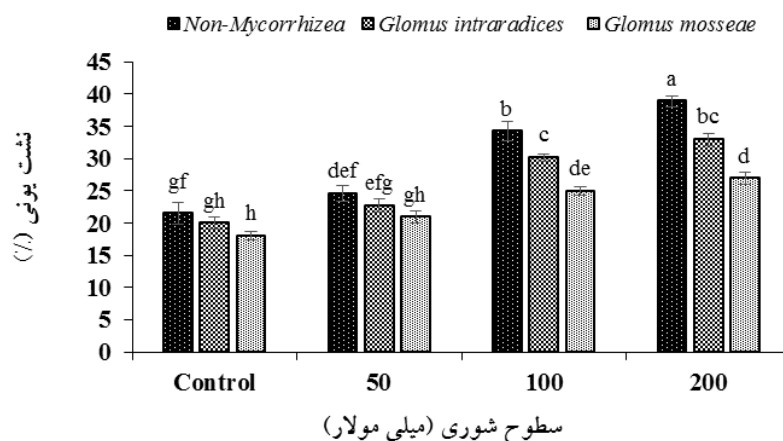
شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ میکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بنفشه ایرانی



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد قارچ میکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بنفشه ایرانی

به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Cheema and Garg, 2024). دلیل افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در تیمار میکوریزا و شوری و بهبود خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را می‌توان به ساختمان شیمیایی ایزوآنزیم‌های فلزی مس، روی و منگنز نسبت داد، همچنین محققین نشان دادند فاکتورهای هورمونی که در گیاه برای ساخت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تولید می‌شوند حاوی عناصر روی و کلسیم است (Siddiqui et al., 2010). منگنز در واکنش‌های انتقال الکترون در گیاه مشارکت دارد در نتیجه در تولید کلروفیل نقش مؤثری دارد، این افزایش محتوای کلروفیل در شرایط شوری که باعث تغییرات مفیدی در

ایجادشده توسط تنش را کاهش می‌دهد. سازوکار اول افزایش جذب آب از طریق هیف‌ها و انتقال آن به میزبان است که این فرایند باعث افزایش محتوای آب و کاهش تولید ROS می‌گردد. سازوکار دوم شامل افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌های گوناگون از طریق این همزیستی است (Das and Sarkar, 2024). قارچ میکوریزا با فعال کردن متابولیسم آنتی‌اکسیدان و در نتیجه تجمع ترکیباتی مانند آسکوربات تحمل گیاه به تنش و کمبود عناصر غذایی را افزایش می‌دهد. قارچ میکوریزا تولید ROS را از طریق به تأخیر انداختن اسیدهای چرب اشباع نشده غشای پلاسمای لیبیدی، محدود می‌کند که این امر منجر



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر کاربرد قارچ میکوریزا و سطوح مختلف تنش شوری بر نشت یونی در بنفشه ایرانی

میلی مولار در همزیستی با قارچ گونه *G. mosseae* و عدم همزیستی (۱۱/۹۸ درصد) و در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار در همزیستی با قارچ گونه *G. intraradices* و عدم همزیستی (۹/۳۰ درصد) قابل توجه بود. افزایش نشت الکترولیتی غشاء ناشی از رادیکال‌های اکسیژن فعال تولیدشده در تنش اکسیداتیو است که بر لیپیدهای موجود در غشای سلول و اندامک‌های درون سلولی تأثیر گذاشته و موجب اختلال در کارکرد و ساختار غشای سلولی شده و میزان نشت مواد سیتوپلاسمی و هدایت الکتریکی سلولی را افزایش می‌دهد. شاخص پایداری غشا که به‌عنوان نشت الکترولیتی تخمین زده می‌شود تحت تنش شوری کاهش می‌یابد و به هم ریختگی غشاء در پاسخ به افزایش شوری به‌صورت افزایش در نشت یونی توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (Shi et al., 2006; Zhu et al., 2011). به احتمال زیاد کاهش میزان نشت یونی در تیمار با قارچ‌های مورد مطالعه می‌تواند ناشی از آسیب کمتر به پلاسما بر اثر تنش شوری باشد که بیانگر عملکرد خوب سازوکارهای دفاعی فعال در سیتوسول است (Gostincar et al., 2011).

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر استفاده از قارچ میکوریزا به دلیل توسعه و گسترش بیشتر سطح ریشه‌ای، بهبود وضعیت فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانی گیاه، ساخت متابولیت‌های ثانویه و بهره‌گیری از

کلروپلاست می‌شود اهمیت دو چندان پیدا می‌کند. یون کلسیم نیز اثرات مخرب شوری را در گیاه بهبود می‌بخشد. قارچ میکوریزا با افزایش جذب عناصر غذایی موجب ارسال بیش از پیش فاکتورهای هورمونی و افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند که همگی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ایجاد شرایط بهینه فعالیت گیاه مؤثر است (Asadi et al., 2022).

نشت یونی برگ‌ها: بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین نشت یونی (۳۸/۹۴ درصد) در تیمار بدون کاربرد قارچ در شوری ۲۰۰ میلی مولار مشاهده شد که در همین سطح شوری، تلقیح با گونه *G. mosseae* ۳۰/۷۷ درصد بهبود در ثبات غشاء سلولی را نشان داد. تیمار با قارچ گونه *G. mosseae* در شرایط بدون شوری کمترین درصد میزان نشت یونی (۱۸/۰۴ درصد) را داشت. در مجموع با افزایش میزان شوری میزان نشت افزایش یافته است. کاربرد قارچ میکوریزا در گیاه بنفشه ایرانی سبب کاهش نشت الکترولیت در گیاه میزبان نسبت به شاهد گردید که این تغییرات بسته به گونه قارچ، با افزایش سطح شوری به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. بر اساس نتایج اثر متقابل قارچ و شوری، افزایش معنی‌دار نشت یونی در تیمارهای قارچی به‌خصوص در تنش شوری بالا مشهود بود که نشان‌دهنده آسیب شدید ناشی از تنش شوری است (شکل ۱۱). با این وجود، گیاهانی که با قارچ همزیست شده بودند کاهش قابل توجهی در میزان نشت یونی داشته‌اند، به‌طوری‌که میزان اختلاف آن در سطح شوری ۲۰۰

با قارچ‌های مایکوریزایی همزیستی می‌کنند به‌علت جذب بیشتر آب و مواد غذایی رشد بهتری را تجربه می‌کنند و با افزایش توانایی در مقابل انواع تنش‌های محیطی بهره‌وری مطلوب‌تری خواهند داشت. در بین سطوح مورد ارزیابی، برهمکنش شوری با تیمار شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و تلقیح با گونه قارچ *G. mosseae* با افزایش فعالیت آنزیم‌ها و ثبات سلولی، منجر به افزایش رشد رویشی و افزایش مقاومت به تنش شوری در بنفشه ایرانی شد.

تشکر و قدردانی

از مسئول آزمایشگاه کشاورزی دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی کمال تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها به منظور کاهش خسارت اکسیداسیون، مقاومت بنفشه ایرانی به‌طور قابل توجهی در شرایط شوری افزایش یافت. همزیستی قارچ *G. mosseae* راهکار مناسبی برای افزایش مقاومت به شوری در گیاه بنفشه ایرانی بود. همچنین کاربرد قارچ گونه *G. intraradices* نیز توانست اثرات خسارت ناشی از تنش شوری در این گیاه را بهبود بخشد که البته کمتر از دیگر گونه قارچ بود. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته در زمینه اصلاح و بهبود کاربرد اراضی شور در دنیا، یافتن راهکارهای نوین و استفاده اصولی و صحیح از بخش‌های متنوع در کاهش شوری و بهره‌وری بالاتر از اقلیم‌های شور امری ضروری است. کاربرد قارچ‌های مایکوریزا با توجه به استفاده روزافزون از منابع گیاهی، یکی از بهترین گزینه‌های اصلاح و بهبود وضعیت رشد گیاهان در جهت رفع نیازهای بشر در رابطه با شوری است. گیاهانی که

منابع

- Abdolmohammadi, S. & Omid, J. (2017). The effect of salicylic acid on some morphological and physiological traits under salinity stress (*Catharanthus roseus*). *Journal of Research in Agriculture*, 9(3), 28-39.
- Asadi, M., Rasouli, F., Amini, T., Hassanpouraghdam, M. B., Souri, S., Skrovankova, S., & Ercisli, S. (2022). Improvement of photosynthetic pigment characteristics, mineral content, and antioxidant activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) by arbuscular mycorrhizal fungus and seaweed extract foliar application. *Agronomy*, 12(8), 1943. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081943>
- Asghari, M. T. (2022). Effect of mycorrhizal fungi symbiosis and foliar application of amino acids on some growth traits and pot marigold oil (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 20(1).
- Asrar, A. W. A. & Elhindi, K. M. (2011). Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(1), 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.06.007>
- Bennett, A. E. & Meek, H. C. (2020). The influence of arbuscular mycorrhizal fungi on plant reproduction. *Journal of Chemical Ecology*, 46, 707-721. <https://doi.org/10.1007/s10886-020-01192-4>
- Blum, A. (1988). *Plant Breeding for Stress Environments*. CRC Press, Inc.
- Bonales-Alatorre, E., Shabala, S., Chen, Z. H., & Pottosin, I. (2013). Reduced tonoplast fast-activating and slow-activating channel activity is essential for conferring salinity tolerance in a facultative halophyte, quinoa. *Plant Physiology*, 162(2), 940-952. <https://doi.org/10.1104/pp.113.216572>
- Cardarelli, M., Roupheal, Y., Rea, E., Lucini, L., Pellizzoni, M., & Colla, G. (2013). Effects of fertilization, arbuscular mycorrhiza, and salinity on growth, yield, and bioactive compounds of two Aloe species. *HortScience*, 48(5), 568-575. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.5.568>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Cheema, A. & Garg, N. (2024). Arbuscular mycorrhizae reduced arsenic induced oxidative stress by coordinating nutrient uptake and proline-glutathione levels in *Cicer arietinum* L. (chickpea). *Ecotoxicology*, 1-21.
- Copetta, A., Lingua, G., & Berta, G. (2006). Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. *Mycorrhiza*, 16, 485-494. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0065-6>
- Das, S. & Sarkar, S. (2024). Arbuscular mycorrhizal fungal contribution towards plant resilience to drought conditions. *Frontiers in Fungal Biology*, 5, 1355999. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2024.1355999>

- Drozdova, I. & Bubenchikov, R. (2004). Antioxidant activity of *Viola odorata* L. and *Fragaria vesca* L. polyphenolic complexes. *Rastite Res*, 40, 92-96.
- Evelin, H., Kapoor, R., & Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. *Annals of Botany*, 104(7), 1263-1280.
- Fallahi, J., Ebadi, M. T., & Ghorbani, R. (2009). The effects of salinity and drought stresses on germination and seedling growth of clary (*Salvia sclarea*). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 1(1), 57-67. <https://doi.org/10.22077/escs.2009.7>
- Farahani, H. A., Valadabadi, S. A., & Khalvati, M. A. (2009). Interactive effects of P supply and drought on root growth of the mycorrhizal coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(5), 217-222.
- Garcia-Caparrós, P., Hasanuzzaman, M., & Lao, M. T. (2019). Oxidative stress and antioxidant defense in plants under salinity. *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms*, 291-309. <https://doi.org/10.1002/9781119468677.ch12>
- Giannopolitis, C. N. & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant Physiology*, 59(2), 315-318. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.315>
- Laskin, A., Sariaslani, S., & Gadd, G. (2011). Fungal adaptation to extremely high salt concentrations. In: *Advances in Applied Microbiology* (Gostincar, C., Lenassi, M., Gunde-Cimerman, N., & Plemenitas, A.). Pp. 71-96. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387044-5.00003-0>
- Gupta, M., Prasad, A., Ram, M., & Kumar, S. (2002). Effect of the vesicular–arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81(1), 77-79. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00109-2)
- Hammer, E. C., Nasr, H., Pallon, J., Olsson, P. A., & Wallander, H. (2011). Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. *Mycorrhiza*, 21, 117-129. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0316-4>
- He, J. D., Zou, Y. N., Wu, Q. S., & Kuca, K. (2020). Mycorrhizas enhance drought tolerance of trifoliate orange by enhancing activities and gene expression of antioxidant enzymes. *Scientia Horticulturae*, 262, 108745. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108745>
- Karami, E., Ghorbani Dashtaki, S., & Khalilimoghadam, B. (2018). Effects of land management on soil erodibility-A case study in part of Zayandeh-Rood watershed. *Journal of Agricultural Engineering Soil Science and Agricultural Mechanization, (Scientific Journal of Agriculture)*, 40(2), 105-119. <https://doi.org/10.22055/agen.2018.18172.1281>
- Keiri, Z., Moghaddam, M., & Moradi, M. (2020). Study the effect of different mycorrhizal fungi on some growth indices ,photosynthetic pigments, flavonoids and carotenoid content of pot marigold flower. *Horticultural Plants Nutrition*, 3(1), 37-50. [10.22070/hpn.2020.5007.1061](https://doi.org/10.22070/hpn.2020.5007.1061)
- Kh, K., Mohseni, R., & Saboora, A. (2010). Biochemical changes of *Rosmarinus officinalis* under salt stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 6(3), 114-122.
- Kumar, S. G., Reddy, A. M., & Sudhakar, C. (2003). NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) with contrasting salt tolerance. *Plant Science*, 165(6), 1245-1251. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00332-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00332-7)
- Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E., & Navari-Izzo, F. (1999). Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology*, 119(3), 1091-1100. <https://doi.org/10.1104/pp.119.3.1091>
- Majidi, A. & Rejali, F. (2023). Mycorrhizal symbiosis and glycine betaine effect foliar application on some agronomic traits of rainfed wheat in calcareous soils. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 54(2), 281-297. [10.22059/ijswr.2023.352937.669423](https://doi.org/10.22059/ijswr.2023.352937.669423)
- Mbadi, S., Alipour, Z., Asghari, H., & Kashefi, B. (2015). Effect of the salinity stress and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth and nutrition of the Marigold (*Calendula officinalis*). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 6(4), 215-219.
- Miljus-Djukic, J., Stanisavljevic, N., Radovic, S., Jovanovic, Z., Mikic, A., & Maksimovic, V. (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.
- Mohammadi, S., Boroomand, N., & Moghbeli, E. (2019). Effect of different mycorrhizal species inoculation on concentration of nutrient elements, yield per plant and antioxidant activity in Peppermint (*Mentha piperita*) under salt stress. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 8(4), 127-142. [10.22069/ejsms.2019.12936.1734](https://doi.org/10.22069/ejsms.2019.12936.1734)
- Mohammadzadeh, S. & Pirzad, A. (2021). Biochemical responses of mycorrhizal-inoculated Lamiaceae (Lavender, Rosemary and Thyme) plants to drought: A field study. *Soil Science and Plant Nutrition*, 67(1), 41-49. <https://doi.org/10.1080/00380768.2020.1851144>

- Nadian, H., Heidari, M., Gharineh, M., & Daneshvar, M. (2013). The effects of different levels of sodium chloride and mycorrhizal colonization on growth, P, K and Na uptake by saffron (*Crocus sativus* L.). *Plant Productions*, 36(2), 49-59.
- Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C., & Beck, E. (2004). Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. *Crop Science*, 44(3), 797-805. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.7970>
- Nikee, E., Pazoki, A., & Zahedi, H. (2014). Influences of ascorbic acid and gibberellin on alleviation of salt stress in summer savory (*Satureja hortensis* L.). *International Journal of Biosciences*, 5(4), 245-255. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/5.4.245-248>
- Noroozisharaf, A. & Rasouli, M. (2021). Effect of brasinosteroid on morphological and physiological traits of garden thyme (*Thymus vulgaris*) in salinity stress. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research*, 8(1), 63-76. [10.22124/jms.2021.5203](https://doi.org/10.22124/jms.2021.5203)
- Parvin, S., Van Geel, M., Yeasmin, T., Verbruggen, E., & Honnay, O. (2020). Effects of single and multiple species inocula of arbuscular mycorrhizal fungi on the salinity tolerance of a Bangladeshi rice (*Oryza sativa* L.) cultivar. *Mycorrhiza*, 30, 431-444.
- Pessaraki, M. (2019). Handbook of Plant and Crop Stress. CRC Press.
- Phillips, J. & Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society*, 55(1), 158-1118.
- Pixao, C., Oliveira, A., & Amoria, R. (2007). Arbuscular mycorrhizal fungi effect on growth and nutrition of citrus rootstock. *Magistra*, 19, 47-59.
- Podila, G. K. (2007). Basic Research and Applications of Mycorrhizae. IK International Pvt Ltd .
- Ponce, M. A., Scervino, J. M., Erra-Balsells, R., Ocampo, J. A., & Godeas, A. M. (2004). Flavonoids from shoots and roots of *Trifolium repens* (white clover) grown in presence or absence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Phytochemistry*, 65(13), 1925-1930. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.06.005>
- Porcel, R., Aroca, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2012). Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 181-200. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0029-x>
- Porter, S. S., Bantay, R., Friel, C. A., Garoutte, A., Gdanetz, K., Ibarreta, K., & Friesen, M. L. (2020). Beneficial microbes ameliorate abiotic and biotic sources of stress on plants. *Functional Ecology*, 34(10), 2075-2086. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13499>
- Prasad, R., Kamal, S., Sharma, P. K., Oelmuller, R., & Varma, A. (2013). Root endophyte *Piriformospora indica* DSM 11827 alters plant morphology, enhances biomass and antioxidant activity of medicinal plant *Bacopa monniera*. *Journal of Basic Microbiology*, 53(12), 1016-1024. <https://doi.org/10.1002/jobm.201200367>
- Rasouli, M., Hatamzadeh, A., Ghasemnezhad, M., & Lahiji, H. (2018). Growth responses and ion regulation of *Agrostis stolonifera* L. to trinexapac-ethyl under salinity stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(2), 10.22059/ijhs.2017.224415.1163
- Rasouli, M. & Noroozisharaf, A. (2022). Effects of humic acid and salinity stress on some germination and morpho-physiological indices of Iranian St Johns Wort in in vitro conditions. *Journal of Crops Improvement*, 24(4), 1293-1310. <https://doi.org/10.22059/jci.2022.328340.2593>
- Roy, S. J., Negrao, S., & Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>
- Sabagh, A. E., Mbarki, S., Hossain, A., Iqbal, M. A., Islam, M. S., Raza, A., & Mahboob, W. (2021). Potential role of plant growth regulators in administering crucial processes against abiotic stresses. *Frontiers in Agronomy*, 3, 648694. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.648694>
- Safdar, H., Amin, A., Shafiq, Y., Ali, A., Yasin, R., Shoukat, A., & Sarwar, M. I. (2019). A review: Impact of salinity on plant growth. *Natural Sciences*, 1, 34-40. [doi:10.7537/marsnsj170119.06](https://doi.org/10.7537/marsnsj170119.06)
- Sagar, A., Rathore, P., Ramteke, P. W., Ramakrishna, W., Reddy, M. S., & Pecoraro, L. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria, arbuscular mycorrhizal fungi and their synergistic interactions to counteract the negative effects of saline soil on agriculture: Key macromolecules and mechanisms. *Microorganisms*, 9(7), 1491. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071491>
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9)
- Sarwat, M., Hashem, A., Ahanger, M. A., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A., Alyemeni, M. N., & Guzel, S. (2016). Mitigation of NaCl stress by arbuscular mycorrhizal fungi through the modulation of osmolytes, antioxidants and secondary metabolites in mustard (*Brassica juncea* L.) plants. *Frontiers in Plant Science*, 7. [doi:10.3389/fpls.2016.00869](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00869)

- Shahabivand, S., Maivan, H. Z., Goltapeh, E. M., Sharifi, M., & Aliloo, A. A. (2012). The effects of root endophyte and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and cadmium accumulation in wheat under cadmium toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.018>
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., & Huang, Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*, 18, 287-296. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0180-7>
- Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q., & Qian, Q. (2006). Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. *Plant Growth Regulation*, 48, 127-135. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-5482-6>
- Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Khan, M. N., Al-Whaibi, M. H., & Bahkali, A. H. (2010). Nitrogen in relation to photosynthetic capacity and accumulation of osmoprotectant and nutrients in Brassica genotypes grown under salt stress. *Agricultural Sciences in China*, 9(5), 671-680. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60142-5](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60142-5)
- Smith, S. E. & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Sohrabi, Y., Weisany, W., Heidari, G., Mohammadi, K., & Ghasemi Golezani, K. (2019). Effects of mycorrhiza fungi species application on growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(2), 507-524. <https://doi.org/10.22077/escs.2018.1378.1295>
- Strain, H. H. & Svec, W. A. (1966). Extraction, separation, estimation and isolation of the chlorophylls. *The Chlorophylls*, 1, 22-66. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4832-3289-8.50008-4>
- Tennant, D. (1975). A test of a modified line intersect method of estimating root length. *The Journal of Ecology*, 995-1001. <https://doi.org/10.2307/2258617>
- Turk, M., Assaf, T., Hameed, K., & Al-Tawaha, A. (2006). Significance of mycorrhizae. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 16-20.
- Varma, A., Sherameti, I., Tripathi, S., Prasad, R., Das, A., Sharma, M., & Arora, M. (2012). 13 the symbiotic fungus Piriformospora indica. *Fungal Associations*, 231-254.
- Vatankhah, E., Kalantari, B., & Andalibi, B. (2017). Effects of methyl jasmonate and salt stress on physiological and phytochemical characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 33(3), 449-465. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2017.107594.1848>
- Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>
- Vukics, V., Kery, A., Bonn, G. K., & Guttman, A. (2008). Major flavonoid components of heartsease (*Viola tricolor* L.) and their antioxidant activities. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390(7), 1917-1925. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-1885-3>
- Wang, M., Christie, P., Xiao, Z., Qin, C., Wang, P., Liu, J., & Xia, R. (2008). Arbuscular mycorrhizal enhancement of iron concentration by *Poncirus trifoliata* L. Raf and *Citrus reticulata* Blanco grown on sand medium under different pH. *Biology and Fertility of Soils*, 45, 65-72. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0290-6>
- Xie, K., Ren, Y., Chen, A., Yang, C., Zheng, Q., Chen, J., & Xu, G. (2022). Plant nitrogen nutrition: The roles of arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology*, 269, 153591. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153591>
- Yaish, M. W. & Kumar, P. P. (2015). Salt tolerance research in date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.), past, present, and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 6, 348. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00348>
- Yamasaki, H., Sakihama, Y., & Ikehara, N. (1997). Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiology*, 115(4), 1405-1412. <https://doi.org/10.1104/pp.115.4.1405>
- Zhang, X. F., Hu, Z. H., Yan, T. X., Lu, R. R., Peng, C. L., Li, S. S., & Jing, Y. X. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate Cd phytotoxicity by altering Cd subcellular distribution and chemical forms in *Zea mays*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 352-360. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.097>
- Zhu, X., Song, F., & Liu, S. (2011). Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 9(2), 583-587.

Effect of inoculation of mycorrhizal fungi on reducing damage caused by salinity in Iranian violet

Mehrdad Rasouli*¹, Alireza Noroozisharaf^{1,2}

¹Department of Horticultural Science, Sayyed Jamaledin Asadabadi University, Asadabad, Iran

²Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(Received: 2024/02/14, Accepted: 2024/06/11)

Abstract

Soil salinity often hinders the productivity of plants in natural and agricultural environments. The symbiosis of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) as a biological fertilizer can increase the salinity tolerance of plants. This study was conducted in order to investigate the effect of inoculation with mycorrhizal fungi on reducing the adverse effects of salinity stress in Iranian violets. Evaluation of the interaction effect of AMF symbiosis at three levels (without symbiosis, *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) and salinity stress treatment at four levels (control, 50, 100 and 200 mM) on the growth and physiological responses of Iranian violets as a factorial layout based on a complete randomized design with three repetitions were performed. Inoculation plants had higher shoot and root biomass, carotenoid and colonization in the presence of different salinity levels. The highest amounts of total chlorophyll (1.70 mg/g fresh weight), antioxidant activity (66.56 mg/g fresh weight), flavonoid (244.05 mg/g fresh weight), phenol (28.46 mg/g of fresh weight), and ascorbate peroxidase activity (103.16 units) were observed in the treatment inoculated with *G. mosseae* fungus at 200 mM salinity concentration. The lowest amount of electrolyte leakage was obtained in the treatment with *G. mosseae* fungus in the condition without salt (18.04%). The results of the research showed that the inoculation of host plants with mycorrhizal fungi, especially *G. mosseae* species, had an effect on plant growth and physiology, and the positive effect of inoculating plants with fungi was significant in the conditions of plant salinity stress.

Keywords: Antioxidants, Electrolyte leakage, Inoculation, Photosynthetic pigments

Corresponding author, Email: rasouli@sjau.ac.ir