

## برهمکنش قارچ *Piriformospora indica* با گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر کمیت و کیفیت اسانس و برخی پارامترهای فیزیولوژیک تحت تنش شوری

معصومه خالوندی<sup>۱</sup>، محمدرضا عامریان<sup>۱</sup>، همت‌اله پیردشتی<sup>۲\*</sup>، مهدی برادران فیروزآبادی<sup>۱</sup> و احمد غلامی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، <sup>۲</sup> گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی

طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۴/۲۶)

### چکیده:

به منظور بررسی برهمکنش قارچ *Piriformospora indica* بر کمیت و کیفیت اسانس و صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی نعناع فلفلی تحت تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال زراعی ۱۳۹۴ اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل دو سطح همزیستی قارچ (عدم تلقیح و تلقیح با قارچ *P. indica*) و تنش شوری (صفر، ۳، ۶، ۹ دسی‌زیمنس بر متر) بود. نتایج نشان داد با افزایش شوری میزان کلونیزاسیون ریشه، درصد اسانس برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، عملکرد ماده خشک گیاه و محتوای نسبی آب برگ به صورت خطی کاهش یافت و موجب افزایش میزان فندهای محلول برگ، درصد نشت یونی و ترکیبات اسانس از قبیل: منتول، متون و متیل استات شد. از طرفی همزیستی قارچی سبب بهبود وزن خشک گیاه شد. تیمار زیستی، همچنین، باعث کاهش اثرات منفی شوری بر درصد اسانس برگ، پایداری غشا سلول و محتوای نسبی آب برگ شد. در مجموع، کاربرد قارچ *P. indica* علاوه بر تحریک گیاه برای افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه، با گسترش سامانه ریشه‌ای و افزایش جذب آب و عناصر غذایی به وسیله هیف‌های قارچی موجب افزایش اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی می‌شود که می‌تواند بیانگر نقش مثبت قارچ *P. indica* در شرایط شور باشد. بنابراین به نظر می‌رسد کاربرد قارچ *P. indica* بتواند با افزایش مقاومت به شوری تا حدود زیادی ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی نعناع فلفلی را در چنین شرایطی بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: اسانس، قند محلول، کلروفیل برگ، متابولیت‌های ثانویه، وزن خشک برگ.

### مقدمه:

اراضی قابل کشت را شامل می‌شود (فضائلی و همکاران، ۱۳۸۹). این مسئله منجر به کاهش میزان تولید محصول از طریق کاهش رشد گیاه و کاهش توسعه فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند فعالیت فتوسنتز و محتوای کلروفیل می‌شود (Hajer et al., 2006). تنش شوری با ایجاد تنش ثانویه خشکی، منجر به بسته شدن روزنه‌ها در گیاه تحت

تنش‌های محیطی، مهم‌ترین عامل کاهش عملکرد گیاهان زراعی در سطح جهان هستند (کرمی و زارع، ۱۳۹۳). در این میان، شوری یکی از عوامل مهم محدودکننده تولید گیاهان زراعی بالغ بر ۳۲ میلیون هکتار از مساحت خاک‌های ایران است که نزدیک به ۲۰ درصد از سطح کل کشور و ۵۵ درصد

\* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: pirdasht@yahoo.com

دارد (کرمی و زارع، ۱۳۹۳). نتایج تحقیقات نشان داده است که این میکروارگانیسم‌ها با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و بوم‌شناختی در گیاهان میزبان خود، اثر مثبتی روی زیست توده تولیدی گذاشته و عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش می‌دهند همچنین اثرات فیزیولوژیکی متعددی مانند افزایش گلدهی، افزایش عملکرد، بهبود تغذیه‌ای گیاه و ایجاد تغییرات سیستمیکی (آمدگی دفاعی) وابسته به فعالیت مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی در پی دارد و امکان توسعه کشت آنها را در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنش‌های غیرزیستی و زیستی فراهم می‌کند (Waller et al., 2005; Deshmukh et al., 2006; Druege et al., 2007). این در حالی است که برخی مطالعات نشان می‌دهد که همزیستی قارچ میکوریزا و پیریفورموسپورا ایندیکا تحت تنش موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گندم (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۱) و افزایش معنی‌دار رشد و مواد مؤثره گیاه دارویی نعنای فلفلی (محمودزاده و همکاران، ۱۳۹۴)، و ریحان (Zolfaghari et al., 2013) شد.

از سوی دیگر، گیاهان دارویی و معطر در زمینه‌های مختلف از جمله مواد غذایی، کشاورزی، عطر، صنایع دارویی و محصولات طبیعی آرایشی و بهداشتی مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند (Olfa et al., 2009). گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita*) و نام رایج Peppermint گیاهی علفی و چند ساله به عنوان یک گیاه دارویی و معطر در نظر گرفته شده است و به طور گسترده برای صنایع دارویی و محصولات غذایی تولید می‌شود (Roodbari et al., 2013). از نظر مصارف دارویی نیز به عنوان ضد اسپاسم، ضد باکتری و کمک کننده هضم غذا است (کاظم الوندی و همکاران، ۱۳۸۹). استفاده از فناوری‌های مختلف کشت و کار که افزایش راندمان و بهبود عملکرد گیاهان را موجب می‌شود اجتناب‌ناپذیر است. امکان استفاده از آب شور، برای آبیاری می‌تواند یک مدیریت ایده‌آل جهت پاسخگویی به افزایش تقاضا برای مواد غذایی باشد. بنابراین، پژوهش حاضر، با هدف بررسی تأثیر *P. indica* بر بهبود کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعنای فلفلی

تنش به دلیل مقابله با اتلاف بیشتر آب و کاهش پتانسیل آب بافت‌های تحت تأثیر شوری می‌گردد (جوادی پور و همکاران، ۱۳۹۲). در اثر کاهش جذب آب، در شوری بالا میزان سطح برگ کاهش می‌یابد. تنش شوری علاوه بر کاهش سطح برگ موجب کاهش وزن خشک گیاه می‌شود که این امر دلیلی بر کاهش سطح فتوسنتز کننده و نیز به هم خوردن تعادل هورمونی درون گیاه است (سلیمی و همکاران، ۱۳۹۳). تنش شوری علاوه بر شاخص‌های رشد، تولید متابولیت‌های ثانویه و اسانس‌ها را در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار می‌دهد و در پاسخ به تنش تولید متابولیت‌های ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهد (آقایی و همکاران، ۱۳۹۳). برای نمونه، برخی از محققین ضمن بررسی اثر تنش شوری بر روی رازیانه و زنیان ملاحظه نمودند که در هر دو گیاه با افزایش تنش شوری میزان اسانس کاهش یافت (Ashraf and Orooj, 2006; Ashraf et al., 2004). علاوه بر این، امروزه انسان برای تأمین امنیت غذایی خود مجبور به استفاده از منابع آبی با کیفیت پایین و شور مانند آب دریا و رودخانه‌های شور در کشاورزی است. از این رو دستیابی به عملکردهای پایدار تحت شرایط مذکور ضروری خواهد بود (سپهری و همکاران، ۱۳۸۸).

در این راستا امروزه کاربرد میکروارگانیسم‌های اندوفیت که از مهمترین میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند در کاهش تنش‌های محیطی مانند شوری، به یک راهکار جهانی تبدیل شده است (حاجی نیا و ابراهیمی، ۱۳۹۰). قارچ اندوفیت *P. indica* متعلق به خانواده *Sebacinaceae*، از رده قارچ‌های بازیدومیسیت‌ها با ریشه‌های طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی کلونیزاسیون تشکیل می‌دهد و رشد و توسعه آن مشابه قارچ میکوریزای آربوسکولار است و همانند میکوریزای آربوسکولار، طیف وسیعی از گیاهان اعم از دولپه‌ای و تک‌لپه‌ای میزبان قارچ *P. indica* هستند (Peskan-Berghofer et al., 2004). جمشیدی و همکاران، ۱۳۹۲). علاوه بر این، در مقایسه با قارچ‌های میکوریزی که همراه با میزبان رشد می‌کنند این قارچ مزیت‌های دیگری از جمله توانایی رشد در غیاب میزبان در محیط کشت و قابل کشت بودن در محیط درون شیشه‌ای را

در شرایط شور طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها:

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و چهار دقیقه شرقی و ارتفاع یازده متر پایین‌تر از سطح دریا به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و دو عامل شامل همزیستی با قارچ *P. indica* (تلقیح با قارچ و بدون تلقیح) و چهار سطح شوری (آبیاری با آب شور حاوی مخلوط آب دریای خزر و آب معمول شامل چهار سطح صفر، سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر) در سال زراعی ۱۳۹۴ اجرا شد. سویه قارچ *P. indica* از آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه و در محیط کشت مایع کفر (Kafer) در پتری‌دیش به مدت دو هفته کشت گردید سپس به محیط کشت مایع منتقل و به مدت دو هفته در انکوباتور با دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۵۰ دور در دقیقه، در تاریکی قرار داده شد. ریزوم‌های نعناع فلفلی به دو قسمت بدون تلقیح و تلقیح با قارچ تقسیم شدند و ریزوم‌های تیمار تلقیح با قارچ به مدت سه ساعت در سوسپانسیون قارچ (با غلظت  $1 \times 10^9$  کلونی در میلی‌لیتر) غوطه‌ور گردید.

ریزوم‌های نعناع فلفلی مورد استفاده در این آزمایش، از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی مازندران تهیه گردید در تاریخ اول خرداد، کاشت ریزوم‌ها در مزرعه در کرت‌هایی با ابعاد ۲ × ۲ متر و فاصله ۲۵ سانتیمتری روی ردیف و فاصله ۳۰ سانتیمتری بین ردیف صورت گرفت. بلافاصله بعد از کاشت، آبیاری با آب غیر شور تا ظرفیت زراعی مزرعه صورت گرفت. در طول مدت رشد گیاهان، آبیاری با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه به صورت قطره‌ای انجام شد. و تنش شوری در مرحله شش برگ شدن بوته‌ها صورت گرفت. به منظور کنترل شوری با دستگاه هدایت سنج مقدار هدایت الکتریکی خاک مزرعه کنترل گردید.

پس از گذشت این مدت و اطمینان از اثربخشی تیمار شوری تا ابتدای مرحله گلدهی با آب شور آبیاری شدند، نمونه‌برداری‌ها برای صفات مورد نظر در شروع مرحله گلدهی آغاز شد.

برای مطالعه همزیستی، قطعات یک سانتیمتری از ریشه در محلول KOH ۱۰ درصد به مدت هفت دقیقه رنگبری شده و سپس با استفاده از محلول پنج درصد جوهر و سرکه رنگ آمیزی شد (Vierheilig et al., 1998) برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه، ۴۰ قطعه یک سانتیمتری از ریشه‌های رنگ آمیزی شده روی لام قرار داده شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری درصد کلونیزاسیون اندازه‌گیری شد (Norris et al., 1992). توزیع کلامیدوسپورها (Varma et al., 1999) در طول ریشه به عنوان معیار برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون در نظر گرفته شدند.

محاسبه غلظت کلروفیل‌ها و کاروتنوئید از برگ‌های کاملاً توسعه یافته با استفاده از روش لیچتن تالر و ولبرن (۱۹۹۴) انجام شد و میزان جذب نور توسط عصاره استخراج شده در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ دیسک‌هایی از قسمت میانی پهنک برگ تهیه و پس از توزین به لوله‌های درب‌دار حاوی آب مقطر منتقل و به مدت بیست و چهار ساعت در دمای چهار درجه سانتیگراد و در تاریکی قرار گرفتند. پس از آن دیسک‌های برگ‌ها از آب خارج و جهت حذف رطوبت اضافی بین دو لایه کاغذ صافی خشک و سپس وزن آماس آنها اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به آون ۷۰ درجه سانتیگراد منتقل و پس از گذشت ۴۸ ساعت وزن خشک آنها تعیین و در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$RWC = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس})}{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})} \times 100$$

جهت اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها از سلول نمونه‌های برگ درون آب مقطر با حجم ۱۵ سی‌سی و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت پس از آن هدایت

جدول ۱- تجزیه شیمیایی آب دریا

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

برگ (جدول ۲) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تیمار قارچ *P. indica* نیز بر تمام صفات مورد اندازه‌گیری اختلاف معنی‌داری نشان داد. اثر متقابل قارچ *P. indica* و شوری نیز در صفات کلونیزاسیون، درصد اسانس برگ، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت و قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

تصاویر به دست آمده از بررسی میکروسکوپی ریشه نشان می‌دهد که قارچ *P. indica* قابلیت جوانه‌زنی و فعالیت در ریشه نعنای فلفلی را دارد و کلامیدوسپورهای قارچ تقریباً در بیشتر نقاط ریشه دیده شدند. به طوری که تعداد انبوهی از ریشه‌های قارچ و اندامک‌های کروی در سطح خارجی و بخش کورتکس ریشه مشاهده می‌شود (شکل‌های ۱). میسلیم قارچ در اپیدرم و سلول‌های قشر ریشه نفوذ کرده و کلامیدوسپور گلابی شکل نیز بصورت بین سلولی در بافت کورتکس ریشه مشاهده شد. علاوه بر این اطلاعات بدست‌آمده از تجزیه داده‌های آزمایش نشان می‌دهد که میزان کلونیزاسیون قارچ به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) تحت تأثیر اثر منفی شوری قرار گرفت (جدول ۲) و با افزایش شوری میزان همزیستی ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. با بررسی نمودار شکل ۲ می‌توان مشاهده کرد که درصد آلودگی ریشه با *P. indica* بین ۸۸/۳ تا ۵۹/۶ درصد متغیر بود، و با افزایش شوری درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه نعنای فلفلی با قارچ شبه میکوریزا حدود ۳۲/۴۵ درصد در تیمار شوری نه دسی‌زیمنس بر متر نسبت به عدم تیمار شوری، کاهش یافت. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که میزان توسعه *P. indica* با افزایش شوری، کاهش می‌یابد که نشان دهنده اثر بازدارنده افزایش شوری بر توسعه فعالیت پیریفورموسپورا ایندیکا است. این یافته‌ها ممکن است به اثر منفی شوری بر میزان فتوسنتز و کاهش عرضه کربن به قارچ، همچنین به دلیل اثر مهاری سدیم و کلر بر رشد ریشه‌های قارچ نسبت داده شود، در نهایت می‌تواند همزیستی قارچ با گیاه کاهش یابد. این نتایج با همزیستی قارچ شبه مایکوریزا در برنج در شرایط شوری (pirdashti et al., 2012) مطابقت دارد.

الکتریکی اولیه به وسیله دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد و سپس میزان هدایت الکتریکی به وسیله دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد.

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

میزان قندهای محلول گیاه با استفاده از روش فنل اسید سولفوریک (Kochert., 1978) انجام شد و میزان جذب نور در طول موج ۴۷۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد.

با استفاده از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر میزان ۱۰۰ گرم برگ خشک گیاه را در بالن ریخته و سپس مقدار ۴ برابر آن، آب مقطر به بالن اضافه شد. زمان اسانس‌گیری برای تمام تیمارها ۱۲۰ دقیقه بود، و به منظور شناسایی و تجزیه فیتوشیمیایی اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد.

سپس با نرم افزار آماری SAS آنالیز آماری نتایج انجام شد و آزمون مقایسه میانگین‌ها نیز با روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

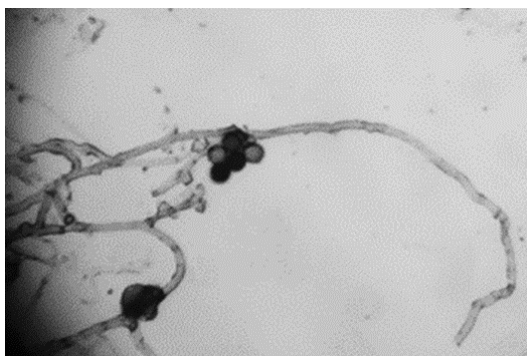
### نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح تنش شوری بر میزان کلونیزاسیون، درصد اسانس برگ، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کاروتنوئید، غلظت کلروفیل (a+b) و عملکرد خشک گیاه و قندهای محلول

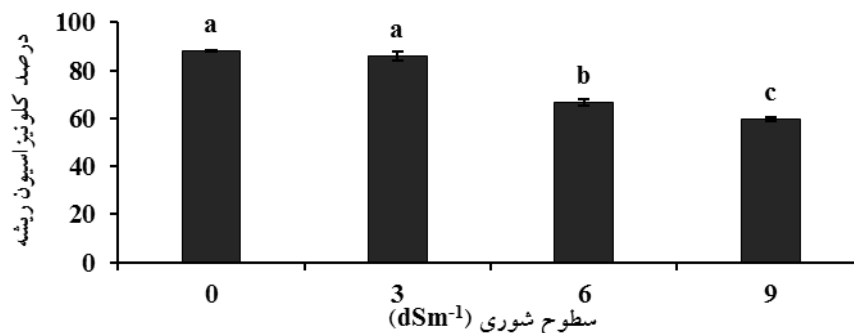
جدول ۲- میانگین مربعات اثر تیمارهای مورد بررسی بر رنگیزه‌های فتوستزی و صفات فیزیولوژیک گیاه نعناع فلفلی

منابع تغییر	بلوک	شوری (S)	قارچ (P)	S×P	خطای آزمایشی	ضریب تغییرات
درجه آزادی	۲	۳	۲	۳	۱۴	(درصد)
درصد کلونیزاسیون	۱/۰۴	۲۶۱/۷۰۸**	۳۲۹۳۰/۰۴**	۲۶۱/۷۰۸**	۳/۰۴	۴/۰۷
عملکرد خشک گیاه	۵۲۱۰/۳۴	۱۱۳۲۸۲۵/۶**	۱۰۳۸۴۰۲/۵**	۲۱۱۰۰/۶ <sup>ns</sup>	۷۵۲۶/۴۶	۷/۱۷
قندهای محلول	۱۳/۸۱	۱۵۱۹/۳**	۱/۳**	۲۶۶/۸۸**	۷/۶۵	۵/۱۱
درصد اسانس	۰/۰۰۰۸	۲/۴۸۶**	۱/۷۶**	۰/۱۰۸**	۰/۰۱۲	۶/۲۲
کلروفیل a	۰/۰۰۱۹	۱۴/۳۰۸**	۱/۷۶**	۰/۱۳۶**	۰/۰۳۷	۳/۴۳
کلروفیل b	۰/۰۱۷	۷/۱۰۷**	۰/۸۹۵*	۰/۱۳۵ <sup>ns</sup>	۰/۱۱۸	۷/۰۴
کلروفیل کل	۰/۰۱۳	۴۱/۴۴**	۵/۱۸**	۰/۳۸۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۹	۴/۱۵
کاروتنوئید	۰/۰۰۱۳	۰/۲۲۵**	۰/۰۳۵*	۰/۰۱۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳۵	۲۰/۳۴
محتوای نسبی آب برگ	۱۸/۵۶	۲۰۹۳/۴۳**	۱۴۵۵/۹**	۱۱۸/۵۱۴**	۴/۱	۲/۶۷
نشت الکترولیت	۱/۴	۵۸۹۲/۹۲**	۱۲۵۱/۹۴**	۱۵۸/۰۸**	۱۶/۸۶	۸/۳

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



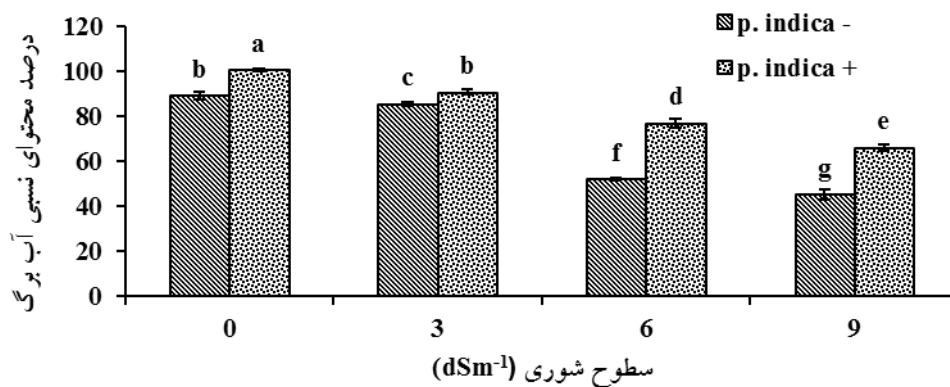
شکل ۱- کلومیدوسپور داخل سلولی *P. indica* در کورتکس ریشه (سمت راست)، ریشه و اسپورهای قارچ *P. indica* تشکیل شده بر سطح خارجی ریشه (سمت چپ).



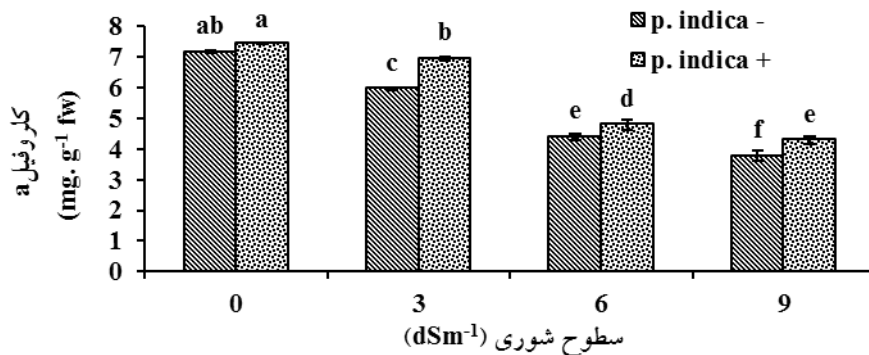
شکل ۲- برهمکنش *P. indica* و شوری بر میزان کلونیزاسیون ریشه ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

معنی‌داری بود (جدول ۲). طبق نتایج موجود با افزایش شوری محتوای نسبی آب برگ کاهش معنی‌داری در همه تیمارهای

مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و قارچ *P. indica* در صفات محتوای نسبی آب برگ و نشت یونی دارای اختلاف



شکل ۳- برهمکنش *Piriformospora indica* و شوری بر محتوای نسبی آب برگ. ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



شکل ۴- برهمکنش *Piriformospora indica* و شوری بر میزان کلروفیل a در برگ. ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

فرایندهایی مانند سنتز دیواره سلولی، سرعت تولید شدن سلول‌ها و تورژسانس کاهش یافته، دیواره سلول‌ها سخت و ضخیم می‌گردند (Fricke and Peter, 2002) احتمالاً قارچ از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و تولید کردن سیستم ریشه گیاه موجب افزایش سطح جذب ریشه از طریق ریشه‌های خود شده در نتیجه، منجر به ایجاد تغییراتی در سرعت حرکت آب به داخل، سراسر و یا خارج گیاه می‌گردد و بر آبیگری بافت و فعالیت‌های فیزیولوژیکی برگ تأثیر گذاشته و موجب افزایش میزان جذب آب و عناصر غذایی و بهبود روابط آبی گیاه می‌گردد (Auge et al., 2001). سفیر و همکاران (Safir et al., 1972) نیز گزارش کردند که اثر اصلی میکوریزا در گیاه میزبان به علت کاهش مقاومت به انتقال آب در ریشه است.

طبق نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها، روند

اعمال شده در گیاه نعنای فلفلی داشت. در حضور قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا این کاهش شدت کمتری داشت بطوریکه بر اساس نتایج حاصل، بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار عدم شوری در حضور قارچ شبه میکوریزا (۱۰۰/۶۲ درصد) و کمترین میزان محتوای نسبی آب برگ در شوری نه دسی زمینس بر متر و عدم حضور قارچ (۴۵/۲۲ درصد) به دست آمد (شکل ۳). بر طبق نتایج این تحقیق، با افزایش سطوح شوری آب دریا در آبیاری گیاه نعنای فلفلی به نظر می‌رسد که افزایش فشار اسمزی محلول اطراف ریشه موجب کاهش پتانسیل آب در آن محیط و در نتیجه کاهش جذب آب توسط ریشه شد به طوری که گیاه قادر به حفظ محتوای آب برگ‌های خود نبود و محتوای نسبی آب برگ‌ها کاهش پیدا کرد. در طی تنش شوری به علت کاهش پتانسیل آب و جذب بالای یون‌های سدیم و کلر و اثر آنها بر

و همکاران، ۱۳۹۱) و توتون (حاجی بلند و ابراهیمی، ۱۳۹۰) به کاهش کلروفیل a و b تحت شرایط شور اشاره کردند. به نظر می‌رسد تیمار قارچی نقش به‌سزایی در حفاظت رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها در شرایط تنش داشته است. افزایش میزان کلروفیل برگ‌ها در اثر همزیستی شبه میکوریزی می‌تواند به دلیل افزایش جذب فسفر و عناصر ضروری در بیوسنتز کلروفیل (منیزیم و آهن) از خاک توسط این قارچ‌ها باشد (آقا بابایی و همکاران، ۱۳۹۰؛ رحمت زاده و همکاران، ۱۳۹۱). گمان می‌رود میسلیم‌های برون ریشه‌ای با ترشح اسیدهای آلی حل‌کننده فسفات‌های نامحلول نظیر اسید مالیک به ریزوسفر، جذب فسفر گیاه را افزایش داده است (Auge et al., 2001). نتایج این آزمایش با نتایج محققان دیگر در گیاه لوبیا و برنج مبنی بر افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها در اثر همزیستی میکوریزی و قارچ *p. indica* مطابقت دارد (Jogawat et al., 2013؛ پارسا مطلق، ۱۳۹۰)

براساس نتایج، روند تغییرات نشت الکترولیت در پاسخ به افزایش تنش شوری به‌صورت کاملاً افزایشی بوده به طوری که بیشترین میزان نشت یونی (شکل ۵) مربوط به تیمار شوری نه دسی زیمنس بر متر (۹۶ درصد) بود. تنش‌های محیطی از طریق افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در داخل سلول، موجب پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش پایداری غشاء و در نتیجه افزایش نشت مواد سیتوپلاسمی و هدایت الکتریکی سلول می‌شوند (Manchanda and Garg, 2008). افزایش نشت الکترولیت در اثر شوری در گیاهانی چون گندم (Farooq and Azam, 2006) و تاج‌خروس (Battacharjee and Mukherjee, 1996) گزارش شده است. در بررسی روابط رگرسیونی مشاهده شد که بین درصد نشت الکترولیت و میزان کلروفیل کل ( $R^2 = 97^{**}$ ;  $r = -94^{**}$ ) با افزایش شوری رابطه خطی و منفی وجود دارد (شکل ۶). به طوری که در پاسخ به شوری با نشت الکترولیت، میزان کلروفیل کاهش نشان داد. این بیانگر این است که گونه‌های اکسیژن فعال باعث ناپایداری غشای تیلاکوئیدی و در نتیجه آسیب به کلروفیل می‌گردند (عموآقایی و نیک اندیش، ۱۳۹۴)

تغییرات میزان کلروفیل a، بطور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) تحت تأثیر اثر متقابل قارچ و شوری قرار گرفت (جدول ۲). در شرایط شور مقدار کلروفیل a در برگ‌ها کاهش یافت (شکل ۴). اما مقدار کلروفیل a موجود در برگ در حضور قارچ شبه میکوریزا و شرایط شوری آب آبیاری نسبت به گیاهان آلوده نشده به قارچ افزایش معنی‌داری نشان داد. بیشترین میزان کلروفیل a ( $7/46$  میلی گرم بر گرم وزن‌تر) در گیاهان همزیست شده و تیمار عدم شوری و کمترین مقدار آن در تیمار شوری نه دسی زیمنس بر متر در گیاهان عدم همزیست ( $3/77$  میلی گرم بر گرم وزن‌تر) به دست آمد.

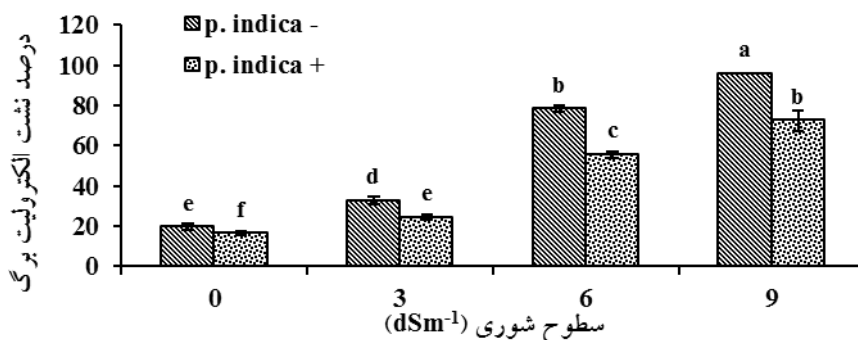
از طرفی افزایش میزان شوری در این مطالعه موجب کاهش معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) مقدار کلروفیل کل، کلروفیل b و کاروتنوئید در نعنای فلفلی شد. بطوری که میزان کاروتنوئید از  $0/54$  به  $0/17$  (میلی گرم بر گرم وزن‌تر) از تیمار شاهد به تیمار شوری نه دسی زیمنس بر متر کاهش یافت (جدول ۳). روند پاسخ کلروفیل b نسبت به افزایش تنش شوری مشابه کاروتنوئید کاهشی بوده و بیشترین کاهش مقدار کلروفیل b (حدود  $37/58$  درصد نسبت به شاهد) مربوط به تیمار شوری نه دسی زیمنس بر متر بود. با این وجود، بین شوری ۶ و ۹ دسی زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری در مقدار کلروفیل b مشاهده نشد. از سوی دیگر، نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان کلروفیل کل، کلروفیل b و کاروتنوئید برگ‌های نعنای فلفلی در کاربرد قارچ شبه میکوریزا به صورت قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از گیاهان شاهد بود (جدول ۳). نتایج به وضوح افزایش میزان کلروفیل b و کاروتنوئید (به ترتیب  $8/33$  و  $23/67$  درصد بیشتر از شاهد) را در برگ‌های گیاه نعنای فلفلی نشان می‌دهد.

بر پایه نتایج حاصل از این تحقیق علت کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی در افزایش شوری را می‌توان به کاهش فعالیت آنزیم‌های مؤثر در سنتز کلروفیل (ALA-دهیدروژناز) (Viera Santo et al., 2004)، اکسیداسیون نوری سریع‌تر کلروفیل نسبت به سنتز آن (امیرجانی و همکاران، ۱۳۸۹) و تخریب رنگدانه‌های کمکی نسبت داد. در همین راستا، پژوهشگران در پنبه (Saleh et al, 2012)، کلزا (آذری

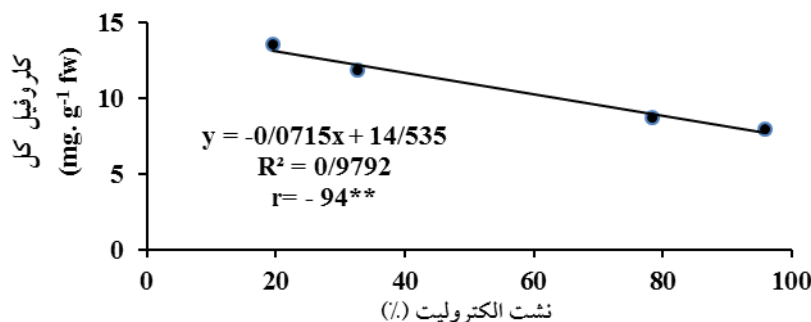
جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده تنش شوری و تلقیح با قارچ بر کلروفیل، کاروتنوئید، عملکرد ماده خشک گیاه نعنای فلفلی

عملکرد خشک بوته (Kg.ha) <sup>1</sup>	کاروتنوئید (mg.g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل (mg.g <sup>-1</sup> FW)		تیمار
		b	a+b	
شوری (dS.m <sup>-1</sup> )				
۱۷۳۰/۵۳ <sup>a</sup>	۰/۵۴۶ <sup>a</sup>	۶/۲۰۷ <sup>a</sup>	۱۳/۵۲۹ <sup>a</sup>	۰
۱۳۶۶/۲۸ <sup>b</sup>	۰/۵۰۵ <sup>a</sup>	۵/۳۲۶ <sup>b</sup>	۱۱/۷۸۱ <sup>b</sup>	۳
۱۰۰۵/۶۱ <sup>c</sup>	۰/۲۱۳ <sup>b</sup>	۴/۱۱۶ <sup>c</sup>	۸/۷۱۲ <sup>c</sup>	۶
۷۳۱/۱۸ <sup>d</sup>	۰/۱۷۲ <sup>b</sup>	۳/۸۷۸ <sup>d</sup>	۷/۹۱ <sup>d</sup>	۹
قارچ <i>Piriformospora indica</i>				
۱۰۰۰/۳۹ <sup>a</sup>	۰/۳۲۱ <sup>b</sup>	۴/۶۸ <sup>b</sup>	۱۰/۰۱ <sup>b</sup>	شاهد
۱۴۱۶/۴۱ <sup>c</sup>	۰/۳۹۷ <sup>a</sup>	۵/۰۷ <sup>a</sup>	۱۰/۹۴ <sup>a</sup>	<i>P.indica</i>

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۵- برهمکنش *P. indica* و شوری بر نشت الكلروئیت برگ. ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



شکل ۶- رابطه بین میزان کلروفیل با درصد نشت الكلروئیت. ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

عملکرد فتوسنتزی تحت تنش شوری جلوگیری می‌کند (عموآقایی و نیک اندیش، ۱۳۹۴). با توجه به نتایج، عملکرد ماده خشک گیاه تحت تأثیر اثر متقابل شوری و قارچ *P. indica* قرار نگرفت و روند تغییرات عملکرد ماده خشک

از سوی دیگر، کاربرد قارچ شبه میکوریزا کاهش نشت الكلروئیت را در برگ‌های گیاه نعنای فلفلی به دنبال داشت. تیمارهای همزیستی از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون غشاء به پایداری غشاء کمک کرده و با حفاظت از کلروفیل از کاهش



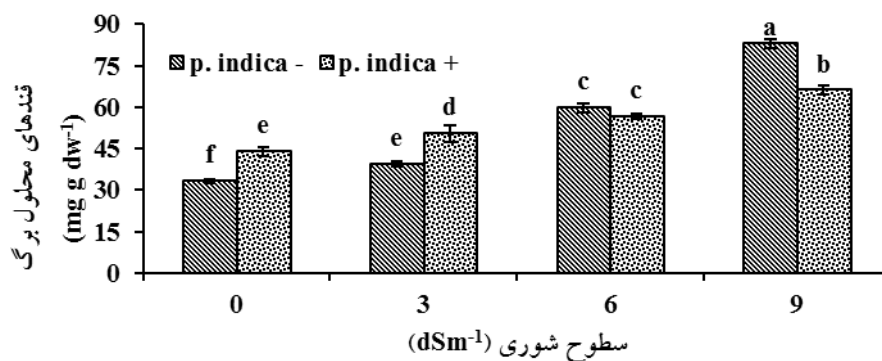
بر قندهای محلول برگ معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود. طبق نتایج موجود با افزایش شوری میزان قندهای محلول برگ افزایش معنی‌داری در همه تیمارهای اعمال شده در گیاه نعنای فلفلی داشت. بدین معنی که حضور قارچ *P. indica* به همراه افزایش شوری آب آبیاری از صفر به سه دسی زیمنس بر متر باعث افزایش قندهای محلول برگ نسبت به گیاهان بدون قارچ گردید (شکل ۷). با افزایش شوری تا شش دسی زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری در میزان قندهای محلول برگ بین کاربرد و عدم کاربرد قارچ در گیاهان مشاهده نشد، و رفته رفته با افزایش سطوح شوری میزان قندهای محلول در گیاه‌های تلقیح شده با قارچ شبه مایکوریز نسبت به گیاهان بدون قارچ کاهش یافته به طوری که بیشترین درصد قندهای محلول برگ در گیاهان همزیست نشده و در شوری نه دسی زیمنس بر متر ( $86.3$  میلی گرم در گرم وزن خشک) و کمترین قندهای محلول برگ در شاهد ( $33$  میلی گرم در گرم وزن خشک) بدست آمد.

بر اساس نتایج آزمون همبستگی و روابط رگرسیونی (شکل ۸)، رابطه خطی منفی و بالایی ( $R^2 = 0.92^{**}$ ;  $r = -0.978^{**}$ ) بین قندهای محلول برگ و عملکرد ماده خشک گیاه مشاهده شد که بیانگر این است که افزایش بیش از حد میزان قندهای محلول در برگ به دلیل اختلال در انتقال مواد فتوسنتزی به سایر اندام‌های گیاه و ریشه بوده که نقش منفی اثر پس خور این تجمع قند می‌تواند موجب اختلال در فتوسنتز و در نهایت کاهش رشد و وزن خشک گیاه شود. به طوری که در پاسخ به شوری با افزایش هر واحد افزایش قندهای محلول در برگ میزان عملکرد ماده خشک برگ به میزان  $18/54$  درصد کاهش یافت. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و سایر محققین احتمالاً قارچ با بهبود سیستم دفاعی از قبیل کاروتنوئید از پراکسیداسیون غشاء جلوگیری کرده و با افزایش میزان جذب آب و عناصر غذایی از طریق ریشه‌های خود باعث بهبود روابط آبی گیاه و پایداری غشاء سلول و تیلوکوئید به حفاظت از کلروفیل کمک کرده موجب افزایش عملکرد فتوسنتزی و افزایش سرعت رشد و تخصیص مواد

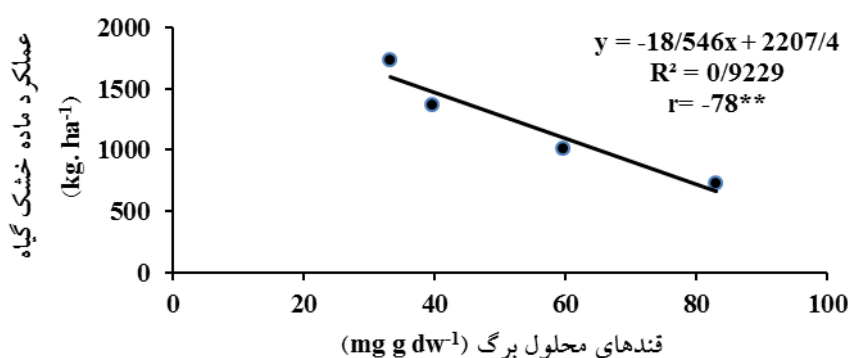
گیاه به شوری، به طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) کاهش می‌یابد. بطوری که با افزایش میزان شوری این کاهش شدت یافت و به حداکثر میزان خود در تیمار نه دسی زیمنس بر متر ( $57/74$  درصد بیشتر شاهد) رسید. آبیاری با آب شور منجر به اختلال در جذب مواد معدنی، کاهش فتوسنتز، سنتز پروتئین و یا متابولیسم کربوهیدرات می‌شود. تنش شوری از طریق کاهش هدایت روزنه‌ای و جلوگیری از فرآیندهای بیوشیمیایی و سنتز ساکاروز، موجب تقلیل وزن خشک گیاه می‌شود (سلیمی و همکاران، ۱۳۹۳) این نتایج با کاهش وزن خشک برگ و بوته در تنش شوری در گیاه کلزا (Ashraf and McNeilly, 2004) گندم (Munns and James, 2003) سویا (Sharifi et al., 2007) همخوانی دارد.

طبق جدول ۲ تفاوت آشکاری میان گیاه‌های تلقیح شده با قارچ *P. indica* و شاهد در میزان عملکرد خشک گیاه مشاهده شد، و موجب افزایش غلظت عملکرد ماده خشک گیاه تا بیش از  $41$  درصد شد. افزایش وزن خشک گیاه در حضور قارچ *P. indica* می‌تواند به دلیل افزایش جذب آب و حفظ محتوای نسبی آب بیشتر، همچنین به دلیل افزایش محتوای کلروفیل برگ و نقش فعالتر واکنش نوری در نعنای فلفلی باشد، از این رو آن‌ها از نظر متابولیسمی فعال‌تر و در نتیجه باعث رشد بیشتر گیاه و افزایش وزن خشک گیاهان همزیست می‌شود (Krishnaveni et al., 2015). احتمالاً کاربرد قارچ همزیست در گیاه از طریق افزایش سرعت رشد و تخصیص و انتقال مواد غذایی بین ریشه و ساقه موجب افزایش جذب و انتقال مواد غذایی در نهایت افزایش وزن خشک گیاه شده است. نتایج این آزمایش با نتایج بسیاری از محققان در گیاه یونجه (کرمی و زارع، ۱۳۹۳) و ذرت (Feng et al., 2002) مبنی بر افزایش وزن خشک گیاه در همزیستی مایکوریزی تحت شرایط تنش شوری مطابقت دارد. به نظر می‌رسد که قارچ *P. indica* با افزایش میزان محتوای رطوبت نسبی، کاهش مقدار نشت یونی و افزایش حفاظت از غشاهای سلولی، شرایط مناسب را برای رشد و افزایش ماده خشک فراهم می‌کند.

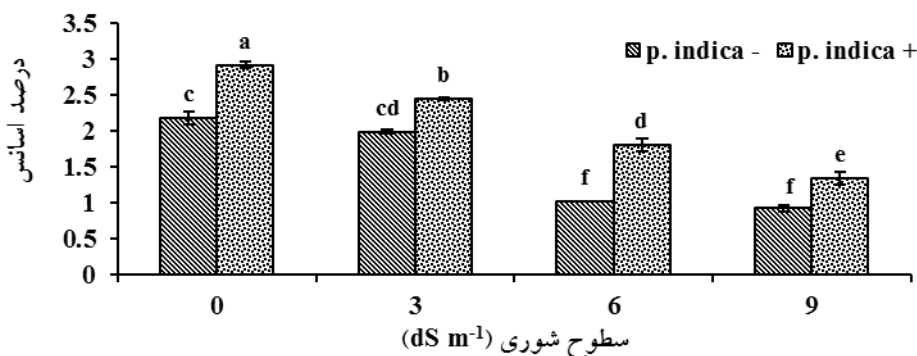
اثر شوری و قارچ شبه مایکوریزا و نیز برهمکنش بین آنها



شکل ۷- برهمکنش *P. indica* و شوری بر میزان قندهای محلول برگ. ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



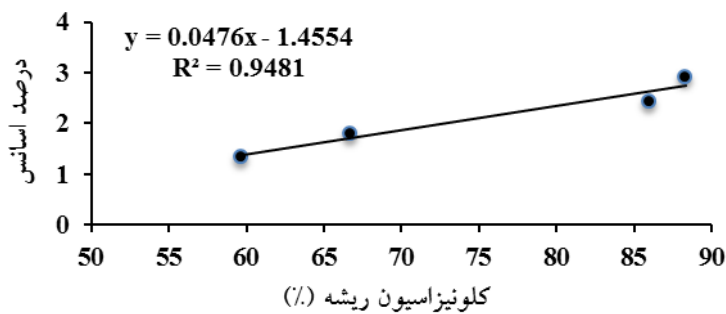
شکل ۸- رابطه بین میزان عملکرد ماده خشک گیاه با میزان قندهای محلول در برگ. ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



شکل ۹- برهمکنش *P. indica* و شوری بر درصد اسانس برگ. ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

نوع فلفلی در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری به صورت کاهش بود با این وجود، عکس‌العمل اسانس نسبت به تنش شوری در سطوح مختلف تیمار قارچی متفاوت بود، و مقدار اسانس در گیاهان همزیست شده با قارچ به صورت قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. با بررسی نمودار شکل ۹ می‌توان

فتوسنتزی بین ساقه و ریشه شده واز افزایش بیشتر قند در برگ‌ها جلوگیری می‌کند. در این مطالعه درصد اسانس برگ نوع فلفلی به‌طور معنی داری ( $P < 0/01$ ) تحت تأثیر اثر متقابل قارچ *p. indica* و شوری قرار گرفت (جدول ۲). بر مبنای نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها، تغییرات اسانس گیاه



شکل ۱۰ - رابطه بین درصد اسانس برگ با میزان کلونیزاسیون ریشه

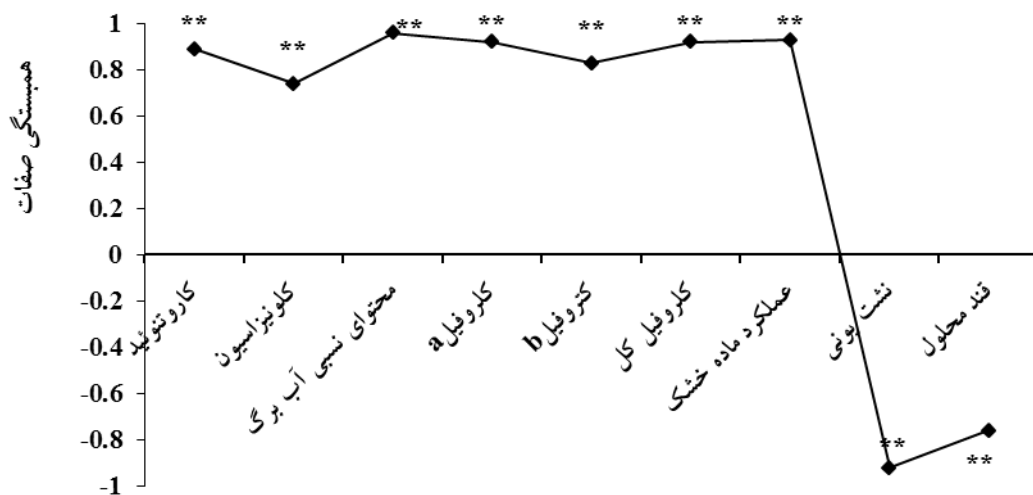
میزان اسانس گیاه نعناع فلفلی بوده و کاهش میزان درصد اسانس در حضور قارچ در شرایط تنش شوری را می‌توان در نتیجه کاهش کلونیزاسیون ریشه و کاهش جذب عناصر معدنی دانست.

بر پایه نتایج حاصل از بررسی آزمون همبستگی رابطه منفی و معنی‌داری بین میزان اسانس و صفات نش‌یونی و قندهای محلول برگ مشاهده شد، و صفات عملکرد وزن خشک گیاه، محتوای نسبی آب برگ، درصد کلونیزاسیون ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی همبستگی مثبت و معنی‌داری با درصد اسانس داشتند که در این میان وزن خشک برگ و محتوای نسبی آب برگ به ترتیب با ۹۳ و ۹۶ درصد بیشترین ضریب همبستگی را با درصد اسانس داشتند (شکل ۱۱). بنابراین، با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش بخصوص میزان درصد اسانس و سایر صفات مربوط به ترکیبات اسانس می‌توان چنین نتیجه گرفت که همزیستی با قارچ شبه میکوریزا در شرایط مختلف تنش شوری می‌تواند باعث افزایش میزان اسانس شود و در نهایت موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش می‌شود.

مطابق نتایج حاصل از آنالیز اسانس، تیمارهای شوری، قارچ و ترکیب شوری و قارچ بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مؤثر واقع شدند و منتول (۳۲/۰۹)، منتون (۱۵/۲۶)، نئومنتول (۵/۵۴)، متیل استات (۰/۵۳)، او ۸- سینئول (۱۰/۱۹) و منتوفوران (۶/۱۱) به عنوان عمده‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شدند (جدول ۴). تغییرات منتول، منتون، نئومنتول، متیل استات، بتا پینن، کاریوفیلن و جرماکریلن در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری به صورت افزایشی بود.

مشاهده کرد که در مجموع بیشترین میزان اسانس در شرایط بدون تنش و در حضور قارچ *p. indica* با افزایش ۳۴ درصدی نسبت به شاهد حاصل شد، و کمترین میزان اسانس به میزان ۰/۹۲ درصد مربوط به شوری نه دسی زیمنس بر متر در عدم حضور قارچ شبه میکوریزا بود که نسبت به تیمار شاهد ۵۷ درصد کاهش داشت.

به طور کلی در تمام سطوح شوری، کاربرد قارچ همزیست به طور قابل توجهی میزان اسانس را نسبت به گیاهان غیر همزیست افزایش داد. نتایج به دست آمده با یافته‌های محققان دیگر در گیاهان مختلف مطابقت دارد. برای مثال Khaosaad و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که تیمار ریشه گیاه پونه کوهی با قارچ میکوریزا در افزایش تجمع ترکیبات شیمیایی گیاهی در اندام هوایی گیاه مؤثر بوده است (Khaosaad et al., 2006). از طرفی در گیاه آرتمیسیا، همزیستی میکوریزی منجر به افزایش تعداد غده‌های کرکی در برگ‌ها شد و از این طریق میزان اسانس را افزایش داد (Kapoor et al., 2007). با این حال در تنش شوری به علت کاهش شدید عملکرد ماده خشک، عملکرد اسانس نیز کاهش یافت. محققین دیگری نیز در نتایج تحقیقات خود در رازیانه (Ashraf et al., 2004) و زنیان (Ashraf and Orooj, 2006) به وجود چنین رابطه‌ای اشاره نموده‌اند. بر اساس نتایج آزمون همبستگی و روابط رگرسیونی (شکل ۱۰)، رابطه خطی مثبت و بالایی ( $r = 0.9481$ ;  $R^2 = 0.9481$ ) بین درصد اسانس برگ و درصد همزیستی ریشه مشاهده شد به طوری که به ازای هر یک درصد افزایش میزان کلونیزاسیون ریشه، درصد اسانس برگ ۰/۰۴۷ درصد افزایش یافت. بیانگر اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ در افزایش



شکل ۱۱- همبستگی صفات با اسانس برگ نعناع فلفلی (\*\* معنی دار در سطح احتمال یک درصد)

جدول ۴- ترکیبات شناسایی شده در برگ گیاه نعناع فلفلی

<i>P. indica</i> (+)				<i>P. indica</i> (-)				متابولیت‌های ثانویه
سطوح شوری (دسی زیمنس بر متر)				سطوح شوری (دسی زیمنس بر متر)				
۹	۶	۳	۰	۹	۶	۳	۰	
۴۳/۱۷	۴۰/۱۲	۳۸/۸۵	۳۸/۲۳	۳۸/۴۷	۳۸/۱۴	۳۲/۶۵	۳۲/۰۹	Menthol
۶/۴۲	۶/۱۹	۶/۰۷	۵/۹۴	۶/۱۳	۵/۹۰	۵/۸۲	۵/۵۴	Neomenthol
۲۱/۴۸	۲۱/۳۴	۱۹/۰۹	۱۸/۲	۱۹/۲۸	۱۶/۹۵	۱۵/۹۸	۱۵/۲۶	Menthone
۴/۶۳	۴/۷۸	۵/۱۳	۵/۳۲	۵/۲۳	۵/۳۷	۵/۸۷	۶/۱۱	Menthofuran
۱/۰۷	۰/۹۶	۱/۲۵	۱/۲۹	۰/۷۹	۰/۹۶	۱/۱۵	۱/۱۹	Pulegone
۰/۸	۰/۷۳	۰/۶۴	۰/۶	۰/۶۷	۰/۶۴	۰/۵۲	۰/۵۳	Methyl acetate
۹/۰۲	۹/۱۳	۱۰/۲۷	۱۰/۶۲	۸/۹۲	۹/۴۶	۱۰/۱۲	۱۰/۱۹	1,8-Cineole
۰/۷۸	۰/۹۴	۱/۳۲	۱/۲۹	۰/۸۳	۰/۹۸	۱/۰۷	۱/۰۳	$\alpha$ - Pinene
۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۲۳	۰/۲	۰/۲۵	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲۱	Linalool
-	۰/۰۵	-	-	۰/۰۵	۰/۰۳	-	-	limonene
۱/۲۲	۱/۰۸	۰/۷۹	۰/۶۵	۰/۹۶	۰/۷۷	۰/۲۲	۰/۱۸	$\beta$ -pinene
۲/۱۸	۱/۶۷	۱/۰۷	۱/۳۹	۱/۹۷	۱/۲۷	۱/۰۹	۰/۷۶	Caryophyllene
۲/۰۴	۲/۹۶	۲/۲۹	۱/۳	۱/۷۱	۱/۵۸	-	۰/۹۹	Germacrene
۰/۵۹	۰/۶۱	۰/۶۳	۰/۶۹	-	۰/۵۷	۰/۶۱	۰/۹۳	Terpineol
۰/۵۳	۰/۶۸	۰/۹۱	۰/۹۳	۰/۳۴	۰/۴۹	۰/۵۸	۰/۶۲	Sabinene
۰/۶۷	۰/۶۴	۱/۰۶	-	۰/۵	۰/۵۷	-	۱/۱۷	Piperitone

ثانویه در گیاه دارویی مریم گلی (Bettaieb *et al.*, 2009) و نعناع (Timperio *et al.*, 2008) در شرایط تنش می‌باشد. همچنین درصد ترکیبات او ۸- سینئول، منتوفوران، سابینن،

بطور کلی افزایش میزان ترکیبات اسانس در گیاه در اثر تنش را می‌توان به پاسخ‌های گیاه به شرایط تنش دانست بطوریکه نتایج تحقیقات دیگر محققین نیز مبین افزایش سطوح متابولیت‌های

نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد (Loomis, and Correau, 1972)، به نظر می‌رسد که تعدادی از ریشه‌های قارچ وارد سیستم گیاه شده و سبب کاهش آبسزیک اسید و افزایش میزان سیتوکینین می‌شوند و از این طریق موجب افزایش جذب آب و گسترش سیستم ریشه‌ای گیاه شده و تعداد دیگری از ریشه‌ها در خارج از سیستم ریشه اسیدهای آلی محلول کننده فسفر مانند اسید مالیک را ترشح نموده و موجب افزایش جذب فسفر توسط ریشه گیاه می‌شوند (Khalvati et al., 2005). از طرفی افزایش غلظت و ترکیبات اسانس در گیاهان همزیست توسط میکروارگانیزم‌ها به عنوان یک واکنش دفاعی و ضد میکروبی بوده (Sangwan et al., 2001) و می‌توان گفت این قارچ علاوه بر تحریک گیاه برای افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه، با گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب آب و عناصر غذایی بویژه فسفر و نیتروژن به وسیله هیف‌های قارچی موجب افزایش اسانس در گیاه دارویی نعنای فلفلی می‌شود.

#### نتیجه گیری کلی:

در مجموع نتایج نشان داد تنش شوری با آسیب به غشای سلول گیاه نعنای فلفلی، کاهش روابط آبی گیاه و تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی آن موجب کاهش عملکرد ماده خشک گیاه می‌شود. از سوی دیگر، کاربرد *P. indica* به خصوص در شرایط تنش شوری از طریق افزایش دسترسی به عناصر غذایی و انتقال آن به گیاه، باعث افزایش عملکرد ماده خشک و اسانس می‌شود و با تعدیل اثر تخریبی شوری و بهبود وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و سنتز متابولیت‌های ثانویه، می‌تواند باعث افزایش تحمل گیاه به تنش شوری و همچنین افزایش عملکرد آن در مناطقی با خاک یا آب شور گردد.

پولگون، آلفا پینن و پیریتون با افزایش شوری به طور قابل توجهی کاهش یافت. علت افزایش یا کاهش برخی از ترکیبات در گیاه تحت تنش شوری ممکن است به دلیل تغییرات ایجاد شده در برخی از آنزیم‌های مربوط به مسیرهای بیوسنتزی و یا تجزیه‌ای دخیل در متابولیسم متابولیت‌های ثانویه باشد که ممکن است حتی در سطح بیان برخی از ژن‌ها نیز چنین تغییراتی رخ دهد (آقایی و همکاران، ۱۳۹۳).

مطالعات انجام شده نشان داده است که استفاده از قارچ همزیست در سطوح مختلف شوری برتری بارزی از نظر کیفیت اسانس نسبت به عدم کاربرد آن داشت. به طوری که در بیشترین میزان شوری موجب افزایش چشمگیر در متول (۳۴/۵۲ درصد)، متون (۱۹/۲۶ درصد)، نئومتول (۷/۲۲ درصد) و متیل استات (۵۰/۹۴ درصد) نسبت به شاهد شد. به طور کلی متول دارای بالاترین درصد در بین ترکیبات اسانس در تمام تیمارهای مورد مطالعه بود که بیانگر کیفیت مطلوب اسانس این گیاه دارویی است. بیشترین میزان متول مربوط به تیمار قارچی در شوری نه دسی زیمنس بر متر و کمترین میزان متول مربوط به تیمار شاهد بود. به وضوح روند افزایشی متول بیانگر اثر مثبت فعالیت قارچ بر تجمع متابولیت یاد شده است. در همین رابطه پژوهش‌ها نشان داد که همزیستی میکوریزا در گیاه موجب افزایش میزان لیمونن و کارون در گیاه شوید و ژرانیول و لینالوا در گشنیز (Kapoor et al., 2002) و تجمع لینالول و متیل کابیکول در ریحان (Zolfaghari et al., 2013)، و همزیستی *p. indica* باعث کافتیک اسید در برگ‌های کنگر فرنگی (قاسم نژاد و بابایی زاد، ۱۳۹۰) شد. می‌توان اظهار داشت از آنجایی که اسانس‌ها ترکیباتی ترپنوییدی بوده که واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئید) نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر

#### منابع

امیرجانی، م. ر. (۱۳۹۱) بررسی مقایسه‌ای بردباری دو واریته گندم (*Triticum aestivum*) در تولید کلروفیل انتقال الکترون نسبت به تنش شوری، مجله علمی پژوهشی سلول و بافت ۲: ۵۷-۶۷.

آقابابائی، ف. و رئیس، ف. (۱۳۹۰) اثر همزیستی میکوریزی بر میزان کلروفیل، فتوستتوز و راندمان مصرف آب در چهار ژنوتیپ بادام در استان چهارمحال و بختیاری. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک. ۵۶: ۹۱-۱۰۱.

آقایی، ک.، طایی، ن. کنعانی، م. ر. و یزدانی، م. (۱۳۹۳). اثر تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو گونه مریم گلی (*Saliva*). فرآیند و کارکرد گیاهی. ۹: ۹۶-۸۵۸.

آذری، آ.، مدرس ثانوی، س. ع. م. عسکری، ح. قناتی، ف. ناجی، ا. م. و علیزاده، ب. (۱۳۹۱) اثر تنش شوری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو گونه کلزا و شلغم روغنی (*Brassica napus and B. Rapa*)، مجله علوم زراعی ایران. ۲: ۱۲۱-۱۳۵.

پارسا مطلق، ب.، محمودی، س. سیاری زهان، م. ح. نقی‌زاده، م. (۱۳۹۰) تأثیر قارچ میکوریزا و کود فسفر بر غلظت رنگیزه‌های فتوستتزی و عناصر غذایی لوبیا (*Phaseolus vulgaris L*) در شرایط تنش شوری. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی. ۲: ۲۳۳-۲۴۴.

جمشیدی، ا.، قلاوند، ا. سفیدکن، ف. محمدی گل تپه، ا. (۱۳۹۲) اثر مثبت قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد رازیانه تحت تأثیر مواد آلی. ویژه نامه نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار. ۱۴۳-۱۵۶.

جوادی پور، ز.، موحدی دهنوی، م. بلوچی، ح. ر. (۱۳۹۲) ارزیابی پارامترهای فتوستتزی، محتوا و فلورسانس کلروفیل برگ ارقام گلرنگ تحت تنش شوری، مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۲: ۳۵-۳۶.

حاجی بلند، ر. و ابراهیمی، ن. (۱۳۹۰) تأثیر پلی آمین‌های آگزوژن بر رشد، فتوستتوز و متابولیسم فنل‌ها در گیاه توتون تحت تنش شوری، زیست‌شناسی گیاهی ۸: صفحه ۱۳-۲۶.

سپهری، م.، صالح راستین، ن. حسینی سالکده، ق. خیام نکویی، م. (۱۳۸۸) بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *P. indica* بر بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه جو (*Hordeum vulgare L*) به تنش شوری، مجله علمی پژوهشی مرتع ۳: ۵۰۸-۵۱۸.

سلیمی، ف.، شکاری، ف. عظیمی، م. ح. زنگانی، ا. (۱۳۹۰). نقش متیل جاسمونات در بهبود مقاومت به شوری از طریق تأثیر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک در گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L*). ۴: ۷۱۱-۷۰۰.

فضائلی، ع.، بشارتی، ح. و پیرولی بیرانوند، ن. (۱۳۸۹) تأثیر شوری بر کارایی همزیستی سینوریزوبیوم‌میلوتی با ارقام مختلف یونجه، مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب) ۳: ۲۵۳-۲۶۳.

قاسم نژاد، ع. و بابایی‌زاد، و. (۱۳۹۰). رشد رویشی و میزان کافنیک اسید برگ کنگر فرنگی (*Cynara scolymus L*) تحت تأثیر قارچ میکوریز *P. indica*. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی ۱: ۱۳۳-۱۴۰.

کاظم الوندی، ر.، شریفان، ا. آقازاده مشگی، م. (۱۳۸۹) بررسی ترکیب شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*). مجله علمی پژوهشی پاتوبیولوژی مقایسه‌ای ۴: ۳۵۵-۳۶۴.

کرمی، ع. و زارع، م. ح. (۱۳۹۳) پاسخ فیزیولوژیک و تغذیه‌ای گیاه یونجه (*Medicago sativa. cv hamedani*) در تلقیح باقارچ درون‌زی *P. indica* و باکتری *Azospirillum Spp* تحت تنش شوری، نشریه تولید گیاهان زراعی ۱: ۱۰۹-۱۲۹.

رحمت زاده، س.، خارا، ج. و کاظمی تبار، س. ک. (۱۳۹۱) تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر بهبود رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهان پروانش باززایی شده تحت تیمار تریپتوفان طی فرآیند سازگاری. زیست‌شناسی گیاهی ۱۶: ۲۷-۴۰.

عموآقایی، ر. و نیک‌اندیش، ف. (۱۳۹۴). اثر تلقیح ریشه دو رقم یونجه (*Medicago sativa*) با جدایه‌هایی از گونه‌های سینوریزوبیوم و باسیلوس بر رشد، مقدار کلروفیل و تمامیت غشای سلول در شرایط تنش شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۱: ۱۵۲-۱۴۰.

محمودزاده، م.، رسولی صدقیانی، م. ح. حسینی، ع. برین، م. (۱۳۹۴). اثر تلقیح گونه‌های قارچ میکوریز (AMF) بر رشد و مواد مؤثره نعناع فلفلی (*Mentha piperita*). نشریه علوم باغبانی ۳: ۳۴۲-۳۴۸.

- Ashraf, M., and McNeilly, T. (2004) Salinity tolerance in Brassica oilseeds. *Critical Review of Plant Science* 2: 157-174.
- Ashraf, M., Orooj, A. (2006) Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* [L.] Sprague). *Journal of Arid Environments* 64: 209-220.
- Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman, S. and Rha, E. S. (2004) Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). *Photosynthetica* 42: 543-550.
- Auge, R. M. Stodola, A. J. W. Times, J. E. and Saxton A. M. (2001) Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Journal of Plant and Soil* 230: 87-97.
- Battacharjee, S. and Mukherjee. A. K. (1996) Ethylene evolution and membrane lipid peroxidation as indicators of salt injury in leaf tissues of Amaranthus seedlings. *Indian Journal Experimental Biology*. 34: 279-281.
- Bettaieb, I., Zakhama, N. Aidi Wannes, W. Marzouk, B. (2009) Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Science. Horticulture* 120: 271-275.
- Deshmukh, S., Huckelhoven, R. Schafer, P. Imani, J. Sharma, M. Weiss, M. Waller, F. and Kogel, K. H. (2006) The root endophytic fungus *P. indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103:18450-18457.
- Druege, U., Baltruschat, H. and Franken, P. (2007) *P. indica* promotes adventitious root formation in cuttings. *Journal of Scientia Horticulturae* 112: 422-426.
- Hajer, A. S., Malibari, A. A. Al-Zahrani, H. S. and Almaghrabi, O. A. (2006) Responses of three tomato cultivars to sea water salinity. Effect of salinity on the seedling growth. *African Journal of Biotechnology* 5: 855-861.
- Farooq, S., and Azam, F. (2006) The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *Journal of Plant Physiology* 163: 629-637.
- Feng, G., Zhang, F. S. Li X, L. Tian, C. Y. Tang, C. Rengel, Z. (2002) Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*. 12:185-190.
- Fricke, W., and Peter, W. S. (2002) The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A Study at the cell level. *Plant Physiology* 1: 374-388.
- Jogawat, A., Saha, Sh. Bakshi, M. Dayaman, V. Kumar, M. Dua, M. Varma, A. Oelmüller, R. Tuteja, N. and Kumar Johri, A. (2013) *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signaling and Behavior* 8:10, e26891.
- Kapoor, R., Chaudhary, V. Bhatnagar, A. K. (2007) Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annul*. *Mycorrhiza* 17: 581-587.
- Kapoor, R., Giri, B., Mukerji, K.G. (2002) *Glomus macrocarpum*: a potential bio inoculant's to improve essential oil quality and concentration in dill (*Anethum graveolens* L.) and carum (*Trachyspermum ammi* (Linn.) Sprague). *World. J Microbiol. Biotechnol* 18: 459-463.
- Khalvati, M. A., Mozafar, A. and Schmidhalter, V. (2005) Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology Stuttgart* 6: 706-712.
- Khaosaad, T., Vierheilg, H. Nell, M. Zitterl-Eglseer, K. and Novak, J. (2006) Arbuscular mycorrhiza alters the concentration of essential oils in oregano (*Origanum sp.*, *Lamiaceae*). *Mycorrhiza* 6: 443-446.
- Kochert, G. (1978) Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Helebust, J. A., Craigie J. S(Ed): *Hand book of physiological methods*. PP. 96-97 Cambridge unir Press, Cambridge.
- Krishnaveni, N., Ramani, G. Ranjitha L., and Cibichakravarthy, B. (2015) Novel Cultivable Mycobiont *P. indica* as Plant Growth Promoting Endophyte. *Int. Research. Journal. Biological Science* 1: 11-15.
- Lichtenthaler, H. K. Wellburn, A. R. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11:591-592.
- Loomis, W. D., and Corteau, R. (1972) Essential oil biosynthesis. *Rec. Adv. Phytochem* 6: 147-185.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologia Plantarum* 30: 595-618.
- Munns, R., and James, R. A. (2003) Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil* 253: 201-218.
- Norris, I. R., Read, D.J. and Varma, A. K. (1992) *Methods in Microbiology. Techniques for Study of Mycorrhiza*. Academic Press, London 450 pp.
- Olfa Baatour, R., Kaddour, W. Aidi Wannes, M. and Lachaal Marzouk, B. (2009) Salt effects on the growth, mineral nutrition, essential oil yield and composition of Marjoram (*Origanum majorana*). *Acta Physiologiae Plantarum* 10: 0374.
- Peskan-Berghofer, T., Shahollari, B. Pham-Huong-Giong Hehl, S. Markert, C. Blanke, V. Kost, G. Varma, A. Ölmüller, R. (2004) Association of *P. indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmic reticulum and at the plasma membrane. *Physiologia Plantarum* 122: 465-477.

- Pirdashti, H., Yaghoobian, Y. Mohammadi Goltapeh, E. and Hosseini, S. J. (2012) Effect of mycorrhiza-like endophyte (*Sebacina vermifera*) on growth, yield and nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Journal of Agricultural Technology* 5: 1651-1661.
- Roodbari, N., Roodbari, S. Ganjali, A. and Ansarifard, M. (2013) The Effect of Salinity Stress on Growth Parameters and Essential oil percentage of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *International Journal of Basic and Applied Science* 1: 294-299.
- Safir, G. R., Boyer, J. S. and Gerdemann, J.W. (1972) Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Plant Physiology* 49:700-703.
- Saleh, B. (2012) Salt stress alters physiological indicators in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Journal of Soil Environment* 2: 113-118.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A. Shabih, F. and Sangwan, R. S. (2001) Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation* 34: 3-21.
- Sharifi, M., Ghorbanli, M. Ebrahimzadeh, H. (2007) Improved growth of salinity-stressed soybean after inoculation with salt pre-treated mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology* 9: 144-151.
- Timperio, A. M., Egidi, M. G. and Zolla, L. (2008) Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP). *Journal of Proteomics* 71: 391-411.
- Varma, A., Verma, S. Sudha Sahay, N. S. Bütehorn, B. and Franken, P. (1999) *P. indica*, a cultivable plant growth promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2741-4.
- Viera Santo, C. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae* 1: 93-99.
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P. Wyss, U. and Piche, Y. (1998) Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 12: 5004-5007.
- Waller, F., B. Achatz, H. Baltruschat, J. Fodor, K. Becker, M. Fischer, T. Heier, R. Huckelhoven, C. Neumann, D. Wettstein, P. F. and Kogel, K. (2005) The endophytic fungus *P. indica* reprograms barley to salt- stress tolerance, disease resistance, and higher yield. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 18450-18457.
- Zolfaghari, M., V. Nazeri, F. Sefidkon and Rejali, F. (2013) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. *Iranian Journal of Plant Physiology* 2: 643- 650.