

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

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

^۱گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، ^۲گروه 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 *P. indica*) و تنش شوری (صفر، ۳، ۶، ۹ دسی‌زیمنس بر متر) بود. نتایج نشان داد با افزایش شوری میزان کلوبنیزاسیون ریشه، درصد اسانس برگ، کلروفیل a، کاروتونئید، عملکرد ماده خشک گیاه و محتوای نسبی آب برگ به صورت خطی کاهش یافت و موجب افزایش میزان قندهای محلول برگ، درصد نشت یونی و ترکیبات اسانس از قبیل: متول، 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 به‌وسیله 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، متابولیت مای 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 فتوستراتز 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

دارد (کرمی و زارع، ۱۳۹۳). نتایج تحقیقات نشان داده است که این میکرووارگانیسم‌ها با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و بوم شناختی 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 (آمادگی دفاعی) وابسته به فعالیت مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی در پی دارد و امکان توسعه کشت آنها را در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنفس‌های غیرزیستی و (Waller *et al.*, 2005; Deshmukh *et al.*, 2006; Druge *et al.*, 2007) زیستی فراهم می‌کنند (Zolfaghari *et al.*, 2013).

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 نعناع 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 داروئی 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 انسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی

نشن 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. نشن شوری علاوه بر کاهش سطح برگ موجب کاهش وزن خشک گیاه می‌شود که این امر دلیلی بر کاهش سطح فتوستز کننده و نیز به هم خوردن تعادل هورمونی درون گیاه است (سلیمی و همکاران، ۱۳۹۳). نشن شوری علاوه بر شاخص‌های رشد، تولید متابولیت‌های ثانویه و انسان‌ها را در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار می‌دهد و در پاسخ به نشن تولید متابولیت‌های ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهد (آقایی و همکاران، ۱۳۹۳). برای نمونه، برخی از محققین ضمن بررسی اثر نشن شوری بر روی رازیانه و زینان ملاحظه نمودند که در هر دو گیاه با افزایش نشن شوری میزان انسانس کاهش یافت (Ashraf and Orooj, 2004; Ashraf *et al.*, 2006). 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 نشن‌های محیطی مانند شوری، به یک راهکار جهانی تبدیل شده است (حاجی نیا و ابراهیمی ، ۱۳۹۰). قارچ اندوفیت *P. indica* متعلق به خانواده *Sebacinaeae*، از رده قارچ‌های بازیودمیست‌ها 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 تک لپه‌ای میزبان قارچ *P. indica* هستند (Peskan-Berghofer *et al.*, 2004)؛ جمشیدی و همکاران، ۱۳۹۲). علاوه بر این، در مقایسه با قارچ‌های مایکوریزی 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

پس از گذشت این مدت و اطمینان از اثربخشی تیمار شوری تا ابتدای مرحله گلدھی با آب شور آبیاری شدند، نمونه برداری ها برای صفات مورد نظر در شروع مرحله گلدھی 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 اندازه گیری درصد کلونیزاسیون ریشه، ۴۰ قطعه یک سانتیمتری از ریشه های رنگ آمیزی شده روی لام قرار داده شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری درصد کلونیزاسیون اندازه گیری شد (Norris et al., 1992). توزیع کلامیدوسپورها (Varma et al., 1999) در طول ریشه به عنوان معیار برای اندازه گیری درصد کلونیزاسیون در نظر گرفته شدند.

محاسبه غلظت کلروفیل ها و کاروتینوئید از برگ های کاملاً توسعه یافته با استفاده از روش لیچتن تالر و ولبرن (1994) انجام شد و میزان جذب نور توسط عصاره استخراج شده در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد.

جهت اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ دیسک هایی از قسمت میانی پهنه کبرگ تهیه و پس از توزین به لوله های درب دار حاوی آب مقطر منتقل و به مدت بیست و چهار ساعت در دمای چهار درجه سانتی گراد و در تاریکی قرار گرفتند. پس از آن دیسک های برگی از آب خارج و جهت حذف رطوبت اضافی بین دو لایه کاغذ صافی خشک و سپس وزن آماس آنها اندازه گیری شد. سپس نمونه ها به آون ۷۰ درجه سانتی گراد 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.

$$\text{RWC} = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس})}{(\text{وزن خشک} + \text{وزن آماس})}$$

جهت اندازه گیری درصد نشت الکتروولیت ها از سلول نمونه های برگ درون آب مقطر با حجم ۱۵ سی سی و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت پس از آن هدایت

در شرایط شور طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها:

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 پایین تر از سطح دریا به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوك های 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 دسی زیمنس بر متر) در سال زراعی ۱۳۹۴ اجرا شد.

سویه قارچ *P. indica* از آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه و در محیط کشت مایع کفر (Kafer) در پتريدیش به مدت دو هفته کشت گردید سپس به محیط کشت مایع منتقل و به مدت دو هفته در انکوباتور با دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی گراد و ۵۰ دور در دقیقه، در تاریکی قرار داده شد. ریزوم های نعناع فلفلی به دو قسمت بدون تلقیح و تلقیح با قارچ تقسیم شدند و ریزوم های تیمار تلقیح با قارچ به مدت سه ساعت در سوسپانسیون قارچ (با غلظت 10^9 کلونی در میلی لیتر) غوطه ور گردید.

ریزوم های نعناع فلفلی مورد استفاده در این آزمایش، از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی مازندران تهیه گردید در تاریخ اول خرداد، کاشت ریزوم ها در مزرعه در کرت هایی با ابعاد 2×2 متر و فاصله ۲۵ سانتیمتری روی ردیف و فاصله ۳۰ سانتیمتری بین ردیف صورت گرفت. بلا فاصله 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 قطره ای انجام شد. و تنش شوری در مرحله شش برگی شدن بوته ها صورت گرفت. به منظور کنترل شوری با دستگاه هدایت سنج مقدار هدایت الکتریکی خاک مزرعه کنترل گردید.

برگ (جدول ۲) در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. تیمار قارچ *P. indica* نیز بر تمام صفات مورد اندازه گیری اختلاف معنی داری 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 معنی دار شد.

تصاویر به دست آمده از بررسی میکروسکوپی ریشه نشان می دهد که قارچ *P. indica* قابلیت جوانهزنی و فعالیت در ریشه نعناع فلفلی را دارد و کلامیدوسپورهای قارچ تقریباً در بیشتر نقاط ریشه دیده شدند. به طوری که تعداد انبوهای از ریشه های قارچ و اندامک های کروی در سطح خارجی و بخش کورتکس ریشه مشاهده می شود (شکل های ۱). میسلیوم قارچ در اپیدرم و سلول های قشر ریشه نفوذ کرده و کلامیدوسپور گلابی شکل نیز بصورت بین سلولی در بافت کورتکس ریشه مشاهده شد. علاوه بر این اطلاعات بدست آمده از تجزیه داده های آزمایش نشان می دهد که میزان کلونیزاسیون قارچ به طور معنی داری ($P < 0.01$) تحت تأثیر اثر منفی شوری قرار گرفت (جدول ۲) و با افزایش شوری میزان همزیستی ریشه به طور معنی داری کاهش یافت. با بررسی نمودار شکل ۲ می توان مشاهده کرد که درصد آводگی ریشه با *P. indica* بین ۸۸/۳ تا ۵۹/۶ درصد متغیر بود، و با افزایش میزان شوری درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه نعناع فلفلی با قارچ شبه میکوریزا حدود ۳۲/۴۵ درصد در تیمار شوری نه دسی زیمنس بر متر نسبت به عدم تیمار شوری، کاهش یافت. نتایج این آزمایش نشان می دهد که میزان توسعه *P. indica* با افزایش میزان شوری، کاهش می باید که نشان دهنده اثر بازدارنده افزایش شوری بر توسعه فعالیت پیریفورموسپورا ایندیکا است. این یافته ها ممکن است به اثر منفی شوری بر میزان فتوستتر و کاهش عرضه کربن به قارچ، همچنین به دلیل اثر مهاری سدیم و کلر بر رشد ریسه های قارچ نسبت داده شود، در نهایت می تواند همزیستی قارچ با گیاه کاهش یابد. این نتایج با همزیستی قارچ شبه مایکوریزا در برنج در شرایط شوری (Pirdashti et al., 2012) مطابقت دارد.

جدول ۱- تجزیه شیمیایی آب دریا		
پارامتر	واحد	مقدار
هدايت الکتریکی (EC)	دسی زیمنس بر متر	۱۵
اسیدیته (pH)	-	۸/۲
سدیم	میلی گرم در لیتر	۳۷۸/۴۸
پتاسیم	میلی گرم در لیتر	۷۷/۱۱
کلسیم	میلی گرم در لیتر	۱۷
منیزیم	میلی گرم در لیتر	۵۴/۵

الکتریکی اولیه به وسیله دستگاه EC متر اندازه گیری شد. سپس نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد اتوکلاو شد و سپس میزان هدايت الکتریکی به وسیله دستگاه EC متر اندازه گیری شد.

$\text{درصد نشت یونی} = \frac{\text{میزان قندهای محلول گیاه}}{\text{میزان قندهای محلول گیاه}} \times 100$

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 اسپکتروفوتومتر 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 اسانس گیری 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 میانگین ها نیز با روش آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل رسم شدند.

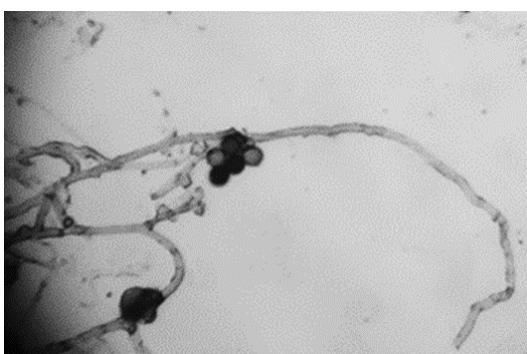
نتایج و بحث:

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

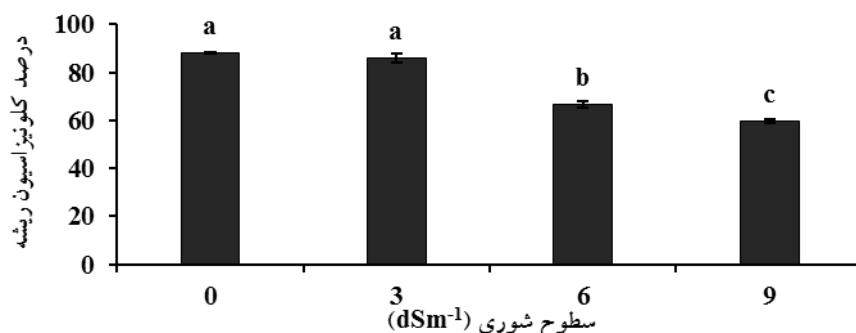
جدول ۲- میانگین مربعتات اثر تیمارهای مورد بررسی بر رنگیزهای فتوستزی و صفات فیزیولوژیک گیاه نعناع فلفلی

منابع تغییرات (درصد)	ضریب تغییرات S×P	قارچ (P)	شوری (S)	بلوک	درجه آزادی		
						خطای آزمایشی	۱۴
						۳	۲
۴/۰۷	۳/۰۴	۲۶۱/۷۰۸**	۳۲۹۳۰/۰۴**	۲۶۱/۷۰۸**	۱/۰۴	درصد کلونیزاسیون	
۷/۱۷	۷۵۲۶/۴۶	۲۱۱۰۰/۰۷ns	۱۰۳۸۴۰۲/۰۵**	۱۱۳۲۸۲۵/۰۶**	۵۲۱۰/۳۴	عملکرد خشک گیاه	
۵/۱۱	۷/۶۵	۲۶۷/۸۸**	۱/۰۳**	۱۵۱۹/۰۳**	۱۳/۸۱	قندهای محلول	
۶/۲۲	۰/۰۱۲	۰/۱۰۸**	۱/۷۶**	۲/۴۸۶**	۰/۰۰۰۸	درصد اسانس	
۳/۴۳	۰/۰۳۷	۰/۱۳۶**	۱/۷۶**	۱۴/۳۰۸**	۰/۰۰۱۹	کلروفیل a	
۷/۰۴	۰/۱۱۸	۰/۱۳۵ns	۰/۸۹۵*	۷/۱۰۷**	۰/۰۱۷	کلروفیل b	
۴/۱۵	۰/۱۹	۰/۳۸۲ns	۵/۱۸**	۴۱/۴۴**	۰/۰۱۳	کلروفیل کل	
۲۰/۳۴	۰/۰۰۳۵	۰/۰۱۳ns	۰/۰۳۵*	۰/۲۲۵**	۰/۰۰۱۳	کاروتینید	
۲/۶۷	۴/۱	۱۱۸/۵۱۴**	۱۴۵۵/۹**	۲۰۹۳/۴۳**	۱۸/۵۶	محتوی نسبی آب برگ	
۸/۳	۱۶/۸۶	۱۵۸/۰۸**	۱۲۵۱/۹۴**	۵۸۹۲/۹۲**	۱/۴	نشت الکترولیت	

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



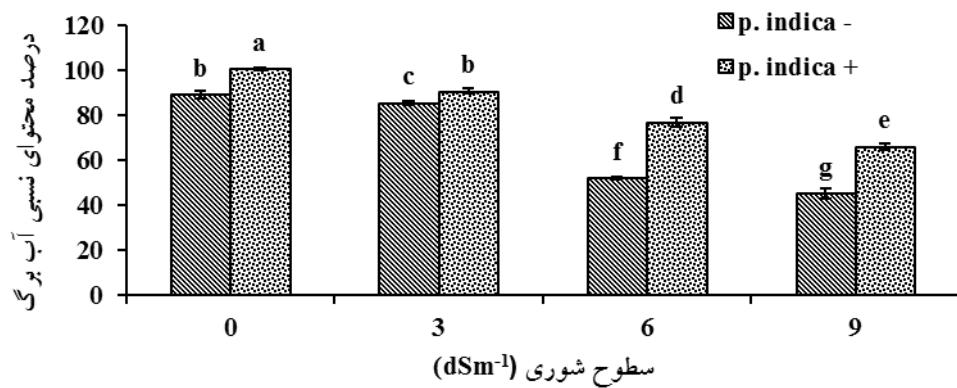
شکل ۱- کلامیدوسپور داخل سلولی *P. indica* در کورتکس ریشه (سمت راست)، ریسه و اسپورهای قارچ *P. indica* تشکیل شده بر سطح خارجی ریشه (سمت چپ).



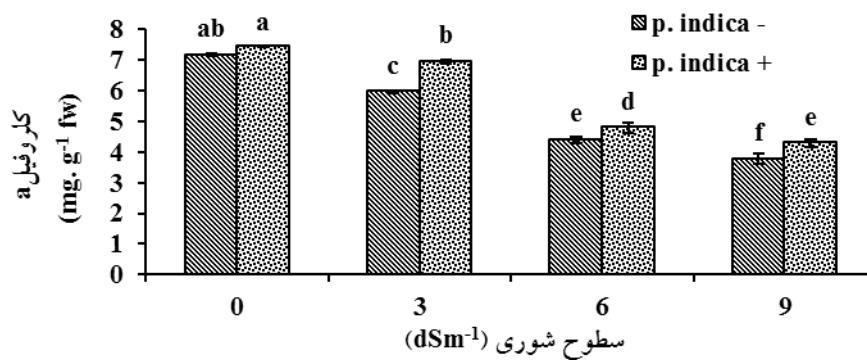
شکل ۲- برهمکنش *P. indica* و شوری بر میزان کلونیزاسیون ریشه ستون های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

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

مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و قارچ *P. indica* در صفات محترای 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 ستز دیواره سلولی، سرعت طویل شدن سلول‌ها و تورژسانس کاهش یافته، دیواره سلول‌ها سخت و ضخیم می‌گرددن (Fricke and Peter, 2002) احتمالاً قارچ از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل 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 میزان می‌گردد و بر آبگیری بافت و فعالیت‌های فیزیولوژیکی برگ تأثیر گذاشته و موجب افزایش میزان جذب آب و عناصر غذایی و بهبود روابط آبی گیاه میزان می‌گردد (Auge *et al.*, 2001). سفیر و همکاران (Safir *et al.*, 1972) نیز گزارش کردند که اثر اصلی میکوریزا در گیاه میزان به علت کاهش مقاومت به انتقال آب در ریشه است.

طبق نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها، روند

اعمال شده در گیاه نعناع 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 زیمنس بر متر و عدم حضور قارچ (۴۵/۲۲ درصد) به دست آمد (شکل ۳). بر طبق نتایج این تحقیق، با نظر می‌رسد که افزایش فشار اسمزی محلول اطراف ریشه موجب کاهش پتانسیل آب در آن محیط و درنتیجه 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 توتوون (حاجی بلند و ابراهیمی، ۱۳۹۰) به کاهش کلروفیل a و b تحت شرایط شور اشاره کردند. به نظر می‌رسد تیمار قارچی نقش به سزاپی در حفاظت رنگدانه‌های فتوستزی کلروفیل a و b و کاروتونوئیدها در شرایط تنفس داشته است. افزایش میزان کلروفیل برگ‌ها در اثر همزیستی شبیه میکوریزایی می‌تواند به دلیل افزایش جذب فسفر و عناصر ضروری در بیوسونت کلروفیل (منیزیم و آهن) از خاک توسط این قارچ‌ها باشد (آقا بابایی و همکاران، ۱۳۹۰؛ رحمت زاده و همکاران، ۱۳۹۱). گمان می‌رود میسلیوم‌های بروون ریشه‌ای با ترشح اسیدهای آلی حل کننده 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 لوپیا و برنج مبنی بر افزایش میزان رنگدانه‌های فتوستزی کلروفیل a و b و کاروتونوئیدها در اثر همزیستی میکوریزایی و قارچ *p.indica* مطابقت دارد (Jogawat *et al.*, 2013).

براساس نتایج، روند تغییرات نشت الکتروولیت در پاسخ به افزایش تنفس شوری به صورت کاملاً افزایشی بوده به طوریکه بیشترین میزان نشت یونی (شکل ۵) مربوط به تیمار شوری نه دسی زیمنس بر متر (۹۶ درصد) بود. تنفس‌های محیطی از طریق افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در داخل سلول، موجب پراکسیداسیون لبیدی و کاهش پایداری غشاء و در نتیجه افزایش نشت مواد سیتوپلاسمی و هدایت الکتریکی سلول می‌شوند (Manchanda and Garg, 2008). افزایش نشت الکتروولیت در اثر شوری در گیاهانی چون گندم (Farooq and Azam, 2006) و تاج‌خرروس (Battacharjee and Mukherjee, 1996) گزارش شده است. در بررسی روابط رگرسیونی مشاهده شد که بین درصد نشت الکتروولیت و میزان کلروفیل کل ($R^2 = 97^{***}$; $r = -94^{***}$) به افزایش شوری رابطه خطی و منفی وجود دارد (شکل ۶). به طوری که در پاسخ به شوری با نشت الکتروولیت، میزان کلروفیل کاهش نشان داد. این بیانگر این است که گونه‌های اکسیژن فعال باعث ناپایداری غشای تیلاکوئیدی و در نتیجه آسیب به کلروفیل می‌گردد (عموآفایی 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 شبیه میکوریزا و شرایط شوری آب آبیاری نسبت به گیاهان آلووده نشده به قارچ افزایش معنی‌داری نشان داد. بیشترین میزان کلروفیل a (۷/۴۶ 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 ۳/۷۷ میلی گرم بر گرم وزن‌تر) به دست آمد.

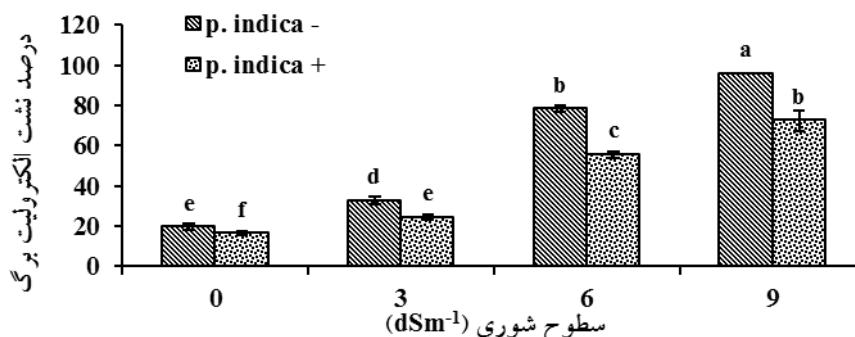
از طرفی افزایش میزان شوری در این مطالعه موجب کاهش معنی‌دار ($P < 0.01$) مقدار کلروفیل کل، کلروفیل b و کاروتونوئید در نعناع فلفلی شد. بطوری که میزان کاروتونوئید از ۰/۵۴ به ۰/۱۷ (میلی گرم بر گرم وزن‌تر) از تیمار شاهد به تیمار شوری نه دسی زیمنس بر متر کاهش یافت (جدول ۳). روند پاسخ کلروفیل b نسبت به افزایش تنفس شوری مشابه کاروتونوئید کاهشی بوده و بیشترین کاهش مقدار کلروفیل b (حدود ۳۷/۵۸ 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 کاروتونوئید برگ‌های نعناع فلفلی در کاربرد قارچ شبیه میکوریز به صورت قابل ملاحظه‌ای بیشتر از گیاهان شاهد بود (جدول ۳). نتایج به وضوح افزایش میزان کلروفیل b و کاروتونوئید (به ترتیب ۸/۳۳ و ۲۳/۶۷ درصد بیشتر از شاهد) را در برگ‌های گیاه نعناع فلفلی نشان می‌دهد.

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

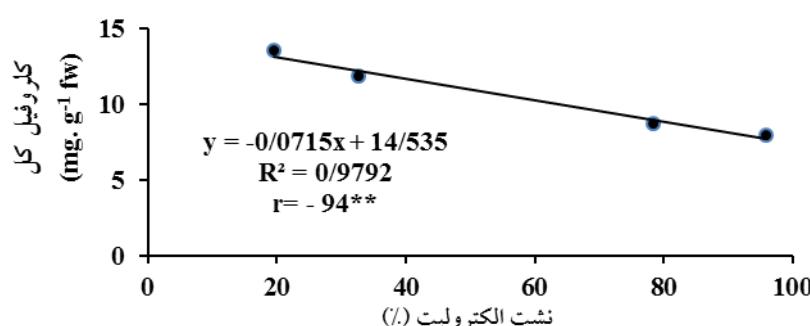
جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده تنش شوری و تلقیح با قارچ بر کلروفیل، کاروتوئید، عملکرد ماده خشک گیاه نعناع فلفلی

عملکرد خشک بوته (Kg.ha ⁻¹)	کاروتوئید (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل (mg.g ⁻¹ FW)		تیمار
		b	a+b	
شوری (dS.m ⁻¹)				
۱۷۳۰/۵۳ ^a	۰/۵۴۶ ^a	۷/۲۰۷ ^a	۱۲/۵۲۹ ^a	۰
۱۳۶۷/۲۸ ^b	۰/۵۰۵ ^a	۵/۳۲۶ ^b	۱۱/۷۸۱ ^b	۳
۱۰۰۵/۶۱ ^c	۰/۲۱۳ ^b	۴/۱۱۶ ^c	۸/۷۱۲ ^c	۶
۷۳۱/۱۸ ^d	۰/۱۷۲ ^b	۳/۸۷۸ ^d	۷/۹۱ ^d	۹
<i>Piriformospora indica</i> قارچ				
۱۰۰۰/۳۹ ^a	۰/۳۲۱ ^b	۴/۶۸ ^b	۱۰/۰۱ ^b	شاهد
۱۴۱۶/۴۱ ^c	۰/۳۹۷ ^a	۵/۰۷ ^a	۱۰/۹۴ ^a	<i>P.indica</i>

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



شکل ۵- برهمکنش *P. indica* و شوری بر نیت الکترولیت برگ. ستون های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می باشد.



شکل ۶- رابطه بین میزان کلروفیل با درصد نیت الکترولیت متناسب های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

عملکرد فتوستزی تحت تنش شوری جلوگیری می کند (عموآفانی 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

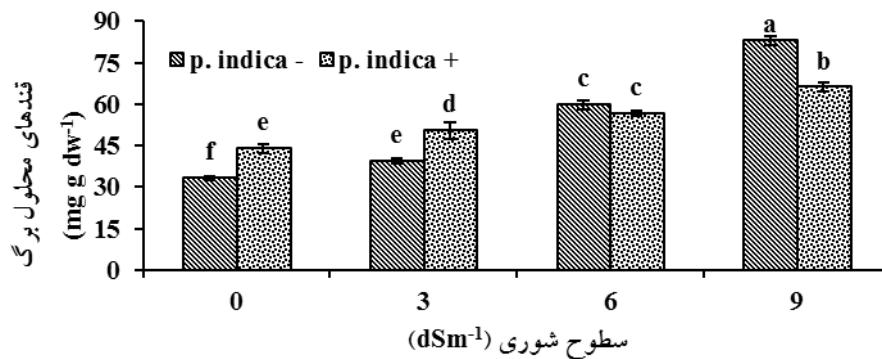
از سوی دیگر، کاربرد قارچ شبه میکوریزا کاهش نیت الکترولیت را در برگ های گیاه نعناع فلفلی به دنبال داشت. تیمارهای همزیستی از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون غشاء به پایداری غشاء کمک کرده و با حفاظت از کلروفیل از کاهش

بر قندهای محلول برگ معنی دار ($P < 0.01$) بود. طبق نتایج موجود با افزایش شوری میزان قندهای محلول برگ افزایش معنی داری در همه تیمارهای اعمال شده در گیاه نعناع 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 معنی داری 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 (۸۶/۳ میلی گرم در گرم وزن خشک) و کمترین قندهای محلول برگ در شاهد (۳۳ میلی گرم در گرم وزن خشک) بدست آمد.

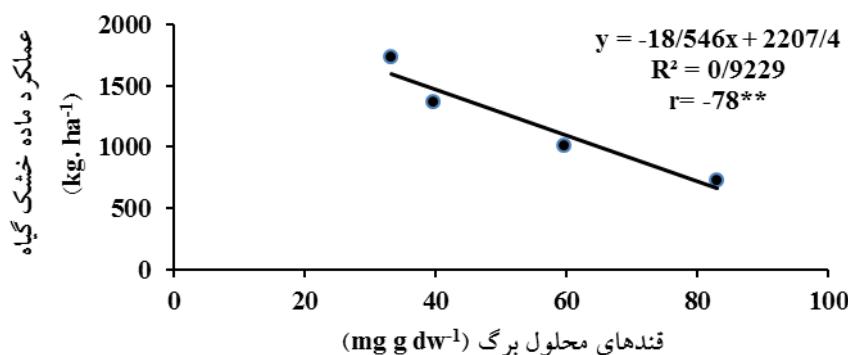
بر اساس نتایج آزمون همبستگی و روابط رگرسیونی (شکل ۸)، رابطه خطی منفی و بالایی ($r = -0.78^{***}$; $R^2 = 0.92^{***}$) بین قندهای محلول برگ و عملکرد ماده خشک گیاه مشاهده شد که بیانگر این است که افزایش بیش از حد میزان قندهای محلول در برگ به دلیل اختلال در انتقال مواد فتوسترنزی به سایر اندامهای گیاه و ریشه بوده که نقش منفی اثر پس خور این تجمع قند می‌تواند موجب اختلال در فتوسترنز 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 ۱۸/۵۴ درصد کاهش یافت. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و سایر محققین احتمالاً قارچ با بهبود سیستم دفاعی از قبیل کاروتونوئید از پراکسیداسیون غشاء جلوگیری کرده و با افزایش میزان جذب آب و عنصر غذایی از طریق ریشه‌های خود باعث بهبود روابط آبی گیاه و پایداری غشاء سلول و تیلاکوئید به حفاظت از کلروفیل کمک کرده موجب افزایش عملکرد فتوسترنزی و افزایش سرعت رشد و تخصیص مواد

گیاه به شوری، به طور معنی داری ($P < 0.01$) کاهشی بود. بطوری که با افزایش میزان شوری این کاهش شدت یافت و به حداکثر میزان خود در تیمار نه دسی زیمنس بر متر (۵۷/۷۴ درصد بیشتر شاهد) رسید. آبیاری با آب شور منجر به اختلال در جذب مواد معدنی، کاهش فتوسترنز، سنتز پروتئین و یا متابولیسم کربوهیدرات می‌شود. تنفس 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 (Ashraf and McNeilly, 2004) در تنفس شوری در گیاه کلزا (Sharifi et al., 2003) (Munns and James, 2003) سویا (Sharifi et al., 2007) همخوانی دارد.

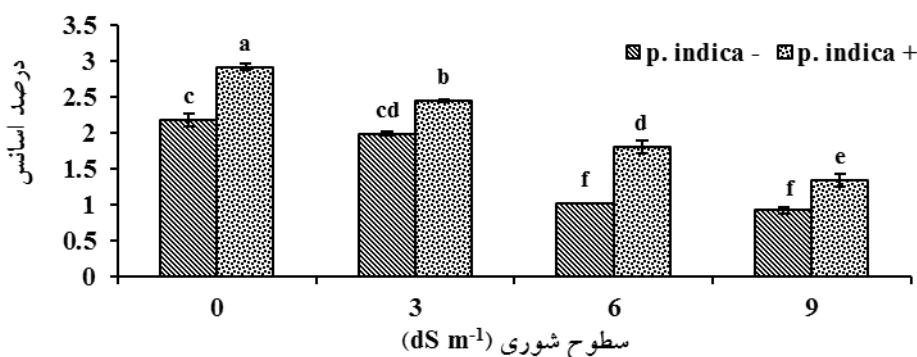
طبق جدول ۲ تفاوت آشکاری میان گیاههای تلقیح شده با قارچ *P. indica* و شاهد در میزان عملکرد خشک گیاه مشاهده شد، و موجب افزایش غلظت عملکرد ماده خشک گیاه تا بیش ۴۱ درصد شد. افزایش وزن خشک گیاه در حضور قارچ *P. indica* می‌تواند به دلیل افزایش جذب آب و حفظ محتوای نسبی آب بیشتر، همچنین به دلیل افزایش محتوای کلروفیل برگ و نقش فعالتر واکنش نوری در نعناع فلفلی باشد، از این رو آن‌ها از نظر متابولیکی فعال‌تر و در نتیجه باعث رشد بیشتر گیاه و افزایش وزن خشک گیاهان همزیست می‌شود (Krishnaveni et al., 2015) 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 تنفس 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 معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



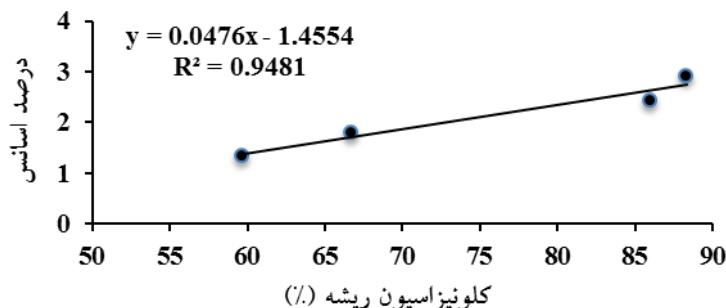
شکل ۸- رابطه بین میزان عملکرد ماده خشک گیاه با میزان قندهای محلول در برگ .ستون‌های با حروف مشابه نشان دهنده عدم حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



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

نعمان فلفلی در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری به صورت کاهشی بود با این وجود، عکس العمل اسنس نسبت به تنفس شوری در سطح مختلف تیمار قارچی متفاوت بود، و مقدار اسنس در گیاهان هم زیست شده با قارچ به صورت قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. با بررسی نمودار شکل ۹ می‌توان

فتوستتزی بین ساقه و ریشه شده واژ افزایش بیشتر قند در برگ‌ها جلوگیری می‌کند. در این مطالعه درصد اسنس برگ نعمان فلفلی به طور معنی‌داری ($P < 0.01$) تحت تأثیر اثر متقابل قارچ *p.indica* و شوری قرار گرفت (جدول ۲). بر مبنای نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها، تغییرات اسنس گیاه



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

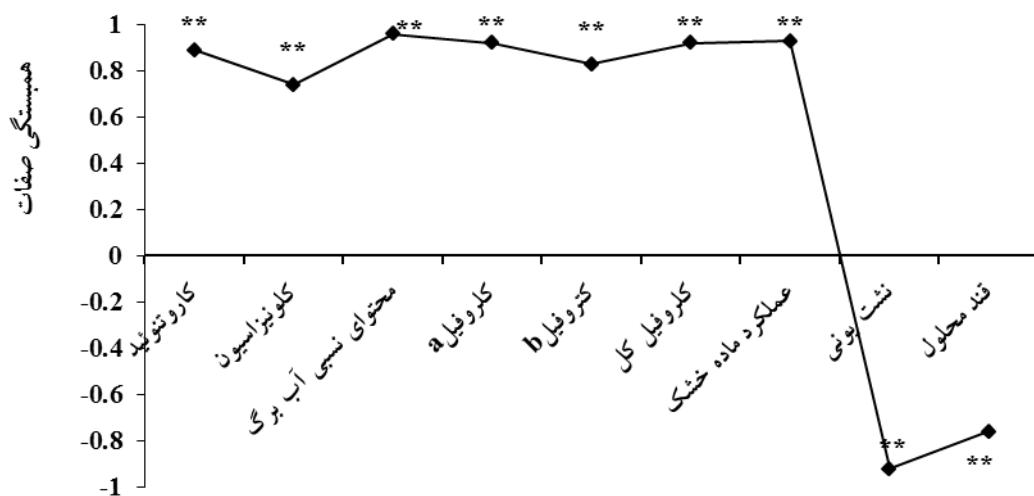
میزان اسانس گیاه نعناع فلفلی بوده و کاهش میزان درصد اسانس در حضور قارچ در شرایط تنش شوری را می‌توان در نتیجه کاهش کلونیزاسیون ریشه و کاهش جذب عناصر معدنی دانست.

بر پایه نتایج حاصل از بررسی آزمون همبستگی رابطه منفی و معنی‌داری بین میزان اسانس و صفات نشت یونی و قندهای محلول برگ مشاهده شد، و صفات عملکرد وزن خشک گیاه، محتوای نسبی آب برگ، درصد کلونیزاسیون ریشه و رنگیزه‌های فتوسترزی 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 درصد 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 متول (۳۲/۰۹)، متون (۱۵/۲۶)، نئومتول (۵/۵۴)، متیل استات (۰/۰۵۳)، او-۸-سینتول (۱۰/۱۹) و متوفوران (۶/۱۱) به عنوان عمدترين ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شدند (جدول ۴). تغییرات متول، متون، نئومتول، متیل استات، بتا پین، کاریوفیلن و جرمکرین 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 میکوریز در افزایش تجمع ترکیبات شیمیایی گیاهی در اندام هوایی گیاه مؤثر بوده است (Khaosaad *et al.*, 2006). از طرفی در گیاه آرتیمیزیا، همزیستی مایکوریزی منجر به افزایش تعداد غله‌های 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 ($R^2 = 0.94$; $p < 0.01$) 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	
سطح شوری (دسی زیمنس بر متر)					سطح شوری (دسی زیمنس بر متر)						
۹	۶	۳	۰	۹	۶	۳	۰	۹	۶		
۴۳/۱۷	۴۰/۱۲	۳۸/۸۵	۳۸/۲۳	۳۸/۴۷	۳۸/۱۴	۳۲/۶۵	۳۲/۰۹	Menthol			
۷/۴۲	۷/۱۹	۷/۰۷	۵/۹۴	۷/۱۳	۵/۹۰	۵/۸۲	۵/۰۴	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	۷/۱۱	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	۰/۰۲	۰/۰۳	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	۰/۷۳	۰/۹۸	۱/۰۷	۱/۰۳	α -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	β -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	-	۰/۰۷	۰/۶۱	۰/۹۳	Terpineol			
۰/۵۳	۰/۶۸	۰/۹۱	۰/۹۳	۰/۳۴	۰/۴۹	۰/۰۸	۰/۶۲	Sabinene			
۰/۶۷	۰/۶۴	۱/۰۶	-	۰/۰	۰/۰۷	-	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 ۱ و ۸-سینئول، متوفوران، سابین،

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 میان افزایش سطوح متابولیت‌های

نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد (Loomis, and Corteanu, 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 میکروارگانیسم‌ها به عنوان یک واکنش دفاعی و ضد میکروبی بوده (Singwan *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 بیوژه فسفر و نیتروژن به وسیله هیف‌های قارچی موجب افزایش اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی می‌شود.

نتیجه گیری کلی:

در مجموع نتایج نشان داد تنش شوری با آسیب به غشای سلول گیاه نعناع فلفلی، کاهش روابط آبی گیاه و تخریب رنگیزه‌های فتوستزی 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 تعديل 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 پیپریتون 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 بیوستزی و یا تجزیه‌ای دخیل در متابولیسم متابولیت‌های ثانویه باشد که ممکن است حتی در سطح بیان برخی از زن‌ها 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 (۷/۲۲ درصد)، متون (۱۹/۲۶ درصد)، نئومتول (۷/۵۲ 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 لینالول در گشنیز (Kapoor *et al.*, 2002) و Zolfaghari *et al.*, (2013)، و همزیستی *p.indica* باعث کافئیک اسید در برگ‌های کنگر فرنگی (قاسم نژاد و بابایی زاد، ۱۳۹۰) شد. می‌توان اظهار داشت از آنجایی که اسانس‌ها ترکیباتی ترپنونییدی بوده که واحدهای سازنده آنها (ایزوپرونونیید) نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر

منابع

- امیرجانی، م. ر. (۱۳۹۱) بررسی مقایسه‌ای برداری 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 رئیسی، ف. (۱۳۹۰) اثر همزیستی میکوریزایی بر میزان کلروفیل، فتوستتر و راندمان مصرف آب در چهار ژنتیپ 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 رنگیزهای فتوستتری و عناصر غذایی لوبیا (*Phaseolus vulgaris L*) در شرایط تنش شوری. نشریه بوم شناسی 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. بلوجی، ح. ر. (۱۳۹۲) ارزیابی پارامترهای فتوستتری، 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 اگروژن بر رشد، فتوستتر و متabolism فنل‌ها در گیاه توتون تحت تنش شوری، زیست شناسی گیاهی ۸: صفحه ۱۳-۲۶.
- سپهری، م.، صالح راستین، ن. حسینی سالکده، ق. خیام نکوبی، 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 مตیل 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 پیروی بیرانوند، ن. (۱۳۸۹) تأثیر شوری بر کارایی همزیستی سینوریزوپیوم میلیوتی با ارقام مختلف یونجه، مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب). ۳: ۲۵۳-۲۶۳.
- قاسم نژاد، ع. و بابایی زاد، و. (۱۳۹۰) رشد رویشی و میزان کافئیک اسید برگ کنگر فرنگی (*Cynara scolymus L*) تحت تأثیر قارچ مایکوریز *P. indica*. مجله پژوهه شهای تولید گیاهی. ۱: ۱۴۰-۱۳۳.
- کاظم‌الوندی، ر.، شریفان، ا. آغازده 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. ج. (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 بازیابی شده تحت تیمار تریپتوфан طی فرآیند سازگاری. زیست شناسی گیاهی. ۱۶: ۴۰-۲۷.
- عموآقایی، ر. و نیکاندیش، ف. (۱۳۹۴) اثر تلقیح ریشه دو رقم یونجه (*Medicago sativa*) با جدایه‌هایی از گونه‌های سینوریزوپیوم و باسیلوس بر رشد، مقدار کلروفیل و تمامیت غشای سلول در شرایط تنش شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). ۱: ۱۵۲-۱۴۰.
- مصطفی‌زاده، م. رسولی صدقیانی، م. ح. حسنی، ع. برین، م. (۱۳۹۴) اثر تلقیح گونه‌های قارچ میکوریز (AMF) بر رشد و مواد مؤثره نعناع فلفلی (*Mentha piperita*). نشریه علوم باگبانی. 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.

Druge, 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., Vierheilig, 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. Ölmuller, 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., Yaghoubian, Y. Mohammadi Goltepeh, E. and Hosseini, S. J. (2012) Effect of mycorrhiza-like endophyte (*Sebacina vermicifera*) 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 Ansarifar, M. (2013) The Effect of Salinity Stress on Growth Parameters and Essential oil percentage of Peppermint (*Mentha piperita L.*). International Journal of Basic and Applied Science 1: 294-299.
- 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.