نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار
جلد ۳۱ شماره ۲ / سال ۱۴۰۰ صفحات ۱۴۷-۱۲۹

اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی پایه گلابی پیرودوارف در شرایط تنش شوری

محمد عدلی پور[۱]، حمید حسن‌پور[۲]*، فریبرز زارع نهندی[۳]، ناصر علی‌اصغرزاد[۴]، عباس یداللهی[۵]

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/٦ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱٤

۱-دانشجوی دکتری فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲-دانشیار فیزیولوژی و اصلاح میوه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۳-دانشیار علوم باغبانی – میوه‌کاری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
٤- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
٥- دانشیار علوم باغبانی – میوه‌کاری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
*مسئول مکاتبه: Email: phhassanpour@gmail.com

چکیده

اهداف: گلابی یکی از مهم‌ترین درختان میوه مناطق معتدله و جزء درختان حساس به شوری است. پژوهش‌ها نشان داده است که استفاده از قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* اثرات منفی تنش شوری را در گیاهان کاهش داده و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی آن‌ها را بهبود می‌بخشد.

مواد و روش‌ها: در پژوهش حاضر، آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار، روی پایه‌های گلابی پیرودوارف در گلدان اجرا شد. فاکتور اول، شامل دو سطح قارچ *P. indica* (تلقیح و عدم تلقیح) و فاکتور دوم، چهار سطح شوری حاصل از کلرید سدیم در خاک (۱/۷، ۳، ٤/٥ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر) بود که پس از تلقیح قارچ با ریشه گیاهان، اعمال گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد اثر متقابل شوری × قارچ بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی، میزان کلروفیل کل ($P< ۰/۰۵$)، میزان رشد قطری سرشاخه، نشت یونی، پرولین، قندهای محلول، آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و درصد کلنیزه شدن ریشه ($P< ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. در بالاترین سطح شوری (٦ دسی‌زیمنس بر متر) تلقیح قارچ باعث افزایش نسبت سطح بر وزن خشک ریشه (۳۸/۸۱ ٪)، رشد قطری سرشاخه (۳۱/۱٤ ٪)، میزان کلروفیل کل (۲۷/۷۲ ٪)، آنزیم پراکسیداز (۱۰۰ ٪)، پلی‌فنل اکسیداز (٦۲/٥ ٪) و درصد کلنیزه شدن ریشه (۱۰۰ ٪) و کاهش در میزان نشت یونی (۱۹/۳٤ ٪)، پرولین (۱۰/۳٤ ٪) و میزان قندهای محلول (۸/۷۷ ٪) در مقایسه با گیاهان شاهد بدون تلقیح شده است.

نتیجه‌گیری: بطور کلی نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که همزیستی *P. indica*، می‌تواند اثرات مخرب شوری را در این رقم گلابی تعدیل نماید.

واژه‌های کلیدی: قارچ اندوفیت، کلروفیل، گلابی، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی

The Effects of Endophytic Fungus *Piriformospora indica* on Morphophysiological Traits of *Pyrus* Rootstock cv. Pyrodvarf under Salinity Stress Conditions

Mohammad Adlipour[1], Hamid Hassanpour[2]*, Fareborz Zaare Nahandi[3], Naser Aliasgharzad[4], Abbas Yadollahi[5]

Received: May 26, 2020 Accepted: January 3, 2021
1- PhD Student in Physiology and Fruit Tree Breeding, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran.
2- Assoc. Prof., of Physiology and Fruit Breeding, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran.
3- Assoc. Prof., of Horticultural Sciences - Pomolgy, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
4- Prof. of Soil Biology and Biotechnology Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
5- Assoc. Prof., of Horticultural Sciences - Pomolgy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Iran.
*Corresponding Author Email: phhassanpour@gmail.com

Abstract

Background & Objective: The pear is one of the most important fruit trees in temperate regions and is salt-sensitive trees. Studies have shown that the use of *Piriformospora indica* as an endophytic fungus reduces the adverse effects of salinity stress on plants and improves morphophysiological traits.

Materials & Methods: In the present study, the experiment was performed as a factorial completely randomized design with 5 replications on the pyrus rootstock CV Pyrodvarf in pot culture experiment. The first factor includes two levels of *P. indica* fungus (inoculation and non-inoculation) and the second factor is four salinity levels of soil (1.7, 3, 4.5 and 6 $dS.m^{-1}$) using sodium chloride. After inoculation with the fungus, the salinity levels were applied to the plants.

Results: The results showed that the interaction effect of salinity × fungi on morphophysiological characteristics, total chlorophyll content ($P < 0.05$), branch diameter growth, electrolyte leakage, proline, soluble_sugars, peroxidase and polyphenol oxidase enzymes and root colonization percentage ($P < 0.01$) were significant. At the highest salinity levels (6 dS/m), fungal inoculation caused an increase in surface-to-root dry weight ratio (38.81%), branch diameter growth (31.14%), total chlorophyll (27.72%), peroxidase (100%), polyphenol oxidase (62.5%) and root colonization percentage (100%) and decrease in electrolyte leakage rate (19.34%), proline (10.34%) and soluble sugars (8.77%)) compared to non-inoculated control plants.

Conclusion: In general, the results of this study showed that the coexistence of *P. indica* can modulate the destructive effects of salinity on this pear cultivar.

Keywords: Chlorophyll, Electrolyte Leakage, Endophytic Fungus, Pear, Relative Water Content

مقدمه

گلابی (*Pyrus spp.*) از خانوادهٔ گل سرخیان، یکی از محصولات مهم در مناطق معتدله است و از لحاظ اهمیت بعد از سیب بوده و در بین میوه‌ها، جایگاه چهارم و یا پنجم را به خود اختصاص داده است (ووجویک و همکاران ۲۰۱۲). مطابق بررسی‌های انجام شده این گیاه در آسیا طی ۳۰۰۰ سال اخیر کشت شده است. در حال حاضر در بیش از ۵۰ کشور به‌صورت تجاری کشت و

کار می‌شود. جنس *Pyrus* حداقل ۲۲ گونه شناخته شده اولیه دارد که همه آن‌ها بومی آسیا، اروپا و نواحی کوهستانی شمال آمریکا هستند (بل و همکاران ۱۹۹۶). درخت گلابی از دوران ما قبل تاریخ در فلات ایران حضورداشته و مورد توجه مردم است. کلیه رقم‌های بومی ایران از گونه *Pyrus communis* به دست آمده‌اند و هنوز ارقام نیمه وحشی آن در گیلان، آذربایجان و کردستان کاشته می‌شوند و میوه آن‌ها در شمال و شمال غربی کشور مصرف محلی و منطقه‌ای دارد (منیعی ۲۰۰۰).

در اغلب گیاهان گلیکوفیت[1] نظیر درختان میوه، مقاومت به شوری بستگی به توانایی ریشه در عدم جذب یا پتانسیل حفظ یون‌های مسموم کننده دارد. بنابراین نقش پایه در تعیین رفتار و رشد درخت در شرایط شور بسیار مهم و سرنوشت‌ساز است (هانین و همکاران ۲۰۱۶). بالا بردن کیفیت محصولات باغی تا سطح استاندارد جهانی و مدیریت صحیح باغات مستلزم شناسایی پایه‌های اصلاح شده و مقاوم به شرایط خاص است. با توجه به اثرات متقابل پایه و پیوندک و تأثیر معنی‌دار آن بر عمر و خصوصیات رویشی و زایشی درخت و هم‌چنین به‌دلیل تأمین سیستم ریشه‌ای و غیر قابل تعویض بودن از اهمیت بالاتری برخوردار است (ماتسوماتو و همکاران ۲۰۰۶). ریشه‌ها به‌طور مستقیم تحت تأثیر، شوری خاک قرار دارند، بنابراین برای تولید پایدار میوه، در نواحی شور، انتخاب پایه‌های مناسب امری اجتناب‌ناپذیر است (ماتسوماتو و همکاران ۲۰۰۶).

در پژوهشی تحمل پنج گونه پایه گلابی آسیایی در شوری‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl مورد آزمایش قرار گرفتند. مواد محلول، و آسیب برگ، رشد شاخه، پتانسیل آب برگ و جذب مواد معدنی مورد بررسی قرار گرفت. *P. betulaefolia* بالاترین میزان تحمل به نمک را نشان داد و حتی در ۲۰۰ میلی‌مولار علائم آسیب دیدگی مشاهده نشد. نتایج حاکی از آن است که ممکن است در *P. betulaefolia* یک مکانیسم کلیدی مانند حذف ذخیره‌سازی و یا محدودیت حمل و نقل مواد وجود داشته باشد (ماتسوماتو و همکاران ۲۰۰۶). در پژوهش دیگری به‌منظور تعیین تأثیر سطوح مختلف شوری (۰/۸، ۱/۶، ۲/٤، ۳/۲ و ٤ دسی‌زیمنس بر متر) با استفاده از نمک کلرید سدیم روی پارامترهای فیزیولوژیکی و شاخص‌های رشد (طول و قطر) در سه رقم گلابی دره گزی، لوییزبون و ویلیام دوشس که روی پایه‌های گلابی بذری، OHF69 و Pyrodvarf پیوند شده بودند، انجام شد. در این پروژه نهال لوییزبون×بذری به‌عنوان متحمل‌ترین و نهال لوییزبون×پیرودوارف به‌عنوان حساس‌ترین نهال به شوری شناخته شدند (میرعبدالباقی ۲۰۱۷).

پیرودوارف یکی از ۸۰ پایه رویشی است که از *Pyrus communis*در سال ۱۹۸۰ در ایستگاه تحقیقات جیسن هیم[2] آلمان انتخاب گردید و در سال ۱۹۹۳ به‌صورت یک پایه ملی ثبت گردیده است (جاکوب ۲۰۰۲). این پایه دارای مقاومت متوسط نسبت به آتشک بوده و سبب زود باردهی رقم می‌شود. از ویژگی‌های دیگر این پایه، راندمان بالا، اندازه میوه یکسان، استقرار مطلوب، سازگاری با سرماهای شدید، عدم تمایل به تولید پاجوش و عدم حساسیت به کلروز ناشی از کمبود آهن است و در خاک‌های قلیایی قابل کشت و گسترش است این ویژگی‌ها موجب شده تا این پایه رویشی در سطح وسیعی از باغات گلابی مورد استفاده قرار گیرد (کمبل ۲۰۰۳).

قارچ‌های اندوفیت به‌عنوان ریزجانداران مفید خاک در تهیه و تولید کودهای بیولوژیک، با ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و اکولوژیک در گیاهان میزبان خود، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند (سای و همکاران ۲۰۱۹) و امکان توسعه و کشت آن‌ها را در خاک‌های با شرایط نامساعد محیطی و تغذیه‌ای فراهم می‌آورند (لیندال و همکاران ۲۰۰۷) *P. indica*، یک قارچ اندوفیت[3] است که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران از ریزوسفر دو گیاه خشکی پسند کهور[4] و گز[5]

[1] - Glycophytic plants
2- Geisenheim
3 - Endophytic fungus
[4] - *Zizyphus nummularia*
[5] - *Prosopis juliflora*

از صحرای تار[1] کشور هندوستان جداسازی شد که یک منطقه خشک، و دارای گرمای خیلی شدید بوده و نوسانات دمای روزانه و هم‌چنین خشکی گسترده را تجربه می‌کند (وارما و همکاران ۲۰۰۱).

این قارچ از ردهٔ بازیدیومیست‌ها[2]، و راسته سباسینال (والر و همکاران ۲۰۰۵) است و با ریشه‌های بسیاری از گیاهان، همزیست می‌شود (رفیقی و همکاران ۲۰۱۳). این همزیستی، با روش‌های مختلف مانند افزایش رشد گیاه، بهبود جذب آب و مواد غذایی (ذوالفقاری و همکاران ۲۰۱۳)، و تحریک سیستم دفاعی گیاه امکان توسعهٔ کشت گیاه را در اقلیم‌هایی با تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند تنش شوری و خشکی فراهم می‌کند (باجاج و همکاران ۲۰۱۸). پژوهشگران مختلف اهمّیت این قارچ را در بهبود تغذیهٔ گیاهان، افزایش تحمل در برابر برخی بیماری‌ها و کاهش اثرهای منفی تنش خشکی و شوری گزارش کرده‌اند (گوپتا و همکاران ۲۰۲۰). برخی از محقّقان مانند پراساد و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر *P. indica* را روی *Bacopa monniera* در شرایط درون شیشه‌ای ارزیابی و بیان کردند که رشد رویشی گیاهان تلقیح شده با قارچ به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. هم‌چنین فام و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که تلقیح کلم پیچ، خردل و کدو قلیانی با قارچ *P. indica*، افزایش عملکرد و رشد رویشی در این گیاهان را موجب می‌شود. بررسی تأثیر *P. indica* بر روی گوجه فرنگی در کشت عاری از خاک که به مدت یک ماه در معرض ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم قرار داشت، نشان داد که انشعابات ریشه، وزن تازه و خشک گیاهان بهبود یافت. هم‌چنین باعث افزایش سطح کلروفیل b، اسید ایندول استیک، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در برگ‌های گوجه فرنگی شد (عبدالعزیز و همکاران ۲۰۱۹). بررسی تأثیر این قارچ همزیست بر رشد نهال موز کشت بافتی نشان داد که باعث بهبود بیوماس گیاه و محتوای کلروفیل، ارتفاع گیاه و طول ریشه، افزایش وزن تر شاخساره، عرض و طول برگ و محیط ساقه، در مقایسه با شاهد شد (لی و همکاران ۲۰۱۹). در گزارش دیگری *P. indica* با افزایش جذب آب و مواد معدنی، اثرات مضر استرس را کاهش می‌دهد (آبادی و سپهری ۲۰۱٦). اندازه مناسبتر ریشه ناشی از تلقیح *P. indica* ممکن است جذب مواد مغذی از ریزوسفر را تسهیل و بهبود بخشد (سان و همکاران ۲۰۱۰).

با توجه به گزارش‌های موجود از تأثیرات مثبت قارچ *P. indica* در روی گیاهان میزبان در شرایط تنش، در پژوهش حاضر برای مقابله با پدیدهٔ تنش شوری، کاهش آثار زیان‌بار آن و بهبود عملکرد پایه گلابی پیرودوارف، در این پژوهش اثر قارچ *P. indica* بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی پایه گلابی پیرودوارف در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان پژوهش

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، در سال ۱۳۹۷ انجام شد. دمای گلخانه در روز ۲±۲۵، در شب ۲±۱۸ درجه سلسیوس تنظیم گردید. و شدت نور ٦۰۰ – ٤۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه بود.

تهیه پایه گلابی پیرودوارف

در پژوهش حاضر از پایه گلابی پیرودوارف حاصل از کشت بافت که در بستر استریل کوکوپیت کشت شده بود از شرکت نهال گستر رویان تهیه گردید.

تهیه زادمایه قارچ *P. indica*

زادمایه قارچ *P. indica* از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز تهیه شده و برای تکثیر در محیط کشت کفر[3] (کفر ۱۹۷۷) در دمای ۲۷–۲۵ درجه سلسیوس و در انکوباتور به مدت دو هفته نگهداری شد. در زمان تلقیح کلونی‌های قارچ زیر هود لامینار با اسکالپل از سطح محیط کشت جدا و با ماسه شسته شده و استریل و عبور داده شده از الک نیم میلی‌متری در

[1] - Thar
[2] - *Basidiomycota*
8 - Kaefer

شرایط استریل مخلوط شدند. در زادمایه نهایی، هر گرم ماسه دارای حدود ۱۰° اسپور بود.

آماده سازی خاک

خاک مورد استفاده در این آزمایش از مزرعه ایستگاه آموزشی و تحقیقاتی خلعت پوشان تهیه شد. بعد از هوا خشک کردن خاک مورد نظر و عبور از الک دو میلی‌متری ویژگی‌های مهم خاک شامل بافت (گی و بادر ۱۹۸٦)، درصد کربن آلی (نلسون و سامرز ۱۹۸۲)، فسفر قابل جذب (اولسن و سامرز ۱۹۸۲) و پتاسیم قابل جذب (گوپتا ۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد (جدول ۲). خاک گلدان‌ها در فشار یک اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت در اتوکلاو استریل شده و سپس در هر گلدان به مقدار ۵/۵ کیلوگرم استفاده شد.

کشت گلدانی و اعمال تیمار قارچی

برای این منظور گیاهچه‌های کشت بافتی پس از دو هفته نگهداری و گذراندن مرحله سازگاری به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر حاوی خاک استریل منتقل شدند. قارچ *P. indica* در زمان انتقال نهال‌ها به گلدان‌های آزمایشی برای تلقیح پایه‌های گلابی پیرودوارف، ۱۰۰ گرم زادمایه در اطراف ریشه در بستر قرار گرفت. برای یکسان‌سازی اثر بسترهای کشت قارچ، در تیمارهای شاهد بدون قارچ از مقادیر مشابه بستر استریل مربوط به تکثیر قارچ استفاده شد.

اعمال تیمار شوری

پایه‌های گلابی پیرودوارف بعد از تلقیح با *P. indica* به مدت سه ماه در گلخانه پرورش داده شد تا همزیستی مطلوب قارچ با ریشه رخ دهد. بعد از آن تیمار شوری (NaCl) در چهار سطح (۱/۷، ۳، ٤/٥ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر)، به تدریج در طی دو مرحله با فاصله یک هفته اعمال شد (مقدار نمک لازم برای رسیدن به EC مورد نظر، در آب حل شده و در طی دو مرحله با فاصله یک هفته به گلدان‌ها اضافه شد). بعد از اعمال تیمار شوری، برای جلوگیری از خروج نمک از زیر گلدان، و کنترل میزان آب آبیاری، سه روز در میان گلدان‌ها در حد ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری شد ظرفیت مزرعه‌ای با روش وزنی کنترل گردید. برخی خصوصیات آب آبیاری در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های آب مورد استفاده

عناصر	K	Na	Ca	Mg	Zn	Cu	pH	EC
	(mg.L^{-1})							(dS.m^{-1})
	٤/٩	١٦/٥١	٥/٦٥	٧/٣٧	٠/٨	٠/١٢	٦/٩٧	٠/٤٩

شاخص‌های اندازه‌گیری شده قبل از برداشت

ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی

یک ماه بعد از اعمال تیمار شوری، نمونه‌برداری برای انجام آزمایش‌های مورفوفیزیولوژیکی از گیاه انجام شد. اندازه‌گیری قطر طوقه و ۱۰ سانتی‌متر پایین تر از انتهای ساقه اصلی، در دو مرحله یکی همزمان با اعمال تیمار شوری و مرحله دوم در پایان آزمایش با استفاده از کولیس دیجیتالی انجام شد.

اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل کل نمونه‌ها با استفاده از روش آرنون (۱۹٤۹) انجام گرفت.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ و نشت یونی [1]

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب[2] برگ، از آخرین برگ‌های گسترش یافتهٔ گیاه دیسک‌های برگ برداشته و بر اساس روش اسکانفیلد و همکاران (۱۹۸۸)

[1]- Electrolyte leakage (LE)

[2]- Relative water content (RWC)

انجام شد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری نشت یونی نمونهٔ برگی، از روش توتونیکا و همکاران (۱۹۹۳) استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان پرولین و قندهای محلول

اندازه‌گیری میزان پرولین آزاد برگ، بر اساس روش باتیس و همکاران (۱۹۷۳)، و میزان قندهای محلول از روش (ایریگوئن و همکاران ۱۹۹۲) استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، بر اساس روش چانس و مهلی (۱۹۵۵) وآنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO[1]) به روش رایموند و همکاران (۱۹۹۳) اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های اندازه‌گیری شده پس از برداشت گیاهان

بعد از اینکه شاخساره گیاهان از محل طوقه قطع شد، ریشه‌ها پس از جدا کردن خاک، به دقت و با مقادیر فراوان آب شسته شدند. بعد از اینکه آب اضافی آن‌ها با کاغذ خشک‌کن گرفته شد حدود ۰/۵ گرم از ریشه‌های ریز، پس از شستشوی کامل با آب، جهت تعیین درصد کلنیزه شدن ریشه، در اتانول ۵۰ درصد تثبیت شدند.

برای اندازه‌گیری نسبت سطح بر وزن خشک ریشه، ریشه‌ها به داخل پاکت انتقال، در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. پس از گذشت این زمان، ریشه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد. هم‌چنین سطح ریشه‌ها با استفاده از دستگاه سطح سنج مدل LI-3100 AREA METER اندازه‌گیری شد.

رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلنیزه شدن ریشه

برای رنگ‌آمیزی ریشه، بخشی از ریشه‌های ظریف و ریز جدا شده و پس از شستشوی کامل با آب با استفاده از روش کورمانیک و مک گراو (۱۹۸۲) رنگ آمیزی شد و سپس برای تعیین درصد کلنیزه شدن ریشه از روش تقاطع خطوط شبکه (تنانت ۱۹۷۵) استفاده گردید.

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل اعمال تنش شوری ناشی از کلرید سدیم (۱/۷، ۳، ٤/٥ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر) روی گیاهچه‌های گلابی پیرودوارف تلقیح شده با *P. indica*، و شاهد (بدون تلقیح) بود. تجزیه آماری با نرم‌افزار SPSS ver.20 و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید. و از نرم‌افزار Excel نیز برای تهیه گراف‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

برخی از ویژگی‌های خاک مورد آزمایش در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

بافت	FC (%)	pH	EC $dS.m^{-1}$	OC (%)	CCE[2] (%)	N (%)	P	K	آهن	روی	مس	منگنز
							$Mg.kg^{-1}$					
Loamy sand	٢٤	٧/١٥	١/٧	٠/٦٤	٣/٠٢	٠/٠٢	٣/٤	٢٢٤	٣/٨	٢	٠/٩	٥/٣

[1] – Polyphenol oxidase

[2] - CCE: Carbonate calcium equivalent

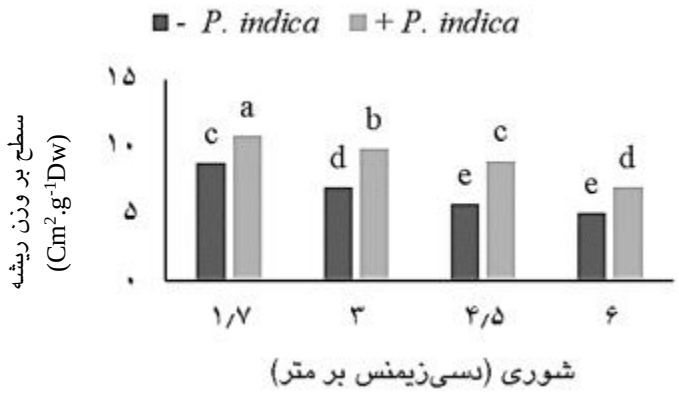
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیکی تحت تأثیر سطوح شوری و تیمار قارچ

منابع تغییر	درجه آزادی	نسبت سطح بر وزن ریشه	رشد قطری طوقه	رشد قطری سرشاخه	نشت یونی	محتوای رطوبت نسبی برگ	کلروفیل کل	پرولین	قندهای محلول	آنزیم پراکسیداز	آنزیم پلی‌فنل اکسیداز	درصد کلنیزه‌شدن
		میانگین مربعات										
شوری	۳	۲۶/۰۶۱**	۰/۳۲۴**	۱/۵۰۸**	۷۲۷/۲۴۱**	۱۱/۶۶۸ns	۳/۹۹۴**	۴۳/۹۲۹**	۰/۰۱۱**	۰/۰۰۱**	۰/۰۱۵**	۲۵۶/۶۳۵**
قارچ	۱	۶۴/۳۸۹**	۰/۲۰۴**	۱/۰۹۲**	۳۴۵/۸۶۲**	۳۲/۱۴۸*	۰/۰۲۲ns	۱۹/۲۱۰**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۶**	۰/۰۹۰**	۴۵۳۶۳/۷۳۲**
شوری× قارچ	۳	۱/۰۶۱ns	۰/۰۰۵ns	۰/۰۵۷**	۴۲/۸۱۸**	۲/۱۰۷ns	۰/۴۹۹*	۱۸/۷۵۵**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۰**	۰/۰۰۴**	۲۵۶/۶۳۵**
خطا	۳۲	۰/۳۲۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۳/۱۰۱	۵/۸۷۹	۰/۱۳۲	۰/۹۰۷	۰,۰۰۰	۱/۴۷*۱۰$^{-۵}$	۵*۱۰$^{-۶}$	۱/۹۳۶
ضریب تغییرات (٪)		۷/۲۰۷	۴/۱۲۱	۵/۱۷۳	۴/۸۲۴	۳/۳۳۷	۱۲/۴۷۹	۳/۸۰۴	۸/۶۷	۷/۵۴۹	۶/۸۵۸	۳/۶۹۵

** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد، ns معنی‌داری وجود ندارد

نسبت سطح ریشه بر وزن ریشه

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر متقابل سطوح شوری و قارچ بر نسبت سطح بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج نشان داد که با افزایش شوری، نسبت سطح بر وزن ریشه کاهش می‌یابد. اما کاربرد قارچ این نسبت را در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح افزایش داد. بالاترین مقدار این نسبت (۱۰/۸۳ سانتی‌متر مربع بر گرم وزن خشک ریشه) در شوری۱/۷ دسی‌زیمنس بر متر در گیاهان تلقیح شده با *P. indica* مشاهده شد. که میزان آن نسبت به گیاهان شاهد بدون قارچ ۲۲/۷۸ درصد (۸/۸۲ سانتی‌متر مربع بر گرم وزن خشک) افزایش نشان داد. در شوری ٦ دسی‌زیمنس بر متر، میزان آن در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح به ترتیب ۷/۰۱ و ۵/۰۵ سانتی‌متر مربع بر گرم وزن خشک است که در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان بدون قارچ ۳۸/۸۱ درصد افزایش دارد (شکل ۱).



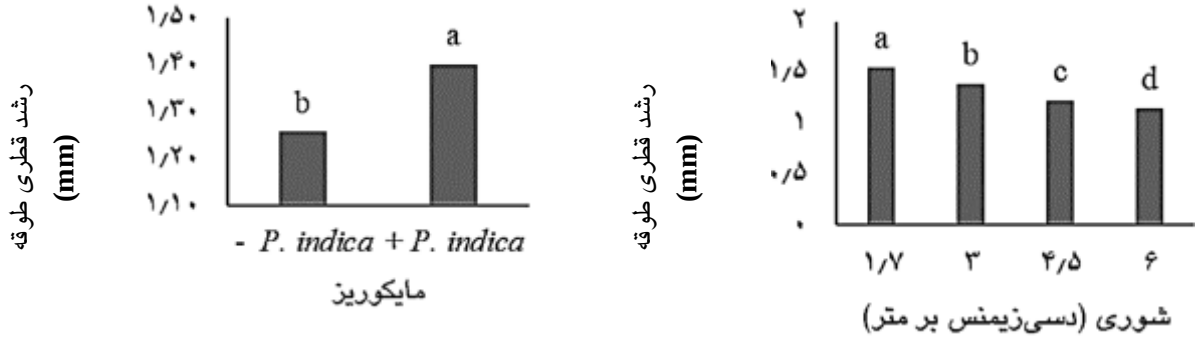
شکل ۱- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای نسبت سطح بر وزن خشک ریشه

نتایج نشان داد که با افزایش شوری، نسبت سطح بر وزن ریشه کاهش می‌یابد. اما کاربرد قارچ این نسبت را در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح افزایش داد. این بدان معنی است که شوری تعداد انشعاب ریشه‌ها را کاهش می‌دهد ولی تلقیح ریشه گیاهان با قارچ تعداد انشعابات را در ریشه افزایش داده و از این طریق کارایی جذب آب

و عناصر غذایی را در ریشه افزایش می‌دهد. به‌نظر می‌رسد *P.indica* با تولید ایندول استیک اسید بر ایجاد ریشه‌های جدید تأثیر مثبت دارد (منسا و همکاران ۲۰۲۰). هم‌چنین این قارچ قادر است با تولید موازنه هورمونی مناسب طول ریشه را افزایش دهد (رای و همکاران ۲۰۰۱). در گزارشی بیان شده است که تلقیح *P.indica* باعث ریشه‌زایی و رشد بهتر نهال موز کشت بافتی شد (لی و همکاران ۲۰۱۹). سالاکو و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تلقیح بوته‌های خیار با قارچ مایکوریز با افزایش طول ریشه و سطح ریشه و حتی بیشتر از طریق افزایش میزان فتوسنتز آنها در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، رشد آنها را بهبود می‌بخشد.

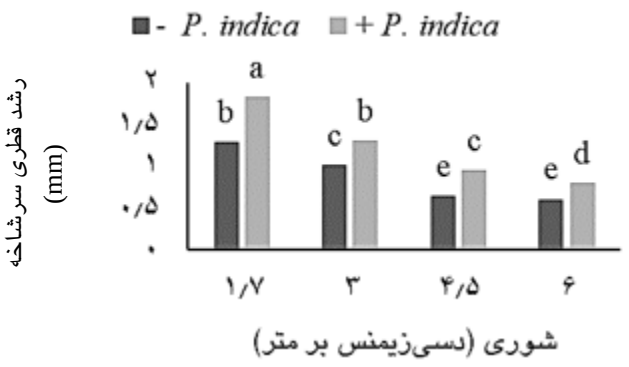
رشد قطری طوقه

بر اساس نتایج، اثرات اصلی سطوح شوری و قارچ بر رشد قطری طوقه گیاه معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۱$). ولی اثر متقابل سطوح شوری × قارچ بر رشد قطری طوقه غیر معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که رشد قطری طوقه با افزایش سطح شوری کاهش می‌یابد. رشد قطری طوقه در شوری ۱/۷ دسی‌زیمنس بر متر ۱/۵۵ میلی‌متر بوده و در شوری ٦ دسی‌زیمنس بر متر ۱/۱۵ میلی‌متر گردید که به میزان ۲۵/۸ درصد کاهش نشان داد (شکل ۱). همزیستی قارچ با ریشه، رشد قطری طوقه را نسبت به گیاهان غیرهمزیست به‌طور معنی‌داری (۱۲ درصد) افزایش داد (شکل ۲).



شکل ۲- الف) اثر اصلی سطوح شوری خاک بر رشد قطری طوقه گیاه. ب) اثر اصلی قارچ *P .indica* بر رشد قطری طوقه گیاه رشد قطری سرشاخه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات اصلی و اثر متقابل سطوح شوری خاک × قارچ بر رشد قطری سرشاخه، معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۱$). رشد قطری سرشاخه با افزایش سطح شوری در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح، کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۳). بیشترین مقدار رشد قطری سرشاخه در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح، در اولین سطح شوری (۱/۷ دسی‌زیمنس بر متر) به ترتیب ۱/۸۳ و ۱/۲۹ میلی‌متر بود. کمترین مقدار رشد قطری سرشاخه در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح در شوری ٦ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۰/۸۰ و ۰/٦۱ میلی‌متر شد. کاهش رشد قطری در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح در شوری ٦ دسی‌زیمنس بر متر، نسبت به هم ۲۳/۷۵ درصد بود (شکل ۳).

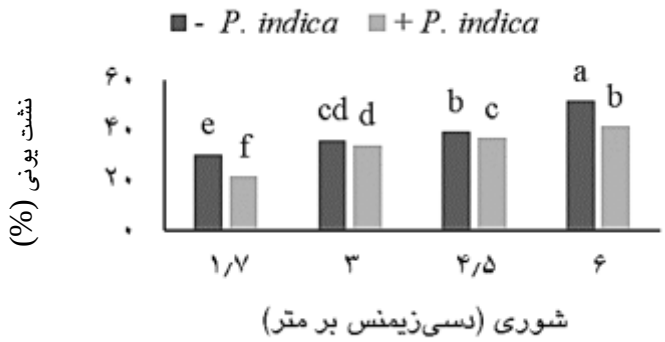


شکل ۳- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای میزان رشد قطری سرشاخه

در شرایط تنش شوری، به‌علت کاهش تقسیم سلولی و کاهش فشار تورژسانس رشد گیاه کاهش می‌یابد (تایز و زایگر، ۲۰۰۶). بر اساس گزارش شی و همکاران (۲۰۱۳) در نهال‌های *Lonicera confius* که با قارچ تلقیح شده بودند ارتفاع بوته، قطر طوقه، تعداد شاخه جدید و عملکرد کل، نسبت به گیاهان تلقیح نشده افزایش قابل‌توجهی را نشان داد. برخی از محققین گزارش کردند که تلقیح خیار با قارچ‌های مایکوریز در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده سبب افزایش قطر ساقه می‌شود. دلیل آن را کمک قارچ در جذب عناصر و املاح از خاک، افزایش محتوای کلروفیل و افزایش میزان فتوسنتز خالص بیان نمودند (چن و همکاران ۲۰۱۷).

نشت یونی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر اصلی و اثر متقابل سطوح شوری× قارچ بر میزان نشت یونی معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۱$). در هر چهار سطح شوری خاک، بین گیاهان تلقیح شده و نشده اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳)، با افزایش تنش شوری میزان نشت یونی در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح افزایش می‌یابد در همه سطوح شوری، نشت یونی در گیاهان تلقیح نشده بیشتر از گیاهان تلقیح شده بود. بیشترین میزان نشت یونی در بالاترین سطح تیمار شوری (٦ دسی‌زیمنس بر متر) به ترتیب ٥١/٧٠ درصد در گیاهان بدون تلقیح و ٤١/٦٦ درصد در گیاهان تلقیح شده است. که نسبت به هم اختلاف معنی‌داری داشت. و کمترین مقدار آن در شوری ۱/۷ دسی‌زیمنس بر متر (۲۱/٦۳ درصد) در گیاهان همزیست مشاهده شد (شکل ٤).

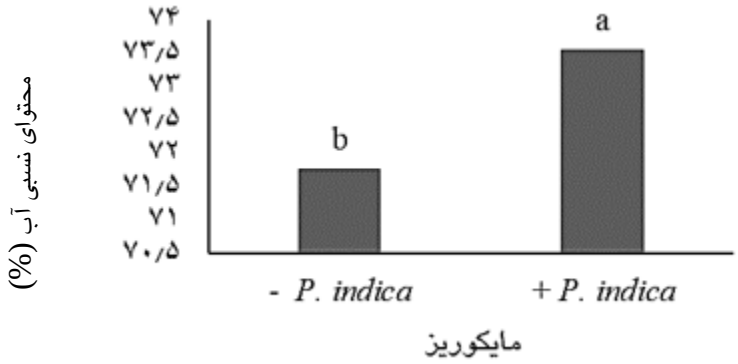


شکل ۴- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای درصد نشت یونی برگ

در تیمارهای تحت تنش شوری نسبت به تیمارهای بدون تنش، افزایش معنی‌داری در میزان نشت یونی دیده می‌شود (لیتوس و همکاران ۱۹۹۶). قارچ‌های مایکوریز آربسکولار غلظت الکترولیت‌ها را در گیاهان میزبان افزایش می‌دهند در نتیجه هدایت الکتریکی در ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده افزایش می‌یابد. بر اساس مطالعات کایا و همکاران (۲۰۰۹) در تنش‌های شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار از منبع کلرید سدیم، برگ‌های فلفل تلقیح نشده دارای نشت یونی به ترتیب ۳۱/٦٦ و ٤٢/٤٥ درصد بوده و در گیاهان تلقیح شده به‌ترتیب ٢٦/٨٧ و ٣٠/٩٨ درصد است که نشان می‌دهد در گیاهان تلقیح شده نشت یونی کمتر است. وجود یون‌های کلر و سدیم در سلول به تولید رادیکال‌های آزاد درون سلول کمک می‌کند و در نتیجه چربی‌های غیراشباع غشاء داخل سلول اکسید شده و ساختار غشاء دچار مشکل می‌گردد. قارچ‌های مایکوریز در شرایط تنش شوری، با افزایش جذب عناصر غذایی و افزایش تولید آنتی اکسیدان‌ها سبب افزایش پایداری و کاهش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی گیاهان میزبان می‌شوند (فینگ و همکاران ۲۰۰۲).

محتوای نسبی آب برگ

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر متقابل سطوح تنش شوری × قارچ بر محتوای نسبی آب برگ غیر معنی‌دار بود. تأثیر شوری به تنهایی غیر معنی‌دار بود ولی تأثیر تیمار قارچ *P. indica* بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۳). کمترین محتوای نسبی آب برگ (۷۱/۷٦ درصد) مربوط به گیاهان تلقیح نشده است. بیشترین محتوای نسبی آب برگ (۷۳/۵۵ درصد) مربوط به کاربرد قارچ *P. indica* است (شکل ۵).



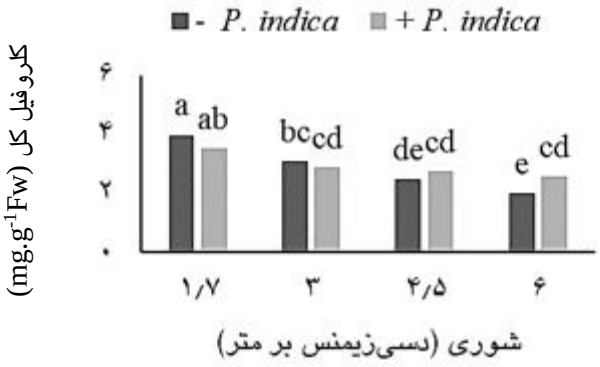
شکل ۵- اثر اصلی قارچ *P. indica* بر محتوای نسبی آب برگ

افزایش غلظت یون سدیم و پتانسیل اسمزی و کاهش محتوای نسبی آب برگ، باعث پراکسیداسیون چربی‌ها شده و در عملکرد و ساختار غشای سلولی اختلال ایجاد می‌کند (اشرف و همکاران ۲۰۰۸). در پژوهشی که توسط حسنی و همکاران (۲۰۱۹) در گیاه خیار تلقیح شده و تلقیح نشده با *P. indica* انجام شد، دریافتند که با افزایش تنش شوری، محتوای نسبی آب برگ در آن‌ها کاهش یافت، کاهش محتوای نسبی آب در گیاهان تلقیح شده به‌طور معنی‌داری کمتر از گیاهان تلقیح نشده است. عملکرد این قارچ در خیار نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کند. در یک بررسی که روی ارقام مختلف زیتون انجام شد افزایش سطوح شوری بر محتوای نسبی آب برگ در برخی ارقام بی‌تاثیر بود ولی در برخی ارقام دیگر منجر به کاهش آن شد. در این بررسی ارقامی که نسبت به افزایش شوری متحمل بودند محتوای نسبی آب، کمتر کاهش یافت (موسوی و همکاران ۲۰۱۹).

کلروفیل کل

بر اساس نتایج، اثرات اصلی سطوح شوری ($P<$ ۰/۰۱) و اثر متقابل سطوح شوری خاک × قارچ ($P <$ ۰/۰۵) بر میزان کلروفیل برگ معنی‌دار بود. ولی اثر قارچ به‌تنهایی بر میزان کلروفیل برگ غیر معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش سطح شوری، کلروفیل کل در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح کاهش می‌یابد. بیشترین میزان کلروفیل کل، در اولین سطح شوری (۱/۷ دسی‌زیمنس بر متر) به میزان ۳/۹۸ میلی‌گرم بر گرم در گیاهان تلقیح نشده است. تا سطح دوم شوری (۳ دسی‌زیمنس بر متر) کلروفیل کل در گیاهان بدون تلقیح بیشتر از گیاهان تلقیح شده بود اما با افزایش سطح شوری غلظت کلروفیل کل در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان بدون تلقیح افزایش معنی‌داری نشان داد. در بالاترین سطح شوری (٦ دسی‌زیمنس بر متر) غلظت کلروفیل کل در گیاهان بدون تلقیح و تلقیح شده به‌ترتیب ۲/۰۱ و ۲/۵۷ میلی‌گرم بر گرم بود که به میزان ۲۷/۸٦ درصد افزایش نشان می‌دهد (شکل ٦).

کاهش کلروفیل در شرایط تنش شوری، از تخریب کلروپلاست، تغییر نسبت لیپید به پروتئین، افزایش فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز و روبیسکو ناشی می‌شود. اثر سمیت برخی یون‌ها در شرایط تنش شوری مانع فعالیت آنزیمی و سنتز کلروفیل در سلول می‌شود (کیون و شبالا ۲۰۰۷). به‌عبارتی، اختلال ضمنی در جذب عناصر دخیل در ساختار کلروفیل مانند منیزیم و آهن یکی از دلایل کاهش کلروفیل در برگ بوته‌های در معرض تنش شوری است (مونز و تستر ۲۰۰۸). در مطالعه دیگری، علت کاهش میزان کلروفیل در شرایط شور را به فعالیت بیشتر آنزیم کلروفیلاز، و سست شدن کمپلکس لیپیدی پروتئین پیگمان و هم‌چنین سنتز پرولین نسبت داده‌اند (پل و همکاران ۲۰۰۰). نتایج یافته‌های ابراهیم و سالم (۲۰۱۷) نشان داد که تنش شوری باعث کاهش کلروفیل a و b در گوجه فرنگی می‌شود در حالی که تلقیح مایکوریز مقدار آن‌ها را افزایش می‌دهد. به‌نظر می‌رسد که *P. indica* با افزایش فلورسانس کلروفیل، فعالیت فوتوسیستم II و کارایی استفاده از آب، اثرات مخرب استرس اسمزی را کاهش می‌دهد (عبدالعزیز و همکاران ۲۰۱۹).

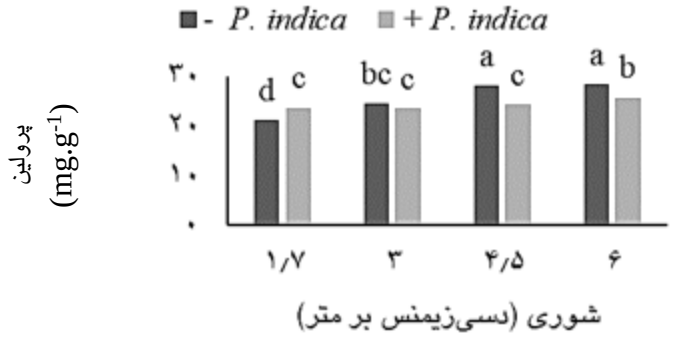


شکل ۶- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ بر میزان کلروفیل کل

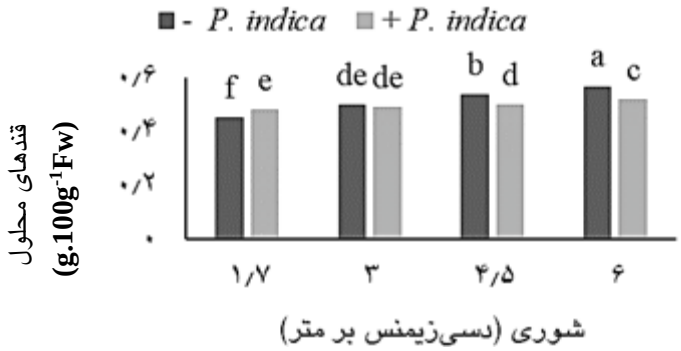
پرولین و قندهای محلول

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات اصلی و اثر متقابل سطوح شوری خاک × قارچ بر میزان پرولین و قندهای محلول، معنی‌دار بود ($P <$ ۰/۰۱). میزان پرولین با افزایش سطح شوری در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح افزایش یافت طوری که میزان افزایش پرولین برگ

در گیاهان تلقیح نشده بیشتر از گیاهان تلقیح شده می‌باشد (جدول ۳). کمترین و بیشترین مقدار پرولین در گیاهان تلقیح نشده، در سطوح شوری ۱/۷ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۲۱/۳۷ و ۲۸/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود (شکل ۷). میزان قندهای محلول در هر دو تیمار همزیست و غیرهمزیست با افزایش تنش شوری افزایش یافت به‌طوری‌که میزان افزایش در گیاهان غیرهمزیست در سطوح شوری ۱/۷، ۳، ٤/٥ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۰/٤٥، ۰/٥۰، ۰/٥٤ و ۰/٥۷ گرم گلوکز بر ۱۰۰ گرم وزن تر و در گیاهان همزیست به ترتیب ۰/٤۸، ۰/٤۹، ۰/٥۰ و ۰/٥۲ گرم گلوکز بر ۱۰۰ گرم وزن تر بود (شکل ۸).



شکل ۷- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای میزان پرولین



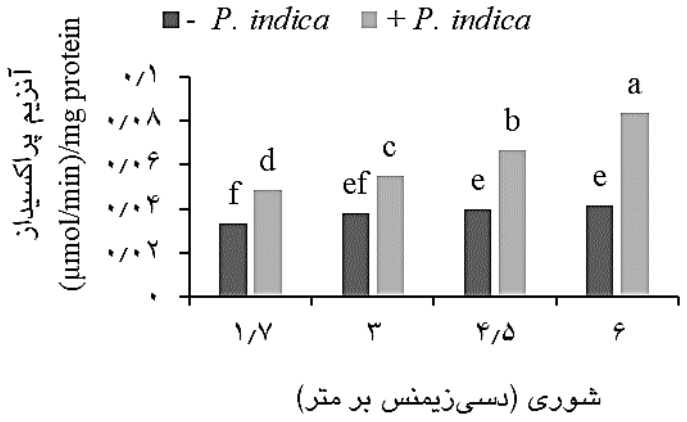
شکل ۸- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای میزان قندهای محلول

یکی از استراتژی‌های مهم گیاهان برای سازگاری و تحمل شرایط استرس‌زای محیطی، تجمع ترکیبات محلول سازگار مانند پرولین، گلایسین بتائین و قندها در اندام‌های خود می‌باشد (قربانی و همکاران ۲۰۱۸). میزان تجمع پرولین در سلول بستگی به نوع گونه و شدت تنش دارد (کلاوسن ۲۰۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان داد افزایش پرولین در شرایط تنش شوری در گیاهان همزیست و غیرهمزیست دیده می‌شود و حتی با افزایش سطح شوری در گیاهان غیرهمزیست تجمع پرولین بیشتر از گیاهان همزیست است. چنین نتایجی قبلا در تنش‌هایی مثل تنش خشکی در زنجبیل (بوساله و شیندی ۲۰۱۱) و تنش شوری در خیار (عبدالعزیز و همکاران ۲۰۱۹) که با قارچ همزیستی داشتند مشاهده شده است. توجیهی که در این خصوص وجود دارد این است که با توجه به نقش اسمولیتی پرولین، در شرایط تنش در گیاه تولید می‌شود و همزیستی گیاهچه‌های گلابی با قارچ اثرات تنش را تعدیل می‌کند و در گیاهان همزیست نسبت به گیاهان غیرهمزیست کمتر تولید می‌شود.

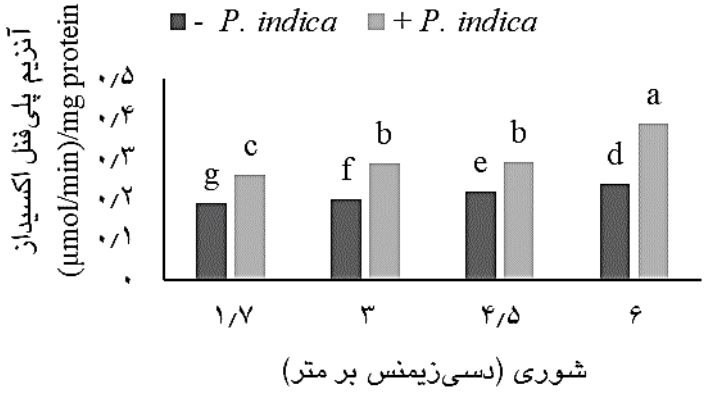
قندهای محلول در اندام هوایی گیاهان همزیست تحت تنش شوری کمتر از گیاهان غیرهمزیست است. شالمبام و همکاران (۱۹۹۸) پیشنهاد کردند تحت شرایطی که باعث کاهش فتوسنتز می‌شود قارچ‌های همزیست می‌توانند به‌عنوان یک منبع قوی برای دریافت کربن باشند. این محققین بیان داشتند در شرایط تنش، کاهش تجمع قندها در برگ گیاهان همزیست می‌تواند بخاطر کاهش دسترسی به مواد فتوسنتزی برای ذخیره در این بافت‌ها باشد. توضیح دیگر می‌تواند این باشد که اندام هوایی گیاهان همزیست نسبت به گیاهان غیرهمزیست کمتر تحت تأثیر اثرات منفی تنش شوری قرار می‌گیرند. تجمع کمتر مواد محلول سازگار می‌تواند بیان کند که گیاهان به‌طور موفقیت آمیزی از تنش شوری اجتناب داشتند (آگوئه ۲۰۰۱).

آنزیم های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر اصلی و اثر متقابل سطوح شوری × قارچ بر میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۱$). در هر چهار سطح شوری خاک، بین گیاهان تلقیح شده و نشده اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳)، با افزایش تنش شوری میزان فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح افزایش یافت. در همه سطوح شوری، میزان فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهان تلقیح شده بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود. در سطوح شوری ۱/۷، ۳، ٤/٥ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب ٤٨/٤٨، ٤٤/٧٣، ٦٧/٥ و ٩٧/٦١ درصد (شکل ۹) و میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز به ترتیب ٣٥/٤١، ٤٥، ٣٢/٧٢ و ٦٢/٥ درصد در گیاهان تلقیح شده افزایش یافت (شکل ۱۰).



شکل ۹- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

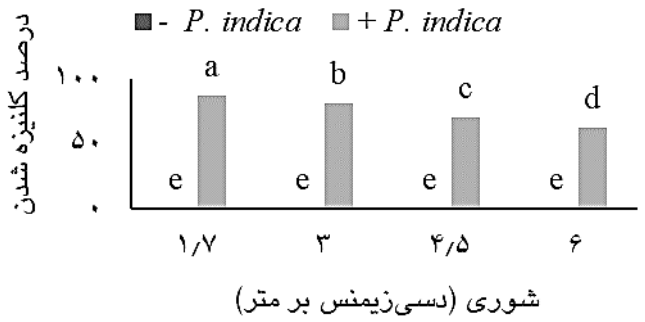


شکل ۱۰- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

افزون بر اثر مستقیم تنش شوری بر گیاهان، باعث انگیزش تنش اکسایشی و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن، سوپراکسید و هیدروکسیل می‌شود که باعث پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک می‌شود (پاریدا و داس ۲۰۰۵). افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش‌های شوری در توت‌فرنگی (کاتگین و پاولزیک ۲۰۰۸) و در آزمایش گلخانه‌ای روی دانهال‌های گلابی (وو و زو ۲۰۰۹) گزارش شده است. فعالیت آنزیم‌ها با کاربرد قارچ نسبت به عدم کاربرد آن افزایش یافت، که دلیل آن می‌تواند افزایش توان گیاهان تلقیح شده با قارچ برای مقابله با رادیکال‌های آزاد تولید شده در شرایط شوری باشد. وارما و همکاران (۲۰۱۲) افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی را با کاربرد قارچ *P. indica* گزارش نموده‌اند، که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. ممکن است استفاده از *P. indica* در فعال شدن آنزیم‌های مهارکننده ROS در بهبود تحمل تنش شوری نقش داشته باشد (حسینی و همکاران ۲۰۱۷).

کلنیزه شدن ریشه

نتایج نشان داد که اثرات اصلی و اثر متقابل سطوح شوری × قارچ بر درصد کلنیزه شدن ریشه معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) بود (جدول ۳). در تیمارهای بدون حضور قارچ، هیچ‌گونه اندام قارچی مشاهده نگردید. در حالی که در تیمارهای تلقیح شده، قارچ‌های مایکوریز، ریشه‌های پایه پیرودوارف گلابی را به خوبی کلنیزه نمود. مقایسه میانگین نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری، درصد کلنیزه شدن ریشه به‌صورت معنی‌داری کاهش نشان می‌دهد. در شوری ۱/۷ دسی‌زیمنس بر متر میزان کلنیزه شدن ۸۷/۲۷ و در شوری ٦ دسی‌زیمنس بر متر ٦١/٩١ درصد است که ۲۹/۰۵ درصد کاهش نشان می‌دهد (شکل ۱۱).



شکل ۱۱- ترکیبات تیماری سطوح شوری خاک × قارچ برای درصد کلنیزه شدن ریشه

با افزایش شدت تنش شوری، تندش اسپور و تولید هیف کاهش می‌یابد. در نتیجه باعث کاهش کلنیزه شدن ریشه می‌شود (جهرمی و همکاران ۲۰۰۸). در مراحل تندش اسپور، شوری بیشترین اثر را بر کلنیزه شدن دارد، نمک با تغییر و کاهش ترشحات ریشه‌ای مانع جوانه‌زنی و گسترش سیستم هیف می‌شوند (ویلسون ۱۹۸٤). کاهش همزیستی قارچ با ریشه، ناشی از وجود نمک کلرید سدیم، بیشتر به‌علت اثر بازدارندگی آن بر رشد ریشه است بر اساس گزارش گری و همکاران (۲۰۰۷)، کاهش رشد ریشه در غلظت بالای این یون‌ها در محلول خاک، به‌علت سمیت یونی یا تنش اسمزی است.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق استفاده از قارچ *P. indica* نسبت به شاهد بدون قارچ، از لحاظ تأثیر بر شاخص‌های اندازه‌گیری مثبت ارزیابی شد، این قارچ در کاهش اثرات منفی تنش شوری، از کارایی بالایی برخوردار بود. تنش شوری یکی از عوامل تأثیرگذار بر شاخص‌های رشد پایه پیرودوارف گلابی و نیز درصد کلنیزه شدن *P. indica* در ریشه است و با افزایش تنش شوری، شاخص‌های رشد گیاه و درصد کلنیزه شدن ریشه توسط قارچ کاهش می‌یابد. مشخص شد که در سطوح مختلف شوری، شاخص‌های رشد گیاه در تیمار تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده بهتر بودند. قارچ اندوفیت، باعث پایداری بیشتر کلروفیل در برگ گیاهان در معرض تنش شوری شد که گویای نقش آن در راه‌اندازی مسیرهای متابولیکی است و نشان می‌دهد که قارچ موجب تداوم فعالیت‌های فیزیولوژیکی کلروفیل و پایداری گیاه می‌شود. می‌توان نتیجه گرفت که قارچ *P. indica* با بهبود شرایط مورفوفیزیولوژیکی گیاه، مقاومت پایه پیرودوارف گلابی را در شرایط تنش شوری در مقایسه با گیاهان شاهد (بدون قارچ) افزایش می‌دهد. در سطح شوری ٤/٥ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر اثر قارچ *P. indica* بر نسبت سطح بر وزن خشک ریشه، رشد قطری سرشاخه، میزان کلروفیل کل، میزان آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، بیشترین افزایش و میزان نشت یونی، پرولین و قندهای محلول بیشترین کاهش را نشان داد. لذا استفاده از قارچ *P. indica* می‌تواند در درختان گلابی که روی پایه پیرودوارف پیوند شده‌اند، در خاک‌هایی که در معرض شوری هستند مفید واقع شود و از تأثیر منفی شوری بر تولید محصول بکاهد. توصیه می‌شود که این آزمایش برای کاربردی شدن در شرایط طبیعی مزرعه نیز تکرار شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمام حمایت‌ها و مساعت‌های دانشگاه-های ارومیه و تبریز جهت فراهم آوردن امکانات لازم برای اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

Abadi VJM and Sepehri M. 2016. Effect of *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* on mitigation of zinc deficiency stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Symbiosis, 69(1): 9-19.

Abdelaziz ME, Abdelsattar M, Abdeldaym EA, Atia MA, Mahmoud AWM, Saad MM and Hirt H. 2019. *Piriformospora indica* alters Na+/K+ homeostasis, antioxidant enzymes and LeNHX1 expression of greenhouse tomato grown under salt stress. Scientia Horticulturae, 256: 1-8.

Arnon D. 1949. Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant physiology, 24: 1-15.

Ashraf M, and Ali Q. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany, 63: 266-273.

Augé RM. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza, 11(1): 3-42.

Bajaj R, Huang Y, Gebrechristos S, Mikolajczyk B, Brown H, Prasad R, Varma A and Bushley KE. 2018. Transcriptional responses of soybean roots to colonization with the root endophytic fungus *Piriformospora indica* reveals altered phenylpropanoid and secondary metabolism. Scientific Reports, 8(1): 1-18.

Bates LS, Waldren R P and Teare I D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.

Bell RL, Quamme HA, Layne REC and Skirvin RM. 1996. Pears. In: J Janick and Moore J N (Ed). Fruit Breeding. Volume I: Tree and Tropical Fruits. John Wiley and Sons, Inc: 441–514.

Bhosale KS and Shinde B. 2011. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on proline and chlorophyll content in *Zingiber officinale* Rosc grown under water stress. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 1(3): 172-176.

Campbell J. 2003. Pear Rootstocks. AGFACTS, the State of New South Wales Agriculture. Australia.

Chance B and Maehly AC. 1955. [136] Assay of catalases and peroxidases.

Chen S, Zhao H, Zou C, Li Y, Chen Y, Wang Z, Jiang Y, Liu A, Zhao P, Wang M and Ahammed GJ. 2017. Combined inoculation with multiple arbuscular mycorrhizal fungi improves growth, nutrient uptake and photosynthesis in cucumber seedlings. Frontiers in Microbiology, 8: 1-11.

Claussen W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. Plant Science, 168(1): 241-248.

Cuin TA and Shabala S. 2007. Compatible solutes reduce ROS induced potassium efflux in *Arabidopsis* roots. Plant, Cell and Environment, 30: 875-885.

Ebrahim MK and Saleem AR. 2017. Alleviating salt stress in tomato inoculated with mycorrhizae: Photosynthetic performance and enzymatic antioxidants. Journal of Taibah University for Science, 11(6): 850-860.

Feng G, Zhang F S, Li Xl, Tian CY, Tang C and 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.

Gee GW and Bauder JW. 1986. Partical-size analysis, 383- 411. In: Klute A (ed.). Methods of Soil Analysis: Physical and Mineralogical Methods. Part 1,2nd (ed.) Soil Sience Society of America, Madison, Wisconsin, United States of America.

Ghorbani A, Razavi SM, Ghasemi Omran VO and Pirdashti H. 2018. *Piriformospora indica* inoculation alleviates the adverse effect of NaCl stress on growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Plant Biology, 20(4): 729-736.

Giri B, Kapoor R and Mukerji KG. 2007. Improved tolerance of Acacia nilotica to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum*, may be partly related to elevated K+/Na+ ratios in root and shoot tissues. Microbial Ecology, 54: 753-760.

Gupta PK. 2000. Soil, Plant Water and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi, India.

Gupta S, Schillaci M, Walker R, Smith P M, Watt M and Roessner U. 2020. Alleviation of salinity stress in plants by endophytic plant-fungal symbiosis: Current knowledge, perspectives and future directions. Plant and Soil, pp.1-26.

Hanin M, Ebel C, Ngom M, Laplaze L and Masmoudi K. 2016. New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. Frontiers in plant science, 7: 1787.

Hassani D, Khalid M, Huang D and Zhang YD. 2019. Morphophysiological and molecular evidence supporting the augmentative role of Piriformospora indica in mitigation of salinity in *Cucumis melo* L. Acta biochimica et biophysica Sinica, 51(3): 301-312.

Hosseini F, Mosaddeghi MR and Dexter AR. 2017. Effect of the fungus *Piriformospora indica* on physiological characteristics and root morphology of wheat under combined drought and mechanical stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 118: 107-120.

Irigoyen JJ, Einerich DW and Sánchez- Díaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84(1): 55-60.

Jacob HB. 2002. New pear rootstocks from geisenheim, Germany. Acta Horticulturae, 596: 337-344.

Jahromi F, Aroca R, Porcel R and Ruiz-Lozano J M. 2008. Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. Microbial Ecology, 55:45–53.

Kaefer E. 1977. Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. Advances in Genetics, 19: 33–131.

Kaya C, Ashraf M, Sonmez O, Aydemir S, Tuna AL and Cullu MA. 2009. The influence of arbuscular mycorrhizal colonization on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. Scientia Horticulturae, 121:1-6.

Keutgen AJ and Pawelzik E. 2008. Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. Food Chemistry, 107(4):1413-1420.

Kormanik P and McGraw A. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots, Pp: 37-45. In: Schenck, N.C. (Ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota.

Li D, Mensah RA, Liu F, Tian N, Qi Q, Yeh K, Xuhan X, Cheng C and Lai Z. 2019. Effects of *Piriformospora indica* on rooting and growth of tissue-cultured banana (*Musa acuminata* cv. Tianbaojiao) seedlings. Scientia Horticulturae, 257: 1-7.

Lindahl BD, Ihrmark K, Boberg J, Trumbore SE, H€ogberg P, Stenlid J, and Finlay RD. 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. New Phytologist 173: 611–620.

Lutts S, Kinet JM and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annual Botany, 78: 389-398.

Manii A. 2000. Pears and their cultivation. second edition. Iran Technical Publishing Company, 105.

Matsumoto K, Chun JP, Tamura F, Kamamoto Y and Tanabe K. 2006. Salf Tolerance in *Pyrus* Species is Linked to Levels of Na and Cl Translocation from Roots to Leaves. Japan. Journal of Scientia horticulturae, 75(5): 385-391.

Mirabdulbaghi M. 2017. The effect of salinity on physiological aspects of some grafted-pear rootstocks. Iranian Journal of Horticultural Science, 48(2): 347-356.

Mousavi S, Regni L, Bocchini M, Mariotti R, Cultrera NG, Mancuso S, Googlani J, Chakerolhosseini MR, Guerrero C, Albertini E and Baldoni L. 2019. Physiological, epigenetic and genetic regulation in some olive cultivars under salt stress. Scientific Reports, 9(1): 1-17.

Mensah RA, Li D, Liu F, Tian N, Sun X, Hao X, Lai Z and Cheng C. 2020. Versatile *Piriformospora indica* and Its potential applications in horticultural crops. Horticultural Plant Journal. 6 (2): 111-121.

Munns R and Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681.

Nelson DW and Sommers LE. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter, Pp. 539–579. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR (eds). Methods of Soil Analysis, part 2. American Society of Agronomy, Soil Sience Society of America. Madison, Wisconsin.

Olsen SR and Sommers LE. 1982. Phosphorus. Pp: 403-430. In: Page AL, (ed.) Methods of Soil Analysis, Chemical and Microbiological Properties. Part 2. American Society of Agronomy, Soil Sience Society of America. Madison, Wisconsin.

Parida AK and Das AB. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and environmental Safety, 60(3): 324-349.

Paul M, Hasegawa Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. 2000. Plant cellular and molecular response to high salinity. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 51: 463-499.

Pham GH, Kumari R, Singh A, Malla R, Prasad R, Sachdev M, Kaldorf M, Buscot F, OelmŘller R, Hampp R and Saxena A K. 2008. Axenic culture of symbiotic fungus *Piriformospora indica*. In Plant surface microbiology (Pp. 593-613). Springer, Berlin, Heidelberg.

Prasad R, Bagde US, Puspangadan P and Varma A. 2008. *Bacopa monniera* L.: pharmacological aspects and study involving *Piriformospora indica*. International Journal of Integrative Biology, 3(2): 100-10.

Rafiqi M, Jelonek L, Akum NF, Zhang F and Kogel K. 2013. Effector candidates in the secretome of *Piriformospora indica*, a ubiquitous plant-associated fungus. Plant Science 228(4): 1-5.

Rai M, Acharya D, Singh A and Varma A. 2001. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. Mycorrhiza. 11: 123-128.

Raymond J, Rakariyatham N and Azanza J L. 1993. Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. Phytochemistry, 34(4): 927-931.

Sallaku G, Sandén H, Babaj I, Kaciu S, Balliu A and Rewald B. 2019. Specific nutrient absorption rates of transplanted cucumber seedlings are highly related to RGR and influenced by grafting method, AMF inoculation and salinity. Scientia horticulturae, 243:177-188.

Schellenbaum L, Müller J, Boller T, Wiemken A and Schüepp H. 1998. Effects of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: changes in the pools of non- structural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in the pools of amino acids and imino acids. New Phytologist, 138(1): 59-66.

Schonfeld MA, Johnson RC, Carver B and Morhinweg DW. 1988. Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. Crop Science, 28: 526-531.

Shi AD, Li Q, Huang JG and Yuan L. 2013. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition and chlorogenic acid content of *Lonicera confuse* seedlings under field conditions. Pedosphere, 23(3): 333-339.

Sun C, Johnson JM, Cai D, Sherameti I, Oelmüller R and Lou B. 2010. *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. Journal of plant physiology, 167(12): 1009-1017.

Taiz L and Zeiger E. 2006. Plant Physiology. 4th ed. Saunderland MA: Sinauer.

Tennant D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. Journal of Ecology, 63: 995-1001.

Teutonica RA, Palta JP and Osborn TC. 1993. In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Science, 33: 103-107.

Varma A, Bakshi M, Lou B, Hartmann A and Oelmuller R. 2012. *Piriformospora indica*: a novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. Review. NAAS (National Academy of Agricultural Sciences). Agricultural Research, 1(2): 117-131.

Varma A, Singh A, Sudha Sahay N, Sharma J, Roy A, Kumari M, Rana D, Thakran S, Deka D, Bharti K, Franken P, Hurek T, Blechert O, Rexer K-H, Kost G, Hahn A, Hock B, Maier W, Walter M, Strack D and Kranner I. 2001. *Piriformospora indica*: a cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: Mycota IX. Springer Series, Germany, 123-150.

Vujovic T, Ruzic DJ and Cerovic R. 2012. In vitro shoot multiplication as influenced by repeated subculturing of shoots of contemporary fruit rootstocks. Horticulturae Sciencia, 39: 101-7.

Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, Heier T, Huckelhoven R, Neumann C, Wettstein DV, Franken P and Kogel KH. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102: 13386-13391.

Wilson JN. 1984. Comparative development of infection by three vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist, 97:413–426.

WU QS and ZOU YN. 2009. Adaptive responses of birch-leaved pear (*Pyrus betulaefolia*) seedlings to salinity stress. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37(1):133-138.

Xia Y, Sahib MR, Amna A, Opiyo SO, Zhao Z and Gao YG. 2019. Culturable endophytic fungal communities associated with plants in organic and conventional farming systems and their effects on plant growth. Scientific Reports, 9(1): 1-10.

Zolfaghari M, Nazeri V, Sefidkon F and Rejali F. 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. Iranian Journal of Plant Physiology, 3(2): 643-650.