

## Effect of inoculation with mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* on growth and some physiological factors of tomato under salinity stress

Golnaz Khazani<sup>1</sup>, Jalil Khara<sup>1\*</sup>, Zohreh Jabbarzadeh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>2</sup> Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

### Abstract

Mycorrhizal fungi cause plants to withstand environmental stresses. This research was carried out in order to investigate the effects of mycorrhizal fungus (*Glomus versiforme*) on tomato plants to ameliorate the salinity stress. This completely randomized experiment includes salinity (0, 4 and 8 dS m<sup>-1</sup>) and mycorrhizal (0 and 5% w/w) treatments in the research greenhouse of Urmia University in 2017. Morphological, physiological and biochemical characteristics such as plant height, root volume, proline and malone dialdehyde content, catalase activity, electrolytes leakage and content of soluble sugars were evaluated. Plant height and root volume in symbiont plants were more than the control, significantly. Increased catalase activity and proline and soluble sugars content in inoculated plants indicates reduction in stress damage due to salinity. Also, electrolytes leakage and malone dialdehyde content in symbiont plants under salinity stress was less than the control. These positive effects of mycorrhizal symbiosis could be due to physiological impacts such as cell turgor control and osmolytes production and also due to morphological characteristics including root development and following ameliorating effects against salinity stress.

**Keywords:** Catalase, Malonedialdehyde, Mycorrhiza, Osmolytes, Tomato

---

\* Corresponding Author: j.khara@urmia.ac.ir

## تأثیر تلقیح با قارچ میکوریز *Glomus versiforme* در رشد و برخی عوامل فیزیولوژیک گیاه گوجه‌فرنگی در تنش شوری

گلناز خزانی<sup>۱</sup>، جلیل خارا<sup>۱\*</sup>، زهره جبارزاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

<sup>۲</sup> گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

### چکیده

قارچ‌های میکوریز در گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی مقاومت ایجاد می‌کنند. برای بررسی آثار همزیستی قارچ میکوریز *Glomus versiforme* در کاهش آثار تنش شوری بر گیاه گوجه‌فرنگی، پژوهشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل شوری (با سه مقدار صفر، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر) و قارچ میکوریز (با دو مقدار صفر و پنج درصد وزنی) در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۶ انجام شد. ویژگی‌های ریخت‌شناختی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی شامل ارتفاع گیاه، حجم ریشه، محتوای پروتئین و مالون‌دی‌آلدهید، فعالیت کاتالاز، میزان نشت الکترولیت‌ها و محتوای قندهای محلول ارزیابی شدند. ارتفاع گیاه و حجم ریشه در گیاهان همزیست به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بودند. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوای پروتئین و قندهای محلول در گیاهان همزیست با قارچ نشان‌دهنده کاهش خسارت تنش در گیاهان همزیست است. همچنین، نشت الکترولیت‌ها و محتوای مالون‌دی‌آلدهید به‌طور معنی‌داری در گیاهان همزیست در معرض تنش شوری کمتر از شاهد بودند. این آثار مثبت همزیستی میکوریزی ممکن است به دلایل آثار فیزیولوژیک مانند تنظیم آماس سلولی و اسمولیت‌ها و همچنین آثار ریخت‌شناختی مانند توسعه ریشه گیاه و به دنبال آن آثار مثبت در بازدارندگی از تنش باشد.

**واژه‌های کلیدی:** اسمولیت، کاتالاز، گوجه‌فرنگی، مالون‌دی‌آلدهید، میکوریز

\* نگارنده مسئول: نشانی پست الکترونیک: j.khara@urmia.ac.ir، شماره تماس: ۰۴۴۳۱۹۴۲۱۰۷

## مقدمه

تنش‌های غیرزیستی عامل مهم کاهش عملکرد محصولات در سطح جهان‌اند که این کاهش برای تنش شوری، ۲۰ درصد تخمین زده می‌شود (Kafi *et al.*, 2015). هفت درصد از زمین‌های دنیا در معرض تنش شوری هستند که براساس آمار موجود در سطح جهانی، ایران پس از چین، هندوستان و پاکستان بیشترین درصد زمین‌های شور را دارد. شوری بر رشد ظاهری گیاه، تنظیم یون‌ها، بیوسنتز مواد، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی تأثیر چشمگیری دارد (Kafi *et al.*, 2015). نشانه‌های آسیب‌دیدگی ناشی از وجود شوری معمولاً هنگامی در گیاه آشکار می‌شوند که غلظت نمک‌های محلول در خاک بسیار زیاد باشد (Kaya *et al.*, 2009). سیستم کشاورزی پایدار، زمانی مبتنی بر علم زیست‌شناسی است که مؤلفه‌های تولیدی و حمایتی آن یعنی گیاه و خاک در توازن باشند. گیاه برای مؤلفه‌های زنده خاک، انرژی تأمین می‌کند و در عوض، این مؤلفه‌ها برای شکل‌گیری ساخت‌های فیزیکی و توازن‌های شیمیایی در بافت خاک، حیاتی هستند و در نتیجه، رشد ریشه‌ها را تقویت می‌کنند. مهم‌ترین واکنش گیاه به شوری، کاهش رشد است. تنش شوری با افزایش تجمع سدیم کلرید در کلروپلاست بر سرعت رشد تأثیر می‌گذارد که بیشتر، با کاهش انتقال الکترون فتوسنتزی همراه می‌شود. افزایش جذب فسفر و ازت در گیاهان همزیست در مقایسه با شاهد نیز ممکن است سازوکار دیگری برای افزایش ارتفاع گیاهان همزیست باشد. هر دوی این عناصر، عناصر پرمصرف بااهمیت در تغذیه گیاه هستند و در رشد و تنظیم فعالیت هورمون‌های رشد

از جمله سیتوکینین و اکسین نقش مهمی دارند. این قارچ‌ها می‌توانند با افزایش جذب آب در شرایط تنش و جبران فشار تورژسانس سلول از کاهش ارتفاع گیاه در مقایسه با شاهد در مقادیر آبیاری یکسان جلوگیری کنند (Beltrano *et al.*, 2013). قارچ‌های میکوریز به سلول‌های گیاه میزبان خود و همچنین بافت خاک میزبان نفوذ می‌کنند و کنترل آنها را در اختیار خود می‌گیرند سیستم انتقال دوسویه زیستی برای جریان یافتن مواد مغذی معدنی از خاک به گیاه و ترکیبات کربنی از گیاه به خاک تشکیل می‌دهند. در این فرایند، آنها رشد و سلامت گیاه را بهبود می‌دهند؛ بنابراین، این قارچ‌ها برای کشاورزی پایدار و مبتنی بر زیست‌شناسی نقش کلیدی دارند (Oruru and Njeru, 2016). این قارچ‌ها با بهبود توانایی گیاه در جذب عناصر غذایی (Malusá *et al.*, 2012)، کمک به تعادل یونی (Giri and Kapoor, 2011)، حفظ فعالیت آنزیمی (Rabie and Almadani, 2005)، افزایش غلظت کلروفیل (Colla *et al.*, 2008) و افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی (Abdel Latef *et al.*, 2016) بهبود رشد گیاه را باعث می‌شوند؛ برای نمونه، گزارش شده است کاربرد قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* علاوه بر تحریک گیاه به افزایش سنتز ترکیبات فنلی و افزایش جذب فسفر و پتاسیم با هیف‌های قارچی، کاهش آثار تنش شوری را در گیاه دارویی نعناع فلفلی موجب شده است. به نظر می‌رسد کاربرد این قارچ بتواند با القای مقاومت به شوری، ویژگی‌های رشدی این گیاه دارویی را به‌طور چشمگیری در شرایط آبیاری با آب دریا بهبود بخشد (Khalvandi *et al.*, 2017). در پژوهشی مشابه بر گوجه‌فرنگی

دسی‌زیمنس بر متر) در چهار تکرار انجام شد. هر تکرار شامل یک گلدان با دو گیاه بود که به مدت هشت ماه در یکی از گلخانه‌های شهرستان ارومیه و آزمایشگاه‌های تحقیقاتی گروه زیست‌شناسی اجرا شد. نمونه‌برداری، چهار ماه پس از کشت بذر شروع شد. ابتدا نمونه خاک در آزمایشگاه گروه خاک‌شناسی بررسی شد. این نمونه که بافت آن لومی - شنی بود، در دستگاه اتوکلاو (مدل RT-2، شرکت Reyhan Teb، ایران) به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شد؛ سپس خاک استریل‌شده در گلدان‌های پلاستیکی ضد عفونی‌شده با اتانول ۹۶ درصد و دارای ارتفاع ۲۵ و قطر ۲۰ سانتی‌متر با ظرفیت هفت کیلوگرم خاک ریخته شد. پس از آن، نشاهای گوجه‌فرنگی که در سینی‌های کشت تا مرحله چهاربرگی رشد داده شده بودند به گلدان‌ها انتقال یافتند. گلدان‌های حاوی تیمارهای همزیست، در همان مرحله انتقال نشا با نوعی از قارچ میکوریزی تلقیح شدند که در همین آزمایشگاه همه‌ساله تجدید و تهیه می‌شوند. قبل از انتقال نشاها، مایه تلقیح حاوی حدود ۱۰۰ تا ۱۵۰ اسپور در هر گرم به میزان ۵ درصد وزنی به خاک گلدان‌ها افزوده و خوب به هم زده شد. پس از کاشت، گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار تا تثبیت نشاها به مدت یک ماه آبیاری شدند. در مرحله هفت‌برگی، تیمارهای شوری ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر به صورت آبیاری قطره‌ای از بشکه‌های جداگانه اعمال شدند. شرایط نوری به صورت نور طبیعی محیط و دمای تنظیم‌شده بین ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد برای گیاهان در گلخانه فراهم شدند (شکل ۱).

با بیان اینکه تنش شوری، تنش اکسیداتیو است، همزیستی با میکوریز را عامل کاهنده این تنش معرفی شده است (Abdel Latef and Chaoping, 2011).

آستانه تحمل شوری در مرحله رویشی برای گوجه‌فرنگی بومی، ۸/۵ و برای واریته موبیل، ۱۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر تعیین شده است و در این مقادیر، تفاوت معنی‌دار در بسیاری از شاخص‌های رشد در مقایسه با شاهد مشاهده شد؛ اما گیاه به رشد خود ادامه داد (Talebzadeh et al., 2009). گوجه‌فرنگی، منبعی از ژن‌ها برای بهبود مقدار آسکوریک اسید و افزایش مقاومت به شوری است. این گیاه نسبت به برخی از آفات و بیماری‌ها و همچنین تنش شوری مقاومت نسبتاً خوبی دارد و از سوی دیگر، منبعی با ارزش برای اصلاح ژنتیکی به شمار می‌رود (Rabiei and Ehsanpour, 2015)؛ بنابراین هدف از پژوهش حاضر نیز استفاده از قارچ میکوریز *Glomus versiforme*، برای تنظیم آثار منفی تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی، رقم Delvar و بررسی برخی عوامل فیزیولوژیک و ریخت‌شناختی در شرایط تنش بود.

## مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus versiforme* و شوری بر برخی ویژگی‌های کمی و کیفی گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.) رقم Delvar که نیمه‌مقاوم به شوری است، پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار قارچ میکوریز (با دو مقدار صفر و پنج درصد وزنی خاک) و شوری (با سه مقدار صفر، ۴ و ۸



شکل ۱- گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط شوری به صورت همزیست (سمت راست) و بدون همزیستی (سمت چپ)

گرم نین‌هیدرین مخلوط شد و محلول، اندکی حرارت داده شد تا نین‌هیدرین حل شود؛ سپس لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن ماری جوشان قرار داده شدند تا رنگ آجری نمایان شد و ثابت ماند. پس از تثبیت رنگ آجری، لوله‌ها داخل آب یخ قرار داده شدند و ۴ میلی لیتر تولوئن به آنها اضافه شد. لوله‌ها خوب به هم زده شدند تا دو فاز تشکیل شد. از فاز رویی با پیپت پاستور، نمونه‌برداری و جذب آن با اسپکتروفتومتر (مدل S2100، شرکت Biovawe، انگلستان) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از آب مقطر برای نمونه شاهد برای صفر کردن میزان جذب استفاده شد که همه مراحل یادشده بر آن اجرا شده بودند.

فعالیت کاتالاز با روش Zhang و همکاران (۲۰۰۷) براساس سرعت مشاهده هیدروژن پراکسید به دست آمد. مخلوط واکنش حاوی ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH برابر با ۷/۴، ۵۰ میکرولیتر مخلوط رقیق شده آنزیم استخراج شده و

۳۰ روز پس از اعمال تیمار شوری، بوته‌ها برداشت و عوامل ریخت‌شناختی مانند ارتفاع بوته، حجم ریشه و ویژگی‌های فیزیولوژیک مانند فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار مالون‌دی‌آلدهید، نشت الکترولیت‌ها، پرولین و قندهای محلول، براساس روش‌های موجود اندازه‌گیری شدند. ارتفاع گیاه با خط‌کش دقیق و حجم گیاه با استوانه مدرج برحسب میلی لیتر اندازه‌گیری شد. غلظت پرولین با نمودار استاندارد براساس وزن تر گیاه محاسبه شد (Bates et al., 1973). ۰/۵ گرم بافت تر برگ در ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد له شد. مخلوط با صافی واتمن صاف شد. به ۲ میلی لیتر از عصاره تهیه شده، ۲ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال و ۲ میلی لیتر معرف نین‌هیدرین اضافه شدند. این کار برای همه تیمارها و تکرارها انجام شد. برای تهیه معرف نین‌هیدرین، ۲۰ میلی لیتر فسفریک اسید ۶ مولار با ۳۰ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال و ۱/۵۲

با ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مولار بر سانتی‌متر و برحسب میکرومول بر گرم وزن تر از رابطه ۱ محاسبه شد.

$$\text{MDA} = (A_{532} - A_{600} / 155) \times 1000 \quad ۱ \text{ رابطه}$$

برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش فنل سولفوریک اسید (Fales, 1951) استفاده شد. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد روی ۰/۰۵ گرم از ماده خشک اندام هوایی و ریشه ریخته شد. درب‌های لوله‌ها بسته شدند و لوله‌ها برای آزاد شدن قندهای محلول به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند. پس از گذشت یک هفته، ابتدا نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند؛ سپس ۱ میلی‌لیتر از عصاره رویی برداشته شد و به ترتیب ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آن اضافه شد. این واکنش به شدت گرمازاست و باید با احتیاط کامل انجام شود. بدین ترتیب، محلول تیره‌رنگی به دست آمد که به مدت یک ساعت در آزمایشگاه سرد شد؛ سپس شدت رنگ به دست آمده، با اسپکتروفتومتر PD-303 UV (مدل S2100، شرکت Biovawe، انگلستان) در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نمودار استاندارد با غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکز تهیه شد.

### تحلیل آماری: تحلیل آماری داده‌های

به دست آمده از آزمایش با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel سال ۲۰۱۰ و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح یک و پنج درصد استفاده شد.

۰/۱ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید ۱ درصد بود. کاهش هیدروژن پراکسید در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد.

دیسک‌های برگ‌ها با قطر ۲/۵ سانتی‌متر از برگ‌های پایینی جدا شدند تا با روش Mao و همکاران (۲۰۰۷) نشئت الکترولیت‌ها تعیین شود. پس از ۳ بار شستشو با آب دیونیزه به مدت ۲ تا ۳ دقیقه، داخل لوله آزمایش، ۵ قطعه برگ در ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه قرار داده و به مدت ۳۰ دقیقه و هر ۵ دقیقه یک‌بار هم زده شدند. هدایت الکتریکی با دستگاه EC متر (مدل HI2300-02، شرکت Hanna، ایتالیا) تعیین شد. هدایت الکتریکی کل پس از جوشاندن محتوای لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه به دست آمد و نشئت الکترولیت‌ها به صورت درصدی از هدایت کل محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت تر گیاهی در ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۱ درصد ساییده شد. هموژنات‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل C2041، شرکت Centurion، انگلستان) شدند. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴ میلی‌لیتر از محلول محتوی تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و تیوباریتوریک اسید ۰/۵ درصد اضافه شدند؛ سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند. نمونه‌ها در آب یخ سرد شدند و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت، جذب نمونه‌ها در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA)

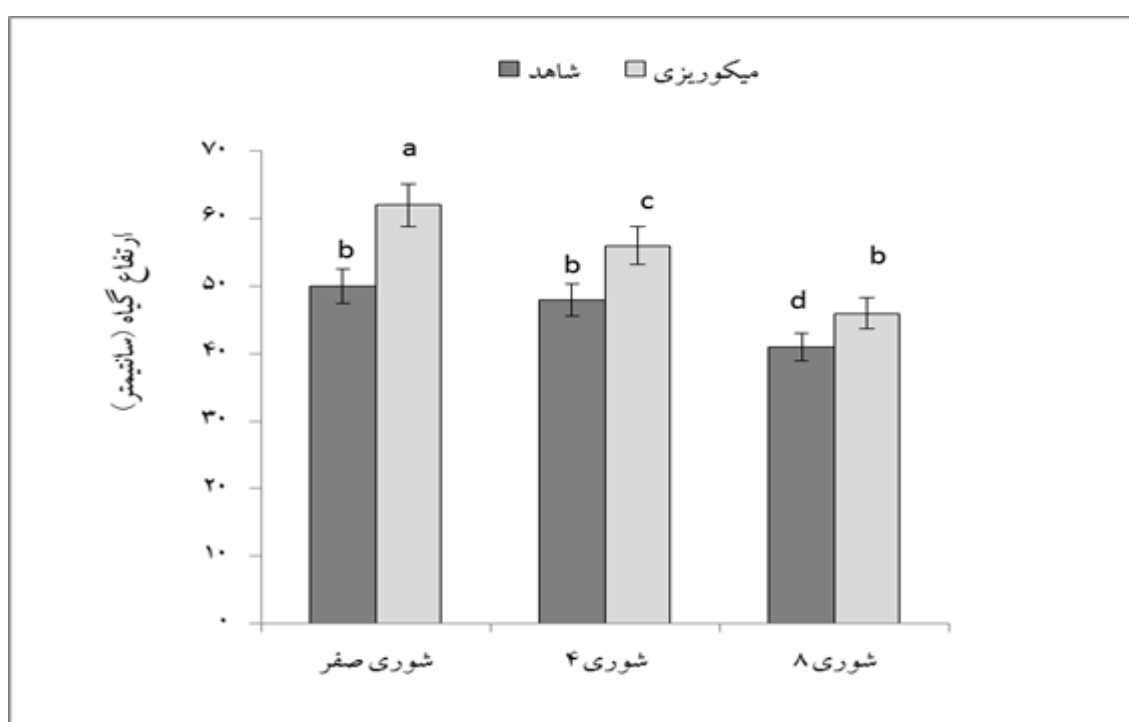
## نتایج

### شاخص‌های رشد

#### ارتفاع گیاه: تنش شوری کاهش ارتفاع بوته

گوجه‌فرنگی را سبب شد. همزیستی با قارچ میکوریز آثار منفی تنش شوری را در ارتفاع بوته‌ها کاهش داد. گیاهان همزیست بدون تیمار شوری بیشترین ارتفاع را داشتند؛ به طوری که ارتفاع آنها

به‌طور میانگین ۲۴ درصد بیشتر از بوته‌های غیرمیکوریزی بود. همچنین، در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر اگرچه گیاهان همزیست ارتفاع بیشتری داشتند، تفاوت معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد همزیستی میکوریزی با *G. versiforme* راهکار مناسبی برای کاهش آثار شوری در کاهش ارتفاع گوجه‌فرنگی باشد (شکل ۲).

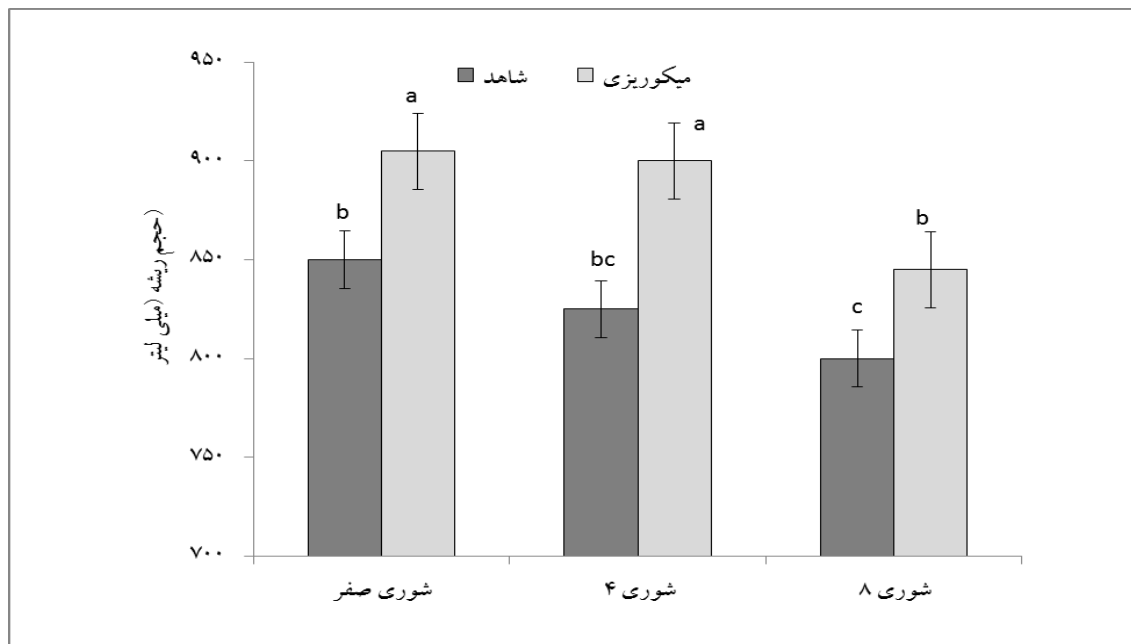


شکل ۲- آثار متقابل شوری و همزیستی با قارچ میکوریز بر ارتفاع گیاه گوجه‌فرنگی: شوری صفر (تیمار شاهد بدون شوری)، شوری ۴ (تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری ۸ (تیمار شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر)- مقادیر، میانگین چهار تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند.

#### حجم ریشه گیاه: در پژوهش حاضر، شوری ۸

دسی‌زیمنس بر متر تأثیر معنی‌داری در کاهش حجم ریشه گیاه در سطح یک درصد براساس آزمون دانکن نشان داد (شکل ۳). در گیاهان همزیست،

حجم ریشه‌های با تیمار شوری در مقایسه با شاهد به‌مراتب بیشتر بود. این افزایش در شوری صفر و ۸ دسی‌زیمنس بر متر، شش درصد و در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، ۹ درصد بود (شکل ۳).



شکل ۳- آثار شوری و همزیستی بر حجم ریشه گیاه گوجه‌فرنگی: شوری صفر (تیمار شاهد بدون شوری)، شوری ۴ (تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری ۸ (تیمار شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر) - مقادیر، میانگین چهار تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند.

## عوامل فیزیولوژیک

### محتوای پرولین: پرولین اسمولیت سازگار در

تنظیم اسمزی سلول‌ها است که در تنش شوری نقش بسزایی دارد؛ از این رو مقدار آن در گیاهان در تنش شوری بررسی شد. در بررسی حاضر، در شرایط تنش شوری در مقادیر ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر سدیم کلرید در مقایسه با شاهد، افزایش دو برابری در میزان پرولین برگ‌های گیاه مشاهده شد (جدول ۱) که نشان‌دهنده اهمیت این آمینواسید حیاتی در کنترل تنش شوری و افزایش اسمز درون‌سلولی دارد. همه مقادیر شوری در تیمارهای همزیست با قارچ، تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد در مقادیر شوری متناظر داشتند. افزایش میزان پرولین در گیاهان همزیست در مقایسه با گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ داشت (جدول ۱).

### مالون‌دی‌آلدئید: در گیاه گوجه‌فرنگی در

سطوح ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر، میزان مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد افزایش یافت؛ اما بین دو سطح شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). همچنین، گیاهان همزیست در تنش شوری، مالون‌دی‌آلدئید کمتری در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی تولید کردند. این تفاوت در هر دو مقدار شوری معنی‌دار بود (جدول ۱).

### نشت الکترولیت‌ها: افزایش بیش از دو برابری

میزان نشت الکترولیت‌ها در تیمارهای ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر نیز نشان‌دهنده تخریب غشاهای سلولی بر اثر تنش اکسیداتیو است (جدول ۱). تلقیح میکوریزی با *Glomus versiforme* در هر دو مقدار تنش کاهش معنی‌دار نشت در مقایسه با شاهد را موجب شده است (جدول ۱).



جدول ۱- مقدار پرولین، مالون‌دی‌آلدهید، نشت الکترولیت‌ها و فعالیت کاتالاز در تنش شوری و تیمار با قارچ میکوریز

تیمار	شوری	شوری ۴	شوری صفر +	شوری ۸	شوری ۴	شوری ۸
متغیر	صفر	قارچ (میکوریز)	قارچ (میکوریز)	قارچ (میکوریز)	(ds/m)	(ds/m)
	(ds/m)					
پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)	۲/۴۴ <sup>a</sup>	۴/۰۲ <sup>b</sup>	۴/۴۱ <sup>b</sup>	۲/۵۴ <sup>a</sup>	۶/۲۹ <sup>c</sup>	۶/۵۷ <sup>c</sup>
مالون‌دی‌آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر)	۱۵۷/۰۰ <sup>a</sup>	۲۰۸/۹۸ <sup>b</sup>	۲۱۶/۳۵ <sup>b</sup>	۱۵۴/۶۴ <sup>a</sup>	۱۹۳/۱۳ <sup>c</sup>	۱۹۷/۵۲ <sup>c</sup>
نشت الکترولیت‌ها (درصد)	۳۰/۶۶ <sup>a</sup>	۶۹/۳۳ <sup>b</sup>	۷۳/۶۶ <sup>b</sup>	۲۸/۰۰ <sup>a</sup>	۴۴/۳۳ <sup>c</sup>	۵۳/۰۰ <sup>d</sup>
فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر دقیقه بر گرم وزن تر)	۱۴/۳۸ <sup>a</sup>	۱۸/۱۲ <sup>b</sup>	۱۹/۶۸ <sup>b</sup>	۱۶/۴۹ <sup>ab</sup>	۲۳/۲۲ <sup>c</sup>	۲۶/۲۸ <sup>c</sup>

مقادیر، میانگین چهار تکرار و حروف متفاوت، بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  بر اساس آزمون دانکن هستند.

### فعالیت آنزیم کاتالاز: شوری افزایش فعالیت

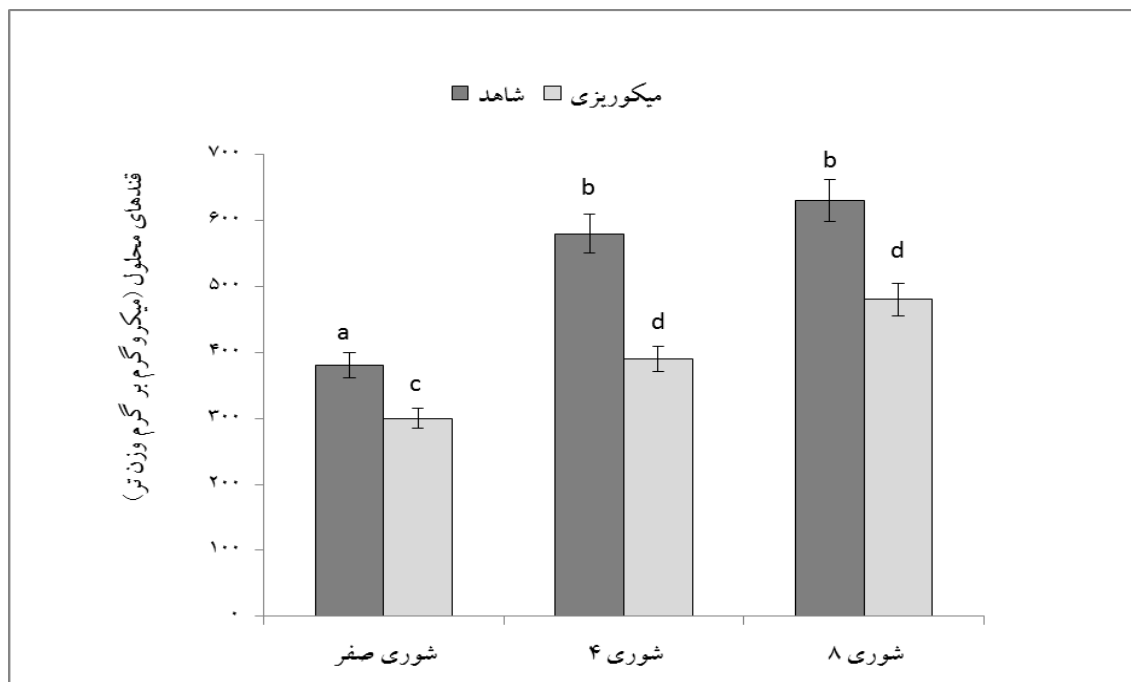
آنزیم کاتالاز را موجب شد. این افزایش در هر دو مقدار ۴ و ۸ دسی‌زیمنس با شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد براساس آزمون دانکن داشت (جدول ۱). بررسی فعالیت این آنزیم در برگ‌های گیاه گوجه‌فرنگی همزیست با قارچ *Glomus versiform* نشان داد همزیستی میکوریزی در همه تیمارها فعالیت کاتالاز را افزایش داده است (جدول ۱).

### قندهای محلول: شوری افزایش معنی‌دار

قندهای محلول در تیمارهای در معرض تنش را موجب شد (شکل ۴). همچنین، محتوای قندهای محلول با حضور قارچ میکوریز افزایش یافت و در همه مقادیر شوری، تفاوت معنی‌داری با شاهد داشت ( $P < 0.05$ ).

### بحث

در رشد گیاهان همزیست افزایش معنی‌داری مشاهده شد که دلیل آن ممکن است افزایش تأمین عناصر غذایی گیاه با توسعه حجم ریشه باشد (Smith and Read, 2008). الگوی توسعه ریشه از عوامل مختلفی از جمله توازن هورمونی گیاه تأثیر می‌پذیرد. قارچ‌های میکوریز با تأثیر بر هورمون‌های گیاه مانند کاهش ABA و افزایش میزان سیتوکینین و اکسین توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه را سبب می‌شوند؛ برای نمونه، تعدادی از پژوهشگران افزایش غلظت اکسین را در گیاهان همزیست با قارچ میکوریز گزارش کرده‌اند (Giri and Kapoor, 2011). از سوی دیگر، ریشه‌های قارچ با ترشح اسیدهای آلی حل‌کننده فسفات‌های نامحلول، جذب فسفر را از گیاه افزایش می‌دهند و افزایش حجم ریشه، مشمول این افزایش عملکرد است (Etukudo et al., 2015).



شکل ۴- آثار متقابل شوری و همزیستی با قارچ میکوریز بر میزان قندهای محلول در گیاه گوجه‌فرنگی: شوری صفر (تیمار شاهد بدون شوری)، شوری ۴ (تیمار شوری ۴ دسی زیمنس بر متر) و شوری ۸ (تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر) - مقادیر، میانگین چهار تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند.

برای تأمین کربن و نیتروژن خود از ریشه‌ها می‌گیرند. همین به کاهش پرولین درون سلولی گیاهان منجر شده است و در نهایت با مهار ژن *ProDH1* افزایش محتوای پرولین را در آنها باعث می‌شود. از سوی دیگر، کنترل بیان ژن *ProDH2* نیز بر اثر تنش شوری گزارش شده است (Chun *et al.*, 2018).

کارکردهای فیزیولوژیک زیادی درباره تجمع پرولین ناشی از تنش شوری پیشنهاد شده است. پرولین، ماده‌ای محلول است که تنظیم فشار اسمزی، حفظ آماس سلولی، کاهش تأثیر کندکنندگی یون‌ها بر فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه حفاظت از سامانه‌های غشایی را سبب می‌شود (Ashraf and Orooj, 2006). گزارش‌هایی مبنی

از سوی دیگر افزایش غلظت پرولین هم در تیمار شوری و هم در گیاهان همزیست به نقش مهم آن در مقابله با تنش شوری نسبت داده می‌شود. پژوهشگران پی‌برده‌اند پرولین‌دهیدروژناز (ProDH)، اورنیتین آمینوترانسفراز (OAT) و  $\Delta^1$  پرولین -۵- کربوکسیلات دهیدروژناز (P5CDH) سه آنزیم کلیدی در متابولیسم پرولین هستند. تنش‌ها کاهش فعالیت آنزیم اول و افزایش آنزیم‌های دوم و سوم را سبب شده‌اند و در نتیجه محتوای پرولین افزایش می‌یابد (Monteoliva *et al.*, 2014). در *Arabidpsos thaliana* دو ژن پرولین دهیدروژناز شناخته شده‌اند. بیان ژن *ProDH1* متأثر از تنش خشکی و کاهش پرولین درون سلولی است. قارچ‌های میکوریز پرولین را

مقدار مالون‌دی‌آلدهید افزوده می‌شود. Abdel Latef و Chaoxing در سال ۲۰۱۱، با اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید در گیاه گوجه‌فرنگی همزیست و شاهد بیان کردند قارچ‌های میکوریز کاهش مالون‌دی‌آلدهید را در مقادیر یکسان آبیاری و شرایط تنش شوری، نوعی تنش اکسیداتیو، موجب می‌شوند. شوری به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با توانایی نامحدود در اکسیداسیون اجزای سلولی مختلف منجر می‌شود که ممکن است به تخریب اکسیداتیو سلول‌ها منجر شوند. همچنین، نتایج به‌دست‌آمده از بررسی Khara و Rahmaty (۲۰۱۱) بیان‌کننده کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان ذرت میکوریزی در معرض تنش کروم بوده است. آنها بیان کردند میکوریز، تنش اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش داده است و میزان آسیب عوامل تنش‌زا در گیاهان میکوریزی نسبت به سایر گیاهان کمتر بوده است. در نتیجه، میزان مالون‌دی‌آلدهید در این گیاهان کاهش می‌یابد. افزون بر این، Enteshari و همکاران (۲۰۱۲) نیز در گیاهان ریحان میکوریزی در معرض تنش شوری پی برده‌اند در این گیاهان محتوای مالون‌دی‌آلدهید نسبت به سایر گیاهان کمتر است. افزایش ROS در تنش علامت تهدید برای سلول است؛ اما در عین حال ممکن است سیگنالی برای فعال کردن سازوکارهای دفاعی باشد (Al-Hassan *et al.*, 2015). آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز آنزیم مهمی است که در شرایط تنش اکسیداتیو فعال می‌شود. این آنزیم هیدروژن پراکسید را هضم و حذف می‌کند. در پژوهش حاضر، بیشترین فعالیت آنزیمی کاتالاز در گیاه

بر وجود همبستگی مثبت بین انباشت پرولین و سازش به تنش‌های محیطی در گیاهان وجود دارند (Al-Hassan *et al.*, 2015).

علاوه بر این، Rabiei و Ehsanpour (۲۰۱۵) گزارش کردند در گوجه‌فرنگی میزان پرولین با افزایش غلظت سدیم کلرید به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت؛ به طوری که میزان آن در غلظت صفر و ۶۰ میلی‌مولار نمک تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر نداشت؛ اما با افزایش غلظت نمک تا ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار در محیط‌کشت، میزان پرولین نیز افزایش معنی‌دار یافت. این افزایش میزان پرولین ممکن است به دلیل تأثیر فزاینده قارچ‌های میکوریز در افزایش فشار اسمزی سلول‌های گیاه باشد. در پژوهشی مشابه بر ارقام متفاوت گوجه‌فرنگی ملاحظه شد تنش شوری میزان پرولین را در گیاه افزایش داده است (Syed Ghias *et al.*, 2011). غلظت پرولین در پاسخ به تنش در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار متفاوت بود؛ به طوری که در برخی بررسی‌ها افزایش و در بررسی‌های دیگر کاهش آن گزارش شد. غلظت کم پرولین در این گیاهان کاهش صدمات ناشی از تنش شوری را در نتیجه اجتناب بهتر این گیاهان از شوری نشان می‌دهد (Auge *et al.*, 2007).

مالون‌دی‌آلدهید شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است که نشان‌دهنده تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان است و بر اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد می‌شود. بسیاری از گیاهان وقتی در محیط شور قرار می‌گیرند آسیب‌های جدی به غشای آنها وارد می‌شود و بر

فتوستت را در این گیاهان پیشنهاد کردند که به مقاومت بیشتر گیاهان در شرایط تنش منجر می‌شود.

### جمع‌بندی

شوری کاهش شاخص‌های رشد را در گیاه گوجه‌فرنگی موجب می‌شود. افزایش نشت الکتروولت‌ها و مالون‌دی‌آلدهید از دیگر آثار مخرب شوری هستند. قارچ‌های میکوریز یکی از مهم‌ترین عوامل حیاتی در کشاورزی به شمار می‌روند که با توجه به آثار مفید یادشده در پژوهش حاضر، با افزایش و توسعه ریشه گیاه گوجه‌فرنگی و همچنین تأثیر بر سازوکارهای تنظیمی و عوامل کاهنده آثار تنش در کاهش آثار منفی تنش شوری نقش بسزایی دارند. با توجه به اهمیت کشاورزی ارگانیک در دنیای امروز، لازم است به بررسی‌های بیشتر در این زمینه توجه ویژه‌ای شود.

### سپاسگزاری

در اینجا نگارندگان از مسئولان و کارکنان پردیس دانشگاهی دانشگاه ارومیه بابت بررسی و تصویب مفاد طرح سپاسگزاری می‌کنند.

### منابع

- Abdel Latef, A. A. H. and Chaoping, H. (2011) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae* 127(3): 228-233.
- Abdel Latef, A. A. H., Hashem, A., Rasool, S. and Abd Allah, E. F. (2016) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and abiotic stresses in plants: a review. *Journal of Plant Biology* 59(5): 407-462.

گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با میکوریز بود. همزیستی با قارچ‌های میکوریز با کاهش آبسزیک اسید که یکی از مؤلفه‌های افزایش‌یافته بر اثر سیگنالینگ ROS است (Ashraf and Orooj, 2006)، برای افزایش فعالیت کاتالاز عمل می‌کند. بررسی‌های زیادی درباره تأثیر همزیستی میکوریزی بر فعالیت آنزیم‌ها در گیاهان مختلف انجام شده‌اند؛ برای نمونه، در پژوهش و در سال ۲۰۱۱ افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در گوجه‌فرنگی در شرایط تنش با فعالیت قارچ‌های میکوریز و کاهش آثار تنش گزارش شد. همچنین، Kafi و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند تنش شوری افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و به دنبال آن کاهش شاخص پایداری غشای سلول را در گیاهان مختلف باعث می‌شود. رابطه همزیستی قارچ‌های میکوریز نشان داد این قارچ‌ها به دنبال آثار مثبت یادشده کاهش تخریب غشاهای سلول‌های گیاهی را باعث می‌شوند و میزان نشت یونی در گیاهان در معرض تنش و دارای قارچ همزیست در مقایسه با گیاهان بدون همزیستی کاهش چشمگیری یافته است (Valentovic *et al.*, 2006).

پژوهشگران، همبستگی زیادی بین تجمع قندهای محلول و میزان تحمل به تنش را در گیاهان مختلف گزارش کرده‌اند (Sadeghi and Shekafandeh, 2014; Amirjani, 2011). ریاد قندهای محلول در گیاهان همزیست ممکن است به دلیل تنظیم اسمزی مؤثر و مقاومت به شوری باشد. Subramanian و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی مشابه بر گوجه‌فرنگی با مشاهده غلظت زیاد قندهای محلول در برگ‌های گیاهان میکوریزی گوجه‌فرنگی نسبت به گیاهان شاهد، ظرفیت زیاد

- Al-Hassan, M., Martinez Fuertes, M., Ramos Sanchez, F. J., Vicente, O. and Boscaiu, A. (2015) Effect of salt and water stress on plant growth and on accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in cherry tomato. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici* 43(1): 1-11.
- Amirjani, M. R. (2011) Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany* 7(1): 73-81.
- Ashraf, M. and Orooj, A. (2006) Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi sprague* L.). *Journal of Arid Environments* 64: 209-220.
- Auge, R. M., Toler, H. D., Moore, J. L., Cho, K. and Saxton, A. M. (2007) Comparing contributions of soil versus root colonization to variations in stomatal behavior and soil drying in mycorrhizal *Sorghum bicolor* and *Cucurbita pepo*. *Journal of Plant Physiology* 164: 1289-1299.
- Bates, L. S., Walden, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Beltrano, J., Ruscilli, M., Arango, M. C. and Ronco, M. (2013) Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and P levels. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(1): 123-141.
- Chun, S. C., Paramasivan, M. and Chandrasekaran, M. (2018) Proline accumulation influenced by osmotic stress in arbuscular mycorrhizal symbiotic plants. *Frontiers in Microbiology* 9: 2525, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02525>.
- Colla, G., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Tullio, M., Rivera, G. M. and Rea, E. (2008) Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology and Fertility of Soils* 44: 501-509.
- Enteshari, S., Hajbagheri, S. and Razavizadeh, R. (2012) Role of mycorrhizal fungi and salicylic acid in salinity tolerance of *Ocimum basilicum* resistance to salinity. *African Journal of Biotechnology* 11(9): 2223-2235.
- Etukudo, O. O., Babatola, L. A., Ojo, O. D. and Fagbola, O. (2015) Effects of mycorrhiza, organo-mineral and NPK fertilizer on the performance of sweet corn. *Journal of Horticulture and Forestry* 7(4): 99-103.
- Fales, F. (1951) The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. *Journal of Biological Chemistry* 193: 113-124.
- Giri, B. and Kapoor, R. (2011) Contribution of *Glomus intraradices* inoculation to nutrient acquisition and mitigation of ionic imbalance in NaCl-stressed *Trigonella foenum-graecum*. *Mycorrhiza* 22(3): 213-217.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolate chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics* 125: 850-857.
- Kafi, M., Borzuyi, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabati, C. (2015) Physiology of environmental stresses in plants. Mashhad University Press, Mashhad (in Persian).
- Kaya, C., Ashraf, M., Sonmez, O., Aydemir, S., Tuna, A. L. and Cullu, M. A. (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): 1-6.
- Khalvandi, M., Amerian, M., Pirdashti, H., Baradaran, M. and Gholami, A. (2017)

- Effects of *Piriformospora indica* fungi symbiotic on the quantity of essential oil and some physiological parameters of peppermint in saline conditions. Iranian Journal of Plant Biology 32: 1-20 (in Persian).
- Malusá, E., Sas-Paszt, L. and Ciesielska, J. (2012) Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. The Scientific World Journal, Article ID 491206.
- Mao, L., Pang, H., Wang, G. and Zhu, C. (2007) Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress. Postharvest Biology and Technology 44: 42-47.
- Monteoliva, M. I., Rizzi, Y. S., Cecchini, N. M., Hajirezaei, M. R. and Alvarez, M. E. (2014) Context of action of proline dehydrogenase (ProDH) in the hypersensitive response of *Arabidopsis*. BMC Plant Biology 13: 14-21.
- Oruru, M. B. and Njeru, E. M. (2016) Upscaling arbuscular mycorrhizal symbiosis and related agroecosystems services in smallholder farming systems. BioMed Research International 2016: 4376240.
- Rabie, G. H. and Almadani, A. M. (2005) Role of bioinoculants in development of salt tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. African Journal of Biotechnology 4: 210-222.
- Rahmaty, R. and Khara, J. (2011) Effects of vesicular arbuscular mycorrhiza *Glomus intraradices* on photosynthetic pigments, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and chromium accumulation in maize plants treated with chromium. Turkish Journal of Biology 35: 51-58.
- Rabiei, F. and Ehsanpour, A. A. (2015) Effect of salt stress on protein pattern and some physiological parameters of *Lycopersicon peruvianum* under *in vitro* culture. Iranian Journal of Plant Biology 23(7): 15-28 (in Persian).
- Sadeghi, F. and Shekafandeh, A. (2014) Effect of 24-epibrassinolide on salinity induced changes in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl). Journal of Applied Botany 87: 182-189.
- Smith, S. E. and Read, D. J. (2008) Mycorrhizal symbioses. 3<sup>rd</sup> edition, Academic Press, London.
- Subramanian, K. S., Santhanakrishnan, P. and Balasubramanian, P. (2006) Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. Scientia Horticulturae 107: 245- 253.
- Syed Ghias, A., Rab, R., Khan, U. and Nawab, Kh. (2011) Enhanced proline synthesis may determine resistance to salt stress in tomato cultivars. Pakistan Journal of Botany 43(6): 2707-2710.
- Talebzadeh, Z., Mehdizadeh, H., Ejtehadi, H. and Abrishamchi, P. (2009) Determination of two tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivars tolerance threshold to salinity. Plant Ecophysiology 1(1): 64-76 (in Persian).
- Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L. and Gasparikova, O. (2006) Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize cultivars. Plant, Soil and Environment 52(4): 186-191.
- Zhang, H., Yao, H. Y., Chen, F. and Wang, X., (2007) Purification and characterization of glutamate decarboxylase from rice germ. Food Chemistry 101(4): 1670-1676.

