



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵

صفحه‌های ۲۱-۳۰

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در واکنش به تلقیح میکوریزایی در گندم تحت تنش شوری

امید یونسی^۱، علی مرادی^{۲*}

۱. دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
۲. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۳/۲۵

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۱۰/۲۲

چکیده

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی نقش قارچ میکوریزایی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گندم تحت تنش شوری، در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، در سال ۱۳۹۰ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی عبارت از سه سطح تنش شوری شامل شاهد (بدون تنش)، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم و دو سطح تلقیح میکوریزایی (تلقیح و عدم تلقیح قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae*) بود. صفات مورد ارزیابی شامل طول ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، درصد کلونیزاسیون ریشه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسمیوتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز بود. نتایج حاصل نشان‌دهنده اثرات بازدارنده تنش شوری بر رشد گیاه گندم بود، به نحوی که با افزایش شدت تنش شوری طول و وزن خشک اندام هوایی و ریشه به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. به‌کارگیری تیمار میکوریزایی موجب بهبود رشد اندام هوایی و ریشه بوته‌های گندم در شرایط تنش گردید. همچنین، تنش شوری موجب کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد ارزیابی گردید. اعمال تیمار میکوریزایی نقش مؤثری در ارتقاء رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گندم به ویژه در شرایط تنش شوری داشت. هرچند اثر متقابل شوری و میکوریزا برای آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسمیوتاز در ریشه و برای آنزیم گایاکول پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه معنی‌دار نبود.

کلیدواژه‌ها: پراکسیداز، سوپراکسید دسیمیوتاز، شوری، قارچ، کاتالاز، گندم

۱. مقدمه

یکی از جدی‌ترین مشکلات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک مسئله شوری و تجمع املاح در سطح خاک می‌باشد [۲]. افزایش غلظت یون‌های نمک از جمله کلر، کلسیم، سدیم و سولفات در محلول خاک اثرات زیادی را به دنبال دارد. کمبود آب (تنش خشکی) از جمله عوارض شوری است که موجب کاهش رشد، کمبود مواد معدنی و پژمردگی گیاه می‌گردد [۱]. سمیت یونی ناشی از جذب بیش از حد سدیم و کلر نیز از دیگر عوارض شوری است که اثرات منفی بر عملکرد غشا و کارایی فعالیت آنزیم‌ها داشته و در نتیجه بازدارندگی رشد را به همراه دارد [۱].

شوری نظیر دیگر تنش‌های محیطی می‌تواند سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه شده و نوعی تنش اکسیداسیونی را به دنبال داشته باشد [۶] که سبب آسیب رساندن به ساختارهای غشایی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل می‌شود [۱۰]. گیاهان از نظر توانایی مقاومت در برابر این اختلالات متابولیکی با درجات مختلفی به تنش‌ها پاسخ می‌دهند. سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان که آنزیم‌های نظیر کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و مولکول‌های غیرآنزیمی نظیر کاروتنوئیدها را شامل می‌شوند، بخشی از توانایی گیاهان در تحمل تنش شوری به شمار می‌آیند [۱۲]. گیاهانی که سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری دارند، بهتر می‌توانند در برابر تنش‌های محیطی نظیر شوری مقاومت کنند [۲۲].

قارچ‌های میکوریزا یکی از مهمترین میکروارگانیسم‌های محیط ریشه محسوب می‌شوند که از طریق ایجاد همزیستی با ریشه گیاهان نقش کلیدی در پایداری ریزوسفر ایفا می‌کنند و همزیستی یک گیاه با قارچ‌های میکوریزا باعث می‌شود که گیاه بتواند مواد غذایی کم تحرک را در خاک‌های فقیر جذب کند [۱۱] و [۱۶]. این قارچ‌ها جزء مهمی از اکوسیستم‌های طبیعی

هستند و در محیط‌های شور هم شناسایی شده‌اند. هر چند شوری ممکن است تشکیل و عملکرد همزیستی‌های میکوریزایی را تحت تأثیر قرار دهد ولی مطالعات انجام شده نشان داد که آغشتگی ریشه گیاهان با قارچ‌های میکوریزا رشد گیاهان تحت تنش شوری را بهبود می‌بخشد. عملکرد و وزن خشک اندام هوایی گوجه‌فرنگی میکوریزایی نسبت به غیرمیکوریزایی که تحت شرایط تنش شوری قرار داشتند، افزایش یافت [۱ و ۲۹]. همچنین، در گیاهان میکوریزایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی تقویت شده و موجب حذف گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در شرایط تنش می‌شوند و لذا گیاه را از اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند [۱۳]. هدف از انجام پژوهش حاضر، ارزیابی کارایی قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae* در کاهش اثرات منفی تنش شوری بر رشد گیاه گندم و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش بود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی نقش قارچ میکوریزایی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گندم تحت تنش شوری به صورت آزمون گلخانه‌ای، در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، در ۱۳۹۰ اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی عبارت از سه سطح تنش شوری شامل شاهد (بدون تنش)، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم و دو سطح تلقیح (تلقیح و عدم تلقیح میکوریزایی) بود. قارچ میکوریزایی مورد استفاده در این آزمایش *Glomus mosseae* بود. تیمار شوری از طریق آب آبیاری اعمال گردید.

بذر مورد نیاز برای اجرای آزمایش (تولید سال ۱۳۸۸) از مؤسسه تحقیقات اصلاح تهیه نهال و بذر واقع در شهر

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در واکنش به تلقیح میکوریزایی در گندم تحت تنش شوری

۱۸۷۵ گرم کشت گردید. خاک مورد استفاده برای اجرای طرح از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در شهر کرج تهیه گردید. شوری خاک مذکور برابر ۱/۲۶ دسی‌زیمنس بر متر، بافت خاک متوسط تا سبک (لومی - شنی) و میزان فسفر و پتاسیم خاک به ترتیب برابر ۹ و ۲۸۰ پی‌پی‌ام بود (جدول ۱). پیش از اجرای آزمایش، خاک مورد استفاده برای پر کردن گلدان‌ها استریل گردید.

کرج تهیه گردید و پیش از اجرای طرح، یک پیش آزمایش جهت تعیین قوه نامیه انجام شده و قوه نامیه ۱۰۰ درصد مشاهده گردید. قارچ میکوریزایی لازم جهت اجرای تحقیق از مؤسسه تحقیقاتی اسدآباد واقع در منطقه اسدآباد همدان تأمین گردید.

برای اجرای تیمار تلقیح ۴۰ گرم خاک حاوی اسپور قارچ به گلدان‌های حاوی تیمار میکوریزا اضافه گردید. تعداد پنج بذر گندم پس از ضدعفونی در گلدان‌های سفالی با قطر دهانه ۲۸ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر با وزن تقریبی

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

بافت	قدرت نگهداری	شوری	pH	کربن	ازت	فسفر قابل	پتاسیم قابل
نمونه خاک	آب	(ds/m)		آلی	کل	جذب	جذب
مزرعه	(%)					(ppm)	(ppm)
لومی شنی	۳۱	۱/۲۶	۷/۳	۱/۱۱	۰/۱۶	۹	۲۸۰

ریشه‌های تازه‌ها چندین بار در زیر آب جاری شستشو داده شد. در مرحله بعد، برای بی‌رنگ کردن و نرم شدن بافت‌ها، ابتدا آنها را در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه قرار گرفت. ریشه‌ها برای بی‌رنگ شدن کامل بافت‌ها به محلول حاوی آب اکسیژنه انتقال داده شده و به مدت دو ساعت در این محلول نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها با آب مقطر شسته شد تا اثر آب اکسیژنه از بین برود. در مرحله بعد، نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه در محلول اسید کلریدریک یک درصد قرار داده شد تا آماده رنگ‌پذیری شوند. سپس ریشه‌ها مستقیماً از محلول اسیدی به محلول رنگی ترین-بلو یک درصد منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در این محلول نگهداری شد.

تعیین درصد کلونیزاسیون براساس روش بیرمن و

پس از استقرار کامل، بوته‌ها تنک شده و سه بوته در هر گلدان حفظ شد. با رسیدن رطوبت خاک به ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، آبیاری گیاهان مطابق به تیمارهای شوری به صورت دستی صورت گرفت. گیاهان در گلخانه زیر نور طبیعی با میانگین دمای گلخانه در روز حدود ۲۵ و در شب در حدود ۱۷ درجه سانتی‌گراد رشد کردند. گیاهان رشد کرده در پایان مرحله رویشی به طور کامل از خاک خارج شدند و طول ریشه و اندام هوایی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک ریشه و اندام هوایی، اندام‌های مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت در آون و در ۷۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک و سپس وزن خشک آنها تعیین گردید.

برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه از روش فیلیپس و هایمن استفاده شد [۲۳]. براساس این روش، ابتدا

لیندرمن انجام گرفت [۳]. براساس این روش ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شدند. هر قطعه ریشه بر روی لام و در داخل محلول لاکتوفنل در زیر میکروسکوپ ارزیابی شد. میزان کلونیزاسیون با برآورد تعداد قطعات آلوده به ساختمان قارچی محاسبه شد.

برای استخراج پروتئین از بافر تریس گلیسین با اسیدیته ۸/۳ استفاده شد. نمونه‌های گیاهی پس از برداشت در دمای صفر درجه سانتی‌گراد با بافر هموژن شد و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در ۲۰۰۰۰ دور دقیقه سانتریفوژ گردید.

برای اندازه‌گیری پروتئین نمونه‌ها از روش بردفورد استفاده شد [۴]. ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی با ۵ میلی‌لیتر معرف بردفورد مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه باقی ماند و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و بر اساس منحنی استاندارد رسم شده غلظت پروتئین محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش کک مک و هورست انجام شد [۴]. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، ۰/۵ گرم از بافت تازه از اندام هوایی و ریشه به صورت جداگانه در نیتروژن مایع ساییده شد و در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ عصاره‌گیری شد. مخلوط همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شده و سپس محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. با اضافه نمودن آب اکسیژنه با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه پی‌گیری شده و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد.

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز به روش

گیانوپولیتیس و راس انجام شد [۶]. برای بررسی فعالیت آنزیمی ۰/۵ گرم از بافت تازه از اندام هوایی و ریشه به صورت جداگانه در نیتروژن مایع ساییده شد و در ۳ میلی‌لیتر بافر HEPES-KOH با اسیدیته ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار عصاره‌گیری شد. همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و محلول روئی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل HEPES-KOH ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات با اسیدیته ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۱۰/۲، ال-ریبوفلاوین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. مواد فوق جهت جلوگیری از نفوذ نور و آغاز واکنش در لوله‌های آزمایش پوشش‌دار مخلوط شد. سپس واکنش با اضافه نمودن عصاره آنزیمی آغاز گردید. در این حالت، پوشش روی لوله‌ها برداشته شد و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور لامپ فلورسنت ۱۵ وات قرار داده شدند و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. همچنین، از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جزء عصاره آنزیمی به عنوان شاهد استفاده گردید. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد. سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز به روش قناتی و همکاران انجام شد [۶]. برای بررسی فعالیت گایاکول پراکسیداز ۰/۵ گرم از بافت تازه از اندام هوایی و ریشه به صورت جداگانه در نیتروژن مایع ساییده شد و در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۲ مولار و اسیدیته ۶/۸ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. سپس مخلوط همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۲-۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و محلول روئی جهت اندازه‌گیری گایاکول پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در واکنش به تلقیح میکوریزایی در گندم تحت تنش شوری

فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی به مخلوط بافر، گایاکول با غلظت ۲۸ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت ۵ میلی‌مولار که در کوت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته شده بود، آغاز گردید و به مدت یک دقیقه تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۰) انجام گردید. قبل از تجزیه واریانس داده‌ها فرض نرمال بودن آنها بررسی شد. برای نرمال بودن داده‌ها از نرم‌افزار MINTAB استفاده گردید. مقایسه میانگین هر صفت به کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، تفاوت معنی‌دار

سطوح تنش شوری و تیمار میکوریزایی را به لحاظ طول ریشه و اندام هوایی نشان داد (جدول ۲). مقایسه سطوح تنش با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری از طول ریشه و اندام هوایی به میزان قابل توجهی کاسته شد (جدول ۳). به نحوی که طول ریشه و اندام هوایی در تیمار شوری ۱۲۰ میلی مولار به ترتیب ۱۹/۱۲ و ۲۷/۲ درصد نسبت به شاهد (بدون شوری) کاهش یافت. به نظر می‌رسد تنش شوری از طریق صدمات اسمزی، تنش خشکی فیزیولوژیک یا صدمه به جذب املاح، باعث کاهش ارتفاع گیاهان می‌شود [۲۰ و ۳۰]. اعمال تیمار میکوریزایی موجب افزایش طول ریشه و اندام هوایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی گردید (جدول ۲). به نحوی که به ترتیب افزایش ۱۶/۴۸ و ۲۴/۵۲ طول اندام هوایی و طول ریشه گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان تلقیح نشده مشاهده گردید. در تأیید نتایج این آزمایش افزایش ارتفاع گیاهان میکوریزایی گزارش شده است [۲۹].

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر شوری و تلقیح میکوریزایی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گندم

صفات مورد ارزیابی	تکرار	شوری	تلقیح میکوریزایی	شوری × تلقیح میکوریزایی	خطای آزمایشی	ضریب تغییرات (%)
درجه آزادی	۲	۲	۱	۲	۴	
طول ریشه	۲۵/۹۶۱ ^{ns}	۲۹/۳۲۱**	۲۲/۷۵۹**	۰/۳۷۵*	۰/۸۷	۵/۲۷
طول اندام هوایی	۱۲/۰۲۱ ^{ns}	۳/۲۵۳**	۲۸/۲۱۶**	۰/۴۵۳*	۰/۱۴	۱۲/۵۷
وزن خشک ریشه	۴۳/۱۲۴*	۰/۶۲۷**	۲/۳۱۵**	۰/۰۶۵ ^{ns}	۰/۰۶۳	۴/۴۸
وزن خشک اندام هوایی	۸/۰۲۲ ^{ns}	۶/۳۶۱**	۱/۷۳۲**	۰/۰۸۳ ^{ns}	۰/۴۳	۳/۵۶
فعالیت کاتالاز اندام هوایی	۴/۳۴**	۱۶/۱۷۲**	۵/۹۳۴**	۰/۱۷۲**	۱/۲۴	۱۵/۶۵
فعالیت کاتالاز ریشه	۱/۶۲۳**	۵/۲۱۸**	۳/۷۱۶**	۰/۱۳۳ ^{ns}	۱/۰۶	۷/۶۳
فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز اندام هوایی	۸/۴۲۳*	۱۳/۲۸۱**	۴۲/۵۱۷**	۱/۴۸۳*	۰/۶۶	۴/۶۶
فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز ریشه	۷/۶۱۱ ^{ns}	۷/۱۱۲**	۳/۳۲۷**	۰/۲۵۳ ^{ns}	۱/۰۵	۱۲/۵۲
فعالیت گایاکول پراکسیداز اندام هوایی	۲۸/۴۲۳*	۰/۲۱۷**	۸/۹۶۳**	۱/۷۴۱ ^{ns}	۱/۴۳	۸/۷۲
فعالیت گایاکول پراکسیداز ریشه	۱۵/۱۹۵*	۳/۸۵۲**	۸/۸۴۴*	۰/۶۳۲ ^{ns}	۱/۶۱	۴/۴۷

* و ** - به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns - غیرمعنی‌دار

به زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵

جدول ۳. اثر تنش شوری بر طول ریشه و اندام هوایی وزن خشک ریشه و اندام هوایی و درصد کلونی‌زاسیون ریشه در گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی گندم

تیمار	طول اندام هوایی (cm)	طول ریشه (cm)	وزن تر اندام هوایی (gr)	وزن تر ریشه (gr)	درصد کلونی‌زاسیون
بدون میکوریزا	۴۶/۴ ^b	۲۲/۳ ^a	۱/۳ ^b	۰/۱۶ ^b	—
با میکوریزا	۵۳/۲ ^a	۲۵/۸ ^a	۱/۸ ^a	۰/۲۴ ^a	۳۷/۵ ^a
بدون میکوریزا	۴۱/۴ ^c	۱۹/۶ ^{ab}	۰/۹ ^{cd}	۰/۱۱ ^c	—
با میکوریزا	۴۷/۸ ^b	۲۴/۳ ^a	۱/۳ ^b	۰/۲۰ ^a	۲۳/۳ ^b
بدون میکوریزا	۳۲/۹ ^d	۱۶/۴ ^b	۰/۷ ^d	۰/۰۸ ^d	—
با میکوریزا	۳۹/۶ ^c	۲۲/۵ ^a	۱/۰ ^c	۰/۱۴ ^c	۱۶/۸ ^c

برای هر صفت، حروف غیرمشابه نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشد.

اثرات متقابل شوری و تیمار میکوریزایی در سطح احتمال ۵ درصد بر طول ریشه و اندام هوایی معنی‌دار بود (جدول ۲). براساس نتایج به‌دست آمده، گیاهان میکوریزایی در شرایط تنش از طول ریشه و اندام هوایی بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده برخوردار بودند. افزایش مستقیم رشد معمولاً مستلزم تولید یک ترکیب خاص و مؤثر بر رشد گیاه و یا تسهیل در جذب آب و عناصر غذایی مورد نیاز می‌باشد [۹]. قارچ‌های میکوریزی در شرایط شور با نفوذ ریشه‌های خود به ریشه‌های گیاه و محیط خاک اطراف ریشه موجب بهبود جذب آب و روابط آبی گیاه و تغذیه معدنی می‌گردند و در نتیجه سرعت رشد گیاه افزایش می‌یابد [۱].

شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه و اندام هوایی گردید (جدول ۱) و تحت تأثیر تنش، کاهش چشم‌گیری را نشان داد (جدول ۲). شوری از طریق کاهش پتانسیل اسمزی خاک، جذب آب توسط گیاه را با مشکل مواجه می‌سازد. علاوه بر این، شوری بر تجمع ماده خشک در گیاه نیز تأثیر منفی می‌گذارد [۲۶]. به نظر می‌رسد کاهش وزن خشک بافت‌های گیاهی به دلیل افزایش هزینه

متابولیک و کاهش استفاده از کربن توسط گیاه برای تطابق با شوری باشد [۲۰].

به‌کارگیری قارچ میکوریزا منجر به بهبود وزن خشک اندام هوایی و ریشه نسبت به شاهد (عدم تلقیح) گردید (جدول ۳). طی بررسی دو واریته گوجه‌فرنگی در شرایط تنش شوری و در حضور قارچ میکوریزا مشخص شد که وزن خشک قسمت هوایی گیاهان تحت شرایط تنش شوری در هر دو واریته در گیاهان میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزی بود [۲]. افزایش وزن خشک لویا در محیط شور در حضور میکوریزا گزارش شده است [۲۸]. همچنین، افزایش وزن خشک ریشه ذرت در حضور میکوریزا مشاهده شده است [۱۱]. نتایج تحقیق حاضر و دیگر تحقیقات نشان داد که گیاهان میکوریزایی در وضعیت شور، رشد بهتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده نشان می‌دهند.

گیاهانی که به آنها خاک اسپور دار اضافه نشده بود، آغشتگی میکوریزی نشان ندادند و گیاهانی که به آنها خاک اسپوردار اضافه شده بود در تیمارهای مختلف شوری درصد متفاوتی از آغشتگی را نشان دادند، به نحوی که

افزایش شوری باعث کاهش معنی‌دار درصد آغشتگی گیاهان میکوریزایی گردید (جدول ۲). در خاک‌های دارای نمک توانایی جوانه‌زنی اسپور و رشد هیف‌های میکوریزی کاهش می‌یابد و در نتیجه درصد کلونیزاسیون ریشه کم می‌شود [۱۷ و ۱۹]. کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه در شرایط تنش شوری بیشتر به دلیل اثر مهارکنندگی آن بر رشد ریشه است و کاهش رشد ریشه ناشی از سمیت یونی یا تنش اسمزی حاصل از غلظت بالای یون‌ها در محلول خاک است. در ارتباط با اثر بازدارندگی شوری بر رشد قارچ‌های میکوریزای مختلف و کاهش کلونیزاسیون میکوریزی در گیاهان مختلف گزارش‌های متعددی در دست است که با نتایج حاضر مطابقت دارند [۱۶ و ۲۳].

در تحقیق حاضر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسمیوتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. اثرات متقابل شوری و تیمار میکوریزا تنها بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسمیوتاز و کاتالاز اندام هوایی اثر معنی‌دار بود (جدول ۲). اثرات متقابل شوری و تیمار میکوریزا برای ریشه در هیچ کدام از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد بررسی معنی‌دار نبود. با افزایش درجه شوری، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز و کاتالاز در گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت. بالاترین فعالیت این آنزیم‌ها در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. میزان این افزایش در گیاهان میکوریزایی بیش از گیاهان غیرمیکوریزایی بود (جدول ۳).

کاتالاز اصلی‌ترین آنزیم از بین برنده پراکسید هیدروژن و از مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان محسوب می‌شود و تنش شوری در بسیاری از گیاهان موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردیده است که این نتیجه در تحقیق حاضر در ارتباط با فعالیت کاتالاز اندام هوایی مشاهده گردید [۱۲]. بالا بودن فعالیت کاتالاز اندام هوایی

در مقایسه با ریشه شاید بر اثر کاهش فتوسنتز گیاه و تجمع میزان بیشتر پراکسید هیدروژن در مقایسه با ریشه باشد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش می‌تواند به عنوان شاخصی برای افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نظر گرفته شود. هرچند در پاره‌ای موارد، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش گزارش شده است [۲۶].

تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندام هوایی گردید (جدول ۲). فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندام هوایی در گیاهان میکوریزایی در شرایط شاهد و شوری از گیاهان غیرمیکوریزایی بالاتر بود (جدول ۴). اما این افزایش فعالیت در ریشه در شرایط تنش شوری در گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی مشاهده نگردید.

آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز گیاهی در فعالیت‌های متابولیکی از جمله پاسخ به تنش‌های غیرزیستی دخالت دارند [۱۵]. یکی از نقش‌های پراکسیداز، مشارکت در سیستم دفاعی سلول و سم‌زدایی اکسیژن‌های واکنش‌گر است که موجب حذف آب اکسیژنه تولیدی توسط عوامل تنش‌زا می‌گردد. گایاکول پراکسیداز در مقایسه با کاتالاز میل ترکیبی بیشتری برای حذف پراکسید هیدروژن دارد [۱۴]. بالا بودن میزان فعالیت پراکسیدازی گیاه ممکن است با میزان تحمل تنش‌ها در آنها ارتباط داشته باشد. قارچ‌های میکوریزی این عمل را از طریق افزایش فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر گایاکول پراکسیداز و کاتالاز انجام می‌دهند [۳۲]. مدارکی نیز وجود دارد که بیان می‌نماید افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به دلیل افزایش جذب فسفر است [۱۸]. لذا، همزیستی میکوریزایی می‌تواند به واسطه کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش به محافظت گیاهان در برابر تنش شوری کمک کند.

جدول ۴. اثر تنش شوری روی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسمیوتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی

تیمار	سوپراکسید دیسمیوتاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)		کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)		پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	
	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی
شاهد	بدون مایکوریزا	۲/۴۵ ^d	۳/۸۴ ^d	۰/۴۲ ^d	۰/۹ ^d	۰/۵۹ ^b
	با مایکوریزا	۳/۱۳ ^c	۵/۲۶ ^b	۰/۸۶ ^c	۱/۳۷ ^c	۰/۶۴ ^b
شوری متوسط	بدون مایکوریزا	۳/۲۲ ^c	۴/۶۲ ^c	۰/۸۲ ^c	۱/۴ ^c	۰/۶۱ ^b
	با مایکوریزا	۵/۷۳ ^a	۸/۳ ^a	۱/۴۵ ^b	۱/۹۳ ^b	۰/۷۳ ^a
شوری شدید	بدون مایکوریزا	۴/۸۴ ^b	۵/۷۲ ^b	۱/۶۷ ^b	۲/۱۲ ^b	۰/۶۵ ^b
	با مایکوریزا	۶/۶۶ ^a	۸/۴۳ ^a	۲/۲۳ ^a	۲/۴۸ ^a	۰/۷۵ ^a

برای هر صفت، حروف غیرمشابه نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می باشد.

Proposed method towards standardization. New Phytologist. 87: 63-67.

- Bradford M (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities in utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 254-284.
- Cakmak I and Horst W (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). Plant Physiology. 83: 463-468.
- Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, Van Montagu M, Inze D and Van Breusegem F (2000) Dual action of the active oxygen species during plant Stress Responses. Cellular and Molecular Life Sciences. 57: 779-795.
- Ghanati F, Morita A and Yokota H (2002) Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. Plant Nutrition. 48: 357-364.

براساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر، تنش شوری موجب کاهش معنی دار کلیه صفات مورد ارزیابی گردید. نتایج به دست آمده نشان دهنده نقش مؤثر تیمار میکوریزایی در ارتقای رشد و فعالیت آنتی اکسیدانی گندم در شرایط تنش شوری بود. همزیستی گیاه گندم با قارچ میکوریزا از شدت اثرات منفی تنش شوری کاست، هرچند با اعمال تنش شوری از میزان کلونیزاسیون ریشه ها کاسته شد.

منابع

- Al-Karaki G (2000) Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza. 10: 51-54.
- Al-Karaki G and Hammad NR (2001) Mycorrhizal influence on fruit yield and mineral content of tomato grown under salt stress. Plant Nutrition. 24(8): 1311-1323
- Bierman B and Linderman R (1981) Quantifying vesicular arbuscular mycorrhizae:

8. Giannopolitis C and Ries S (1977) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plant. *Plant Physiology*. 59: 309-314.
9. Glick BR (1995) The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 41: 109-117.
10. Gossett DR, Millhollon EP and Lucas MC (1994) Anti oxidant response to NaCl stress in Salt-tolerant and Salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Science*. 34: 706-714.
11. Gupta N and Rutaray S (2005) Growth and development of AM fungi and maize under salt and acid stress. *Acta Agricultural Scandinavia, Section B, Soil and Plant Science*. 55: 151-157.
12. Halliwell B and Gutteridge JM (1989) Protection against oxidants in biological systems: The superoxide theory of oxygen toxicity, free radicals in biology and medicine, Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C, Eds., Oxford: Clarendon. Pp. 86-123.
13. Harinasut P, Poonsopa D, Roengmongkol K and Charonsataprom R (2003) Salinity effects on antioxidant enzymes in Mulberry cultivar. *Science Asia*. 29: 109-113.
14. Jahromi F, Aroca R, Porcel R and Ruiz-Lozano JM (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.
15. Jimenez A, Hernandez JA, Del Rio LA and Sevilla F (1997) Evidence for the presence of the ascorbateglutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant Physiology*. 114: 275-284.
16. Jindal V, Atwal A, Sekhon BS and Singh R (1993) Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae on metabolism of moong plants under NaCl salinity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 31: 475-481.
17. Juniper S and Abbott L (1993) Vesicular arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza*. 4: 45-5.
18. Mathur N and Vyas A (1996) Biochemical changes in *Ziziphus xylopyrus* by VA mycorrhizae. *Botanical Bulletin of Academia*. 37: 209-212.
19. McMillen BG, Juniper S and Abbott LK (1998) Inhibition of hyphal growth of a Vesicular arbuscular mycorrhizal fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. *Soil Biology and Biochemistry*. 30: 1639-1646.
20. Netondo GF, Onyango JC and Beck E (2004) Crop physiology and metabolism. Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relation and ion accumulation to NaCl salinity. *Crop Society of America*. 44: 797-805.
21. Neumann P (1977) Salinity resistance and plant growth revised. *Plant Cell and Environment*. 20: 1193-1198.
22. Nunez M, Mazzafera P, Mazorra LM, Siquira WJ and Zullo MA (2003) Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. *Plant Biology*. 47: 67-70.
23. Ojala J, Jarrell C, Menge MW and Johnson JA (1983) Influence of mycorrhizal fungi on the mineral nutrition and yield of onion in saline soil. *Agronomy*. 75: 225-259.
24. Phillips J and Hayman D (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55: 158-161.
25. Porcel R, Barea JM and Ruiz-Lozano JM (2003) Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. *New Phytol*. 157: 135-143.

26. Prasad MNV (1997) Plant ecophysiology. John Wiley and Sons. Inc.
27. Rabie GH and Almadini AM (2005) Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. African Biotechnology. 4(3): 210-222.
28. Ruiz-Lozano JM, Collados C, Barea JM and Azcon R (2001) Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-induced nodule senescence in soybean plants. New Phytologist. 151: 493-502.
29. Saleh M and Al-Garni S (2006) Increased heavy metal tolerance of cowpea plant by dual inoculation of an arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixer *Rhizobium* bacterium. African Biotechnology. 5(2): 133-142.
30. Simpson D and Daft MJ (1990) Interactions between water-stress and different mycorrhizal inocula on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. Plant Soil. 121: 179-186.
31. Xiong L, Schumaker KS and Zhu JK (2002) Cell signaling during cold, drought, and salt stress. Plant Cell. 165-183.
32. Younesi O, Moradi A and Namdari A (2013) Influence of arbuscular mycorrhiza on osmotic adjustment compounds and antioxidant enzyme activity in nodules of salt-stressed soybean (*Glycine max*). Acta agriculturae Slovenica, 101-2, September 2013 str. 219-230.