



## تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر بهبود شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تنش شوری

علی اصغر باقری کشتلی<sup>۱\*</sup>، فریبا خسروی نژاد<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

\*E.mail: Bagheri-ali@riau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۱۷

### چکیده

تنش‌های محیطی از جمله شوری، مهمترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک هستند. قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* دارای خاصیت تحریک رشد گیاه و افزایش مقاومت آن به تنش‌های محیطی، از جمله شوری، خشکی و بیماری‌های گیاهی می‌باشد. در این پژوهش توان قارچ اندوفیت *P. indica* در بهبود پارامترهای رشد و افزایش مقاومت به تنش شوری گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) با تکیه بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد مطالعه قرار می‌گیرد. بدین منظور، آزمایش گلخانه ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار و با دو تیمار شامل ۲ سطح قارچ تلقیح شده و تلقیح نشده (شاهد) و ۴ سطح شوری ۱۰۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار نمک (NaCl) انجام گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که قارچ *P. indica* سبب افزایش پارامترهایی رشدی مانند بیومس (زیتوده) اندام‌های هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب، محتوای پروتئین و فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی چون گلوکاتایون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش تولید مالون دی آلدئید (حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی) گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد در تمام سطوح شوری شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که قارچ اندوفیت *P. indica* به لحاظ بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی خطرات ناشی از اثر تنش شوری بر رشد گیاه برنج را تعدیل می‌نماید.

**کلیدواژه‌ها:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، برنج (*Oryza sativa*)، تنش شوری، *Piriformospora indica*

### مقدمه

نمودن رشد و نمو گیاهان می‌شود [۴۳]. بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار برابر با بیش از ۶٪ زمین‌های جهان تحت تأثیر سطوح مختلف شوری هستند. در حدود ۲۰ درصد از اراضی ایران (حدود ۳۴ میلیون هکتار) تحت

شوری موجود در خاک و یا آب یکی از مهمترین تنش‌های غیر زیستی، بخصوص در زمین‌های خشک و نیمه‌خشک می‌باشد که بطور جدی باعث محدود

تاثیر شوری قرار دارد که ۸/۵ میلیون هکتار آن شدیداً تحت تاثیر شوری است [۱۱ و ۱]. بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت محصولات عمده کشاورزی، همانند برنج، گندم و جو در مناطق خشک و نیمه خشک ایران قرار گرفته است و این گیاهان در معرض شرایط نامطلوب محیطی مانند شوری و خشکی قرار دارند. قرار گرفتن گیاهان در معرض شرایط محیطی نامطلوب مانند تنش شوری سبب افزایش تولید انواع فعال اکسیژن از قبیل اکسیژن یکتائی ( $^1O_2$ )، رادیکال سوپر اکسید ( $O_2^{\cdot-}$ )، پر اکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و رادیکال هیدروکسیل ( $OH^{\cdot}$ ) می‌شوند. این انواع فعال اکسیژن ممکن است منجر به آسیب سلولی از طریق اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شده و بنابراین می‌توانند به طور شدیدی متابولیسم و در نهایت رشد و محصول دهی گیاهان را تحت تاثیر قرار دهند. پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان شاخصی از تنش اکسایشی (اکسیداتیو) در گیاه در معرض شوری استفاده می‌شود [۹ و ۲۸ و ۳۰ و ۳۲]. برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القاشده از شوری، گیاهان از یک سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده استفاده می‌کنند که شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مثل کاروتنوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR)، کاتالاز (CAT) و غیره می‌باشند. تحقیقات نشان می‌دهد گیاهانی که توانایی سیستم آنتی‌اکسیدان بالاتری نسبت به گیاهان دیگر دارند بهتر می‌توانند در محیط‌های شور زندگی کنند. علاوه بر سیستم‌های حفاظتی ذاتی گیاهان در برابر تنش‌های محیطی، گیاهان با گروهی از میکروارگانیسم‌های خاک به نام قارچ‌های اندوفیت به صورت همزیست زندگی می‌کنند که این همزیستی تا حدودی سبب کاهش و

تسکین برخی اثرات تنش می‌شود [۲۰]. قارچ‌های اندوفیت، به لحاظ بهبود توانایی گیاه در جذب مواد غذایی، تعادلیون، حفظ فعالیت آنزیم و افزایش محتوای کلروفیل خطرات ناشی از تنش را کاهش داده و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شوند [۴ و ۱۲ و ۱۴ و ۳۴]. قارچ *P. indica* از قارچ‌های اندوفیت قارچ‌های بازی دومیست است که در سال ۱۹۹۸ توسط Varma و همکاران از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی پسند کهور (*Prosopis juliflora*) و کنار (*Zizyphus nummularia*) از صحرای تار ایالت راجستان کشور هندوستان جدا سازی شد [۴۶]. اثرات مثبت ناشی از برقراری همزیستی قارچ اندوفیت *P. indica* بر بقا و افزایش رشد گیاهان میزبان در مناطق خشک و نیمه خشک جهان که با دو معضل عمده خشکی و شوری روبرو هستند، توجه پژوهشگران را به خود جلب نموده است. اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و عوامل بیماریزای ریشه و برگ توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است [۲۲ و ۳۵ و ۳۶]. بنابراین، این پژوهش با هدف استفاده از توان قارچ اندوفیت *P. indica* در بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه برنج (*O. sativa*) به تنش شوری با تکیه بر تاثیر این قارچ‌ها بر روی سیستم آنتی‌اکسیدان انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

### ۱- تکثیر و تولید مایه تلقیح قارچ *P. indica*

در این بررسی قارچ *P. indica* (اهدایی پروفیسور کوگل، رئیس موسسه بیماری‌شناسی و جانورشناسی

۱۵٪ وایتکس نگهداری شد و نهایتاً چندین مرتبه با آب مقطر سترون شده شستشو دادیم. بذره‌های حاصل بر روی سطح کاغذ واتمن در پتری دیش‌ها به مدت ۳ روز در تاریکی قرار گرفته و در طی این دوره، رطوبت لازم جهت جوانه‌زنی توسط آب فراهم شد. ابتدا بذره‌های جوانه‌دار شده برنج (تهیه شده از موسسه تحقیقات برنج کشور) با مقداری مایه تلقیح قارچ حاوی  $5 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$  اسپور، تلقیح و به مدت ۱۲ ساعت بر روی شیکر با دور آرام قرار داده شدند تا امکان اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه چه (طول ریشه‌چه‌ها حدود ۳ سانتی متر) فراهم شود، سپس تعداد ۴ گیاهچه تلقیح شده با قارچ در داخل هر گلدان کاشته شد. لازم به ذکر است که در مورد تیمارهای شاهد، بذره‌های جوانه دار شده برنج بدون تلقیح با اسپورهای قارچ در گلدان‌های مشابه با شرایط فوق کشت شدند. گلدان‌ها پس از کشت، به اتاق رشد با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعته و با بیشینه دمای روزانه ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه کمینه ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۷۰ درصد منتقل شدند و با محلول غذایی یوشیدا آبیاری شدند. پس از گذشت سه هفته از کاشت گیاهان، نمونه‌برداری از ریشه برنج تلقیح شده و شاهد برای تعیین آلودگی ریشه با قارچ در زیر میکروسکوپ

کاربردی دانشگاه گیسن آلمان) در محیط کشت جامد اختصاصی (CM) Complex medium کشت شد (جدول ۱).

پس از رشد کامل قارچ و تولید اسپور در سطح محیط کشت، مایه تلقیح تهیه شد. برای این منظور از آب استریل به همراه توئین ۲۰ به میزان ۰/۰۵ درصد استفاده شد. از لام هموسایتومتر (نئوبار) برای شمارش اسپورها یا تعیین غلظت مایه تلقیح تهیه شده استفاده گردید.

## ۲- کشت گیاه، رنگ‌آمیزی جهت مشاهده ورود قارچ و اعمال تنش نمک

برای بررسی توان تحریک‌کنندگی رشد قارچ *P. indica* و تأثیر آن در افزایش مقاومت گیاه برنج به تنش‌های شوری و خشکی، آزمایش گلخانه‌ای در گلدان‌های ۲ کیلوگرمی با استفاده از مخلوطی مساوی از ماسه و پرلیت استریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۴ سطح شوری (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mM NaCl) و ۲ سطح قارچ *P. indica* (تلقیح و تلقیح نشده (شاهد)) بودند. جهت جوانه‌زنی بذره‌های برنج (*O. sativa*) رقم طارم ابتدا آنها را به مدت ۱ دقیقه در اتانول ۹۰ درصد قرار دادیم، سپس بذرها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول

جدول ۱ - ترکیب محیط کشت Complex medium (CM) جهت پرورش قارچ

مقدار	مواد مورد نیاز	مقدار	مواد مورد نیاز
۵۰ میلی لیتر (۱۲۰ گرم $\text{NaNO}_3$ ، ۱۰/۴ گرم $\text{KCl}$ ، ۱۰/۴ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۳۰/۴ گرم $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ، آب به حجم یک لیتر)	محلول نمک ۲۰x	۲۰ گرم	گلوکز
۱ میلی لیتر (۶ گرم $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، ۱/۵ گرم $\text{H}_3\text{BO}_3$ ، ۲/۶۵ گرم $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۲/۴ میلی گرم $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، ۷۵۰ میلی گرم $\text{KI}$ ، ۱۳۰ میلی گرم $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ، آب به حجم یک لیتر)	محلول Microelement	۲ گرم	پپتون
۱ گرم	کازامین اسید	۱ گرم	عصاره مخمر

اشباع شده یا متورم شده نمونه‌ها می‌باشد (Lutts *et al.*, 1999).

$$RWC = [FW - DW / TW - DW] \times 100$$

#### ۴- استخراج و سنجش پرولین آزاد

به منظور استخراج و سنجش مقدار پرولین آزاد موجود در نمونه‌ها، از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده گردید [۷].

#### ۵- سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها

به منظور سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء بر اساس میزان مالون دی آلدئید (MDA) تولید شده، از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده شد [۱۷].

#### ۶- آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) استفاده گردید [۸].

#### ۷- آنزیم کاتالاز (CAT)

به منظور بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۷۴) استفاده شد [۲].

#### ۸- آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش Jebara و همکاران (۲۰۰۵) انجام گرفت [21].

#### ۹- آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR)

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز

نوری صورت پذیرفت. برای این منظور ابتدا ریشه گیاهان تلقیح شده و شاهد بر اساس روش Vierheilig و همکاران (1998) رنگ‌آمیزی شد [۴۹]. سپس قطعات ریشه روی لام قرار گرفته و با استفاده از میکروسکوپ نوری استقرار قارچ و حضور کلامیدوسپوره‌های قارچ در بافت کورتکس ریشه مورد بررسی قرار گرفت. پس از حصول اطمینان از ورود قارچ در ریشه گیاه برنج، اعمال تنش آغاز گردید، بدین صورت که پس از محاسبه مقدار نمک کلرید سدیم مورد نیاز برای اعمال هر یک از تیمارهای شوری، مقدار نمک محاسبه شده به مدت یک هفته همراه با آب آبیاری (محلول یوشیدا) به گلدان‌هایی که کف آن‌ها مسدود شده بود و امکان خروج نمک همراه با آب آبیاری وجود نداشت، اضافه شد. پس از گذشت یک هفته از اعمال تنش، گیاه برنج از گلدان خارج شد و به دو قسمت ریشه‌ای و اندام هوایی (برگ + ساقه) تقسیم گردید. در نهایت نمونه‌ها در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند.

#### ۳- محاسبه محتوای نسبی آب (RWC)

برای این منظور وزن تر ریشه و اندام هوایی در تیمارهای مختلف شوری توسط ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در ظروف آب در دمای آزمایشگاه قرار داده شد و وزن نمونه‌ها مجدد اندازه‌گیری شد. بعد از این مرحله نمونه‌ها متورم شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه آون قرار داده شد و سپس وزن نمونه‌ها توسط ترازوی دیجیتال تعیین گردید.

نهایتاً محتوای نسبی آب نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید که در آن (RWC) محتوای نسبی آب، (FW) وزن تر، (DW) وزن خشک و (TW) وزن

## ۲- پارامترهای رشد و محتوای نسبی آب (RWC)

بررسی نتایج در این تحقیق نشان داد که تنش شوری در تمام سطوح موجب کاهش رشد در گیاه برنج گردید و این در صورتی است که کاهش رشد، در برنج تلقیح شده با قارچ کمتر از برنج شاهد بود. با افزایش تنش شوری زیتوده (بیومس) برگ‌های جوان به شدت کاهش یافت و در برگ‌های مسن‌تر نشانه‌هایی از رنگ پریدگی (Chlorosis) و متعاقباً بافت مردگی (Necrosis) دیده شد که البته در برنج تلقیح شده کمتر از برنج شاهد بود (شکل ۲).

وزن تر اندام‌های هوایی و ریشه در برنج تلقیح شده در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به ترتیب ۵۰ و ۵۳ درصد و در برنج شاهد به ترتیب ۷۴ و ۷۷ درصد نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک کاهش نشان داد. وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه در برنج تلقیح شده در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به ترتیب ۴۷ و ۶۰ درصد و در برنج شاهد به ترتیب ۷۲ و ۷۷ درصد نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک کاهش نشان داد. ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه در برنج تلقیح شده در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به ترتیب ۲۸ و ۴۳ درصد و در برنج شاهد به ترتیب ۴۳ و ۵۱/۵ درصد نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک یافت (جدول ۲).

نتایج حاصل از اثر تنش شوری بر محتوای نسبی آب نمونه‌ها نشان داد که با افزایش غلظت NaCl میزان محتوای نسبی آب در برنج تلقیح شده نسبت به برنج شاهد کاهش کمتری نشان داد، بطوریکه در اندام هدایی و ریشه برنج تلقیح شده در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به ترتیب ۲۸ و ۳۱ درصد و در برنج شاهد به ترتیب ۴۳ و ۵۱ درصد نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک کاهش نشان داد (جدول ۳).

با توجه به روش Rao و همکاران (۱۹۹۶) و بر اساس اکسیداسیون NADPH (با ضریب خاموشی  $6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) در  $340 \text{ nm}$  صورت گرفت [۳۷].

## ۱۰- تحلیل داده‌ها

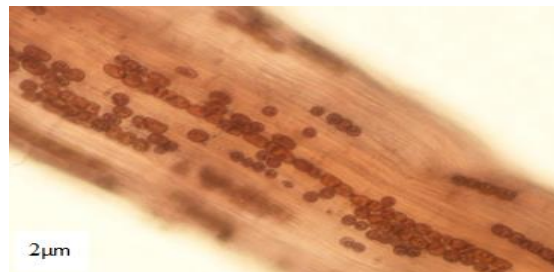
کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل و هریک با سه نمونه انجام گرفت. از نرم‌افزار Excel برای محاسبه میانگین، انحراف معیار و رسم نمودارها استفاده شد. تحلیل داده‌ها و معنی‌دار بودن اختلاف بین آنها با آزمون t (T-test) در سطح  $P \leq 0.05$  انجام شد.

## نتایج

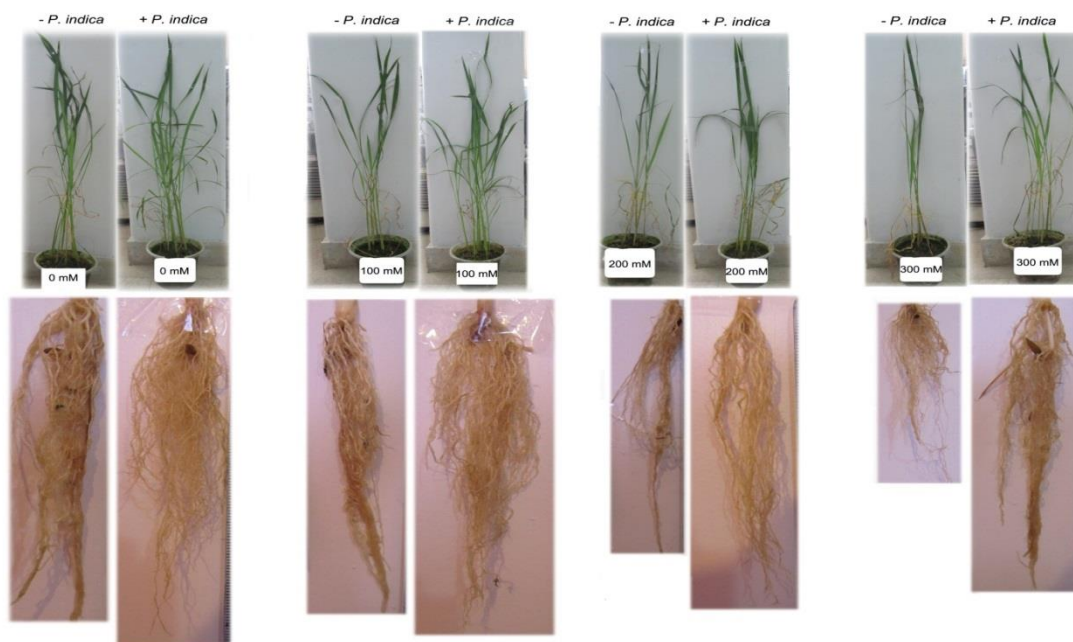
## ۱- بررسی توان آلوده‌سازی ریشه گیاه برنج توسط قارچ

*P. indica*

مطالعات میکروسکوپی صورت گرفته بر روی ریشه گیاهان تلقیح شده با اسپوره‌های قارچ *P. indica* حاکی از توان بالای این قارچ در آلوده نمودن ریشه گیاه میزبان می‌باشد، بطوری که کلامیدوسپوره‌های قارچ در بافت کورتکس ریشه گیاهان تلقیح شده به صورت گرد تا گلابی شکل و زنجیره‌ای مشاهده شد. توده‌های هیف قارچ نیز در سطح ریشه قابل مشاهده بود در صورتیکه در ریشه‌های شاهد کلامیدوسپورها و توده‌های هیف مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱- بررسی میکروسکوپی ریشه برنج. کلامیدوسپوره‌های قارچ اندوفیت *P. indica* در بافت کورتکس ریشه برنج بصورت تکی یا زنجیره‌ای مشاهده می‌شوند.



شکل ۲- اثر مثبت قارچ اندوفیت *P. indica* بر روی طول ریشه و ارتفاع گیاه برنج تحت غلظت‌های مختلف NaCl.

جدول ۲- مقایسه پارامترهای رشد (ارتفاع اندام‌های هوایی، طول ریشه، وزن خشک و تر) گیاه برنج تلقیح شده با *P. indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری.

غلظت نمک (میلی مولار)	<i>P. indica</i>	اندام‌های هوایی			ریشه		
		ارتفاع ساقه (سانتی متر)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	طول ریشه (سانتی متر)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
۰	- <i>P. indica</i>	۷۲ ± ۱/۶۲a	۱۲/۵ ± ۱/۱۶a	۴/۳ ± ۰/۹a	۱۳ ± ۰/۲۴a	۴ ± ۰/۶۶a	۱/۸ ± ۰/۲۱a
	+ <i>P. indica</i>	۷۶ ± ۰/۸۱a	۱۵/۵ ± ۰/۴a	۴/۸ ± ۰/۱۶a	۱۲/۲ ± ۰/۴a	۴/۳ ± ۰/۱۶a	۲ ± ۰/۴a
۱۰۰	- <i>P. indica</i>	۶۹/۳ ± ۱/۲a	۱۰ ± ۰/۸۱a	۳/۲ ± ۰/۱۶a	۱۲ ± ۰/۲۴b	۳ ± ۰/۰۸a	۱ ± ۰/۱۴b
	+ <i>P. indica</i>	۷۵ ± ۰/۸۱a	۱۲/۳ ± ۱/۲ab	۴/۳ ± ۰/۹۷ab	۱۳ ± ۰/۰۸a	۲/۸ ± ۰/۶۹ab	۱/۸ ± ۰/۳۵a
۲۰۰	- <i>P. indica</i>	۵۴ ± ۲/۱۶b	۶ ± ۰/۵۷b	۱/۷ ± ۰/۱۶bc	۸/۲ ± ۰/۱c	۱/۵ ± ۰/۳۷b	۰/۶ ± ۰/۰۴c
	+ <i>P. indica</i>	۶۹ ± ۰/۸۱b	۱۱ ± ۰/۸۱bc	۲/۹ ± ۰/۴۷ab	۱۰ ± ۰/۱۳b	۲/۱ ± ۰/۲۱b	۱/۳ ± ۰/۲۹ab
۳۰۰	- <i>P. indica</i>	۴۱ ± ۰/۸c	۳/۵ ± ۰/۲۴c	۱/۲ ± ۰/۴۲bc	۶/۳ ± ۰/۱d	۰/۹ ± ۰/۲۴bc	۰/۴ ± ۰/۲۱cd
	+ <i>P. indica</i>	۵۴/۳ ± ۱/۲c	۷/۶ ± ۱/۷c	۲/۵ ± ۰/۴bc	۹/۱ ± ۰/۱c	۲ ± ۰/۳۲c	۰/۸ ± ۰/۱۶ab

گروه بندی میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می‌باشند.

### ۳- محتوای پرولین

شده با *P. indica* بسیار شدیدتر از برنج شاهد در تمامی تیمارهای نمک بود، بطوری که در غلظت ۳۰۰ میلی مولار نمک محتوای پرولین اندام هوایی و ریشه برنج تلقیح شده به ترتیب ۳/۸ و ۵/۸ برابر و در برنج شاهد به ترتیب ۲ و ۳/۳ برابر نسبت به تیمار صفر میلی

نتایج بدست آمده نشان داد که محتوای پرولین آزاد در هر دو نمونه برنج (تلقیح شده و شاهد) با افزایش غلظت نمک در محیط افزایش یافت. نکته قابل توجه این است که این افزایش محتوای پرولین در برنج تلقیح

مولار نمک افزایش نشان داد (جدول ۳).

#### ۱- آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج بدست آمده نشان داد که فعالیت این آنزیم از صفر تا غلظت ۲۰۰ میلی مولار نمک در اندام‌های هوایی و ریشه هر دو گروه برنج مورد آزمایش یک روند افزایشی و سپس در غلظت ۳۰۰ میلی مولار روند کاهشی را نشان داد. فعالیت این آنزیم در غلظت ۲۰۰ میلی مولار در هر دو اندام ریشه و اندام‌های هوایی برنج تلقیح شده، ۱/۹ برابر ولی در برنج شاهد، در اندام‌های هوایی و ریشه به ترتیب ۱/۴ و ۱/۵ برابر نسبت به فعالیت آن در تیمار صفر میلی مولار نمک از خود نشان داد. در ضمن در تمام تیمارها فعالیت این آنزیم در برنج تلقیح شده بیشتر از برنج شاهد بود (شکل ۳).

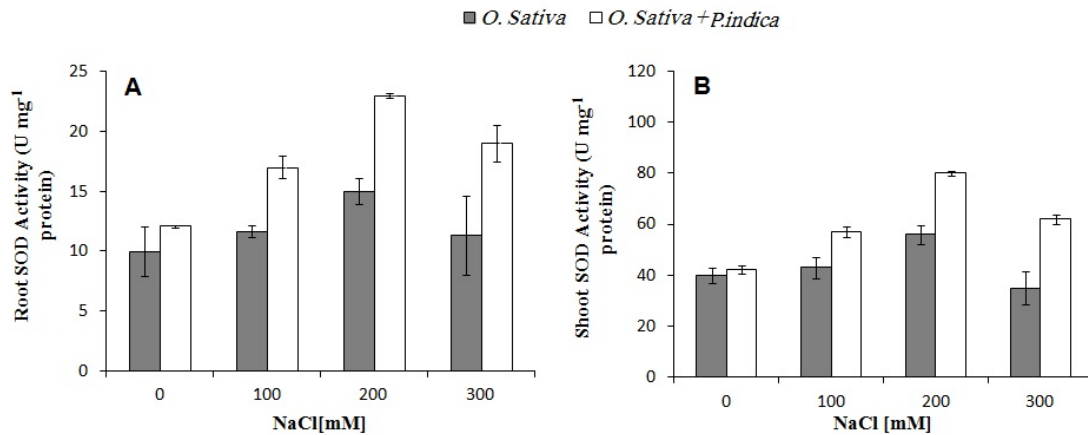
#### ۴- *P.indica* پراکسیداسیون لیپیدها را در برنج کاهش می‌دهد

نتایج بدست آمده نشان داد که در هر دو نمونه برنج با افزایش غلظت NaCl میزان مالون دی آلدئید در محیط افزایش یافت. تولید مالون دی آلدئید در برنج شاهد شدیدتر از برنج تلقیح شده می باشد که نشان دهنده تخریب بیشتر لیپیدهای غشایی تحت شرایط تنشی می باشد، بطوری که در غلظت ۳۰۰ میلی مولار NaCl، محتوای مالون دی آلدئید اندام هوایی و ریشه برنج تلقیح شده به ترتیب ۱/۸ و ۵/۲ برابر و در برنج شاهد به ترتیب ۳/۶ و ۹/۸ برابر نسبت به فعالیت آن در تیمار صفر میلی مولار نمک افزایش نشان داد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه محتوای پرولین، مالون دی آلدئید و محتوای نسبی آب گیاه برنج تلقیح شده با *P.indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری.

غلظت نمک (میلی مولار)	اندام های هوایی		ریشه		محتوای نسبی آب (%)
	پرولین ( $\mu\text{mol/g FW}$ )	مالون دی آلدئید ( $\mu\text{mol/g FW}$ )	پرولین ( $\mu\text{mol/g FW}$ )	مالون دی آلدئید ( $\mu\text{mol/g FW}$ )	
۰	- <i>P. indica</i>	۱۵۰ ± ۹/۰۹c	۵۳ ± ۷/۱۱c	۸۶/۳ ± ۱/۳a	۷۱ ± ۳a
	+ <i>P. indica</i>	۱۶۳ ± ۹/۶d	۵۰ ± ۹/۶cd	۹۵ ± ۲/۱a	۷۵ ± ۳/۵a
۱۰۰	- <i>P. indica</i>	۱۸۰ ± ۳۷bc	۷۷ ± ۱۵/۷۶c	۸۱/۷ ± ۲/۰۵a	۶۶ ± ۲/۵a
	+ <i>P. indica</i>	۲۷۱ ± ۳۸c	۵۵ ± ۷/۸bc	۸۶/۶ ± ۴/۰۲ab	۶۹ ± ۳/۱a
۲۰۰	- <i>P. indica</i>	۲۲۰ ± ۸/۱abc	۱۴۰ ± ۸/۶b	۵۴ ± ۱/۶۳b	۳۷ ± ۲/۶۲bc
	+ <i>P. indica</i>	۳۴۹ ± ۳/۳b	۷۰ ± ۷/۱۱bc	۸۰/۶ ± ۳/۱bc	۶۷ ± ۳/۹a
۳۰۰	- <i>P. indica</i>	۳۰۰ ± ۵۷ab	۴/۰۸ ± ۱۹۰a	۴۰/۳ ± ۱/۲۴c	۳۲ ± ۱/۳bc
	+ <i>P. indica</i>	۴۹۰ ± ۴۵a	۹۰ ± ۸/۱۶a	۷۵/۳۳ ± ۳/۷bc	۵۴ ± ۲/۵b

گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۰.۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.

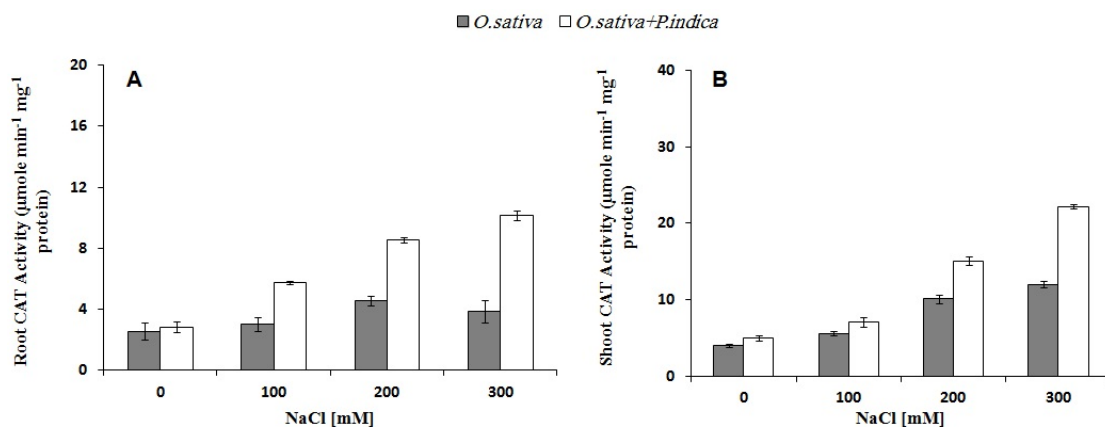


شکل ۳- مقایسه میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه برنج تلقیح شده با *P.indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری. گروه بندی میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۰.۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.

## ۲- آنزیم کاتالاز (CAT)

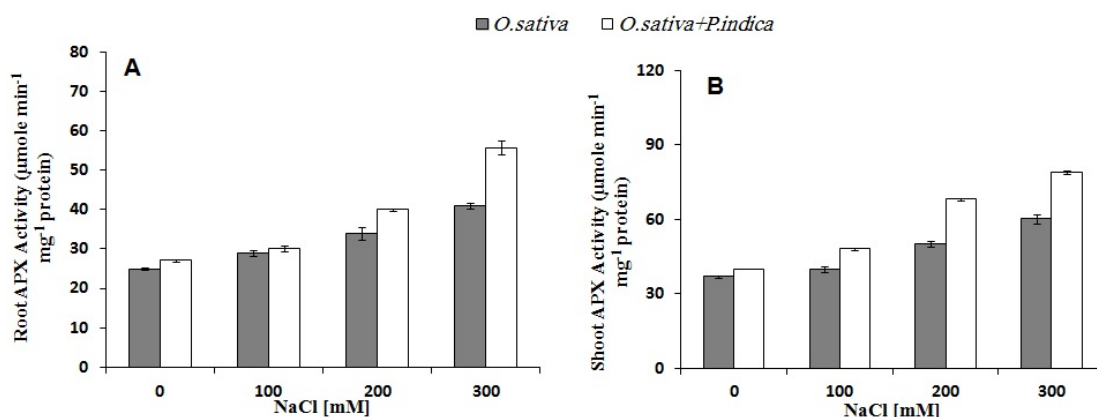
۳- آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)  
نتایج بدست آمده نشان داد، فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت نمک از صفر تا ۳۰۰ میلی مولار، یک روند افزایشی داشت بطوریکه فعالیت آن در اندام‌های هوایی و ریشه برنج تلقیح شده به ترتیب ۲/۶ و ۲/۳ برابر و در اندام‌های هوایی و ریشه برنج شاهد به ترتیب ۱/۶ و ۱/۷ برابر نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک از خود نشان داد (شکل ۵).

نتایج بدست آمده نشان داد، که فعالیت این آنزیم از صفر تا ۳۰۰ میلی مولار نمک، یک روند افزایشی داشت بطوریکه فعالیت این آنزیم در اندام‌های هوایی و ریشه برنج تلقیح شده به ترتیب ۴/۵ و ۳/۶ برابر و در اندام‌های هوایی برنج شاهد ۳ برابر نسبت به فعالیت آن در تیمار صفر میلی مولار نمک بود. از طرفی در ریشه برنج شاهد از صفر تا ۲۰۰ میلی مولار غلظت نمک یک روند افزایشی و سپس یک روند کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز دیده شد (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه برنج تلقیح شده با *P.indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری. گروه بندی میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۰.۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.





شکل ۵- مقایسه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه برنج تلقیح شده با *P.indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری. گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۰.۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد ( $\pm$ ) بیانگر انحراف معیار می باشند.

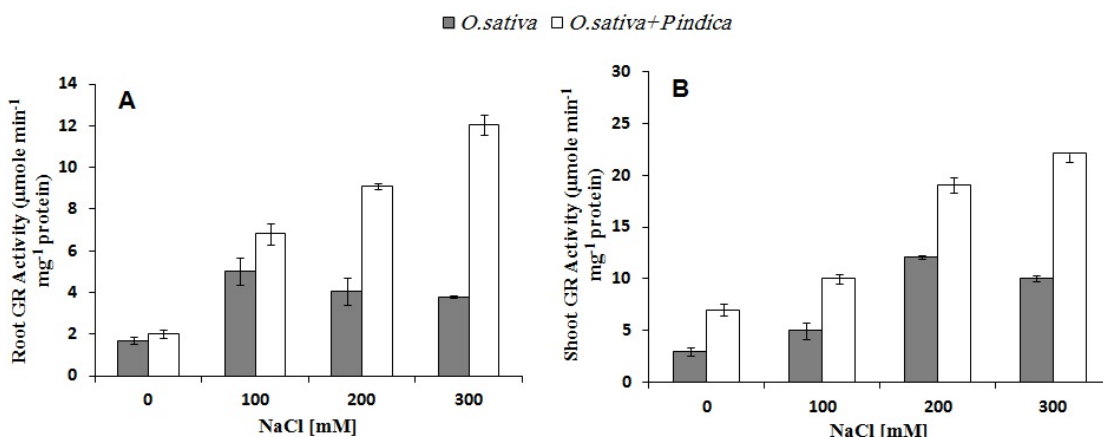
مولار روند کاهشی در فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز دیده شد (شکل ۶).

### بحث

ایران از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه خشک دنیا قرار دارد، از این رو شوری خاک و آب آبیاری یکی از مشکلات عمده پیش روی زراعت کشور است. شوری آب و خاک سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می شود [۴۱]. یکی از راهکارهای اساسی گیاهان برای به

### ۴- آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR)

نتایج بدست آمده نشان داد، فعالیت این آنزیم در برنج تلقیح شده با افزایش غلظت نمک از صفر تا ۳۰۰ میلی مولار، یک روند افزایشی داشت، بطوریکه فعالیت آنزیم در اندام های هوایی و ریشه به ترتیب ۳/۲ و ۶ برابر نسبت به شاهد بود. در اندام های هوایی برنج شاهد فعالیت آنزیم با افزایش غلظت از صفر تا ۲۰۰ میلی مولار نمک روند افزایشی و سپس روند کاهشی نشان داد ولی در ریشه از صفر تا ۱۰۰ میلی مولار روند افزایشی و سپس از ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی



شکل ۶- مقایسه میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در گیاه برنج تلقیح شده با *P.indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری. گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۰.۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد ( $\pm$ ) بیانگر انحراف معیار می باشند.

محلول‌های سازگار از قبیل پرولین، گلیسین بتائین و پلی‌اول‌ها و ... می‌باشد. در این بین پرولین نقش عمده‌ای در میزان تحمل به شوری داشته و بعنوان یک محافظ اسمزی در حفظ ساختار، پتانسیل و فشار اسمزی بخش‌های مختلف سلول ایفای نقش می‌کند، بطوری که میزان تجمع پرولین در گیاهان تحت شرایط تنش شوری رابطه مستقیم با میزان تحمل به شوری دارد [۵ و ۴۵]. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، افزایش محتوای پرولین با افزایش تنش شوری در هر دو گروه برنج تلقیح شده و برنج شاهد دیده شد که البته این افزایش غلظت پرولین در ریشه و در اندام هوایی برنج تلقیح شده بالاتر از برنج شاهد بود. می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً قارچ اندوفیت *P.indica* با مکانیسم‌های ناشناخته فیزیولوژیکی مولکولی موجب افزایش سنتز پرولین در سلول‌های گیاه برنج و نهایتاً موجب کاهش اثر مخرب تنش شوری و مقاومت گیاه برنج می‌شود [۴۴]. یکی از موارد آسیب اکسیداتیو حاصل از شرایط تنش شوری، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌باشد که منجر به تولید مالون دی‌آلدئید شده و می‌تواند به عنوان شاخصی از میزان تاثیر تنش شوری مورد توجه قرار گیرد. نتایج تحقیق ما نشان داد در گیاه برنج تلقیح شده با قارچ اندوفیت *P.indica* میزان تولید مالون دی‌آلدئید کمتر از برنج شاهد بود، که نشان دهنده اثر مثبت قارچ اندوفیت *P.indica* بر کاهش اثر اکسیداتیو تنش شوری بر روی ساختار لیپیدهای غشایی می‌باشد [۱۹ و ۵۲]. افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاه باعث می‌شود که برای کاهش اثرات سمی تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، مکانیسم‌های متنوعی در گیاه فعال شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار

حداقل رساندن اثرات مخرب تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری همزیستی با قارچ‌های اندوفیت ریشه می‌باشد. با توجه به این قضیه امروزه در برنامه ریزی برای سامانه‌های کشاورزی پایدار، استفاده از همزیستی میکروارگانیسم-گیاه ضرورتی اساسی تلقی می‌شود. میکروارگانیسم‌های خاک از جمله قارچ‌های اندوفیت با برقراری روابط همیاری و همزیستی در تعامل با گیاهان بوده و با انجام فعالیت‌هایی نظیر تولید انواع بیشماری از متابولیت‌ها، تجزیه ترکیبات مختلف آلی، تثبیت نیتروژن جوی، تولید مواد محرک رشد گیاه، افزایش قابلیت فراهمی عناصر غذایی معدنی برای گیاه، سبب بهبود رشد گیاه می‌گردند [۳۹ و ۴۰]. علاوه بر توان تحریک کنندگی رشد گیاه برنج توسط قارچ *P. indica*، نتایج حاصل از این تحقیق به خوبی بر نقش مؤثر این قارچ در بهبود رشد و عملکرد گیاه تحت شرایط تنش شوری دلالت دارد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، با افزایش شوری وزن تر، خشک و طول اندام هوایی و ریشه کاهش یافت، اما به طور کلی، کاهش موارد فوق در برنج‌های تلقیح شده با قارچ اندوفیت *P.indica*، کمتر از برنج‌های شاهد در تمامی تیمارها بود. تأثیر تلقیح قارچ *P. indica* در افزایش توده زنده گیاهان ذرت (*Zea mays* L.)، توتون (*Nicotiana tabacum*)، جعفری (*Petroselinum crispum* L.)، درمنه، (*Artemisia* L.) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri* L.) توسط Verma و همکاران (۱۹۹۸) نیز گزارش شده است. [۴۷] قارچ‌های اندوفیت *P.indica* با افزایش سطح مورد نیاز، موجب بهبود جذب آب و روابط آبی گیاه و تغذیه معدنی می‌گردند و در نتیجه، سرعت رشد گیاه افزایش می‌یابد. از جمله مکانیسم‌های مهم دیگر تحمل به شوری، تجمع و انباشتگی برخی

می‌آید [ ۱۰ و ۱۸ و ۴۲].

گزارش‌های زیادی در مورد نقش قارچ‌های میکوریزی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش اثر تنش شوری و سایر تنش‌ها وجود دارد ولی در مورد تاثیر قارچ‌های اندوفیت تحقیقات کمتری صورت گرفته است. از جمله قارچ‌های اندوفیت می‌توان به *P.indica* اشاره کرد که کارهای کمی آن صورت گرفته است [ ۲۲ و ۴۷ و ۵۰].

با افزایش میزان شوری، سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه برنج فعال شده و با افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال‌های اکسیژن، در مقابل خسارات ناشی از تنش شوری مقاومت نموده [ ۶ و ۲۹ و ۳۳ و ۵۱]، و تا زمانی که گیاه قادر به مهار حجم سوپراکسید تولید شده در گیاه باشد، این فرآیند ادامه دارد، بطوری‌که در اندام هوایی و ریشه برنج تلقیح شده و شاهد تا غلظت ۲۰۰ میلی مولار نمک افزایش و سپس کاهش می‌آید. در تمامی تیمارهای نمک میزان فعالیت این آنزیم‌ها در برنج تلقیح شده بیشتر از برنج شاهد بود ضمن اینکه کاهش در ۳۰۰ میلی مولار در برنج شاهد نسبت به برنج تلقیح شده بسیار مشخص‌تر بود. کاتالاز، اصلی‌ترین آنزیم جاروبگر 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 (تلقیح شده و شاهد) و ریشه (تلقیح شده) مشاهده گردید. در ریشه برنج شاهد فعالیت آنزیم کاتالاز تا غلظت ۲۰۰ میلی مولار نمک روند افزایشی و سپس روند کاهشی نشان داد در صورتی‌که در موارد دیگر چه در برنج تلقیح شده و چه در برنج شاهد با

افزایش نمک روند افزایشی نشان داد. بالا بودن فعالیت کاتالازی اندام هوایی برنج در مقایسه با ریشه شاید بر اثر کاهش فتوسنتز گیاه و تجمع میزان بیشتر پراکسید هیدروژن در مقایسه با ریشه باشد. در تمامی تیمارهای نمک فعالیت آنزیم کاتالاز در برنج تلقیح شده بیشتر از برنج شاهد بود که حاکی از اثر مثبت قارچ اندوفیت *P.indica* بر فعالیت این آنزیم می‌باشد [ ۱۰ و ۲۳]. نتایج این تحقیق نشان داد، به موازات فعالیت SOD و به دنبال آن تولید  $H_2O_2$ ، گلوکاتایون ردوکتاز نیز فعالیت خود را افزایش داده بطوریکه در ریشه و اندام هوایی برنج تلقیح شده با افزایش شوری از ۰ تا ۳۰۰ میلی مولار یک روند افزایشی نشان داده، اما در اندام هوایی و ریشه برنج شاهد به ترتیب تا غلظت ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی مولار روند افزایشی و سپس روند کاهشی از خود نشان دادند که این نتایج نشان دهنده اثر مثبت قارچ اندوفیت *P.indica* بر روی فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز می‌باشد، در جاییکه در بعضی از غلظت‌های نمک در برنج شاهد با کاهش فعالیت این آنزیم همراه بوده است. کاهش فعالیت این آنزیم در بعضی از غلظت‌های نمک در برنج شاهد شاید به دلیل افزایش  $H_2O_2$  در سطوح شوری بالاتر باشد که موجب غیرفعال کردن این آنزیم شده و این در حالی است که قارچ اندوفیت *P.indica* توانسته فعالیت این آنزیم‌ها را به دلیل حذف  $H_2O_2$  در سطح بالاتری نگه دارد [۱۰ و ۳۸]. آنزیم آسکوربات پراکسیداز نقش تبدیل  $H_2O_2$  به  $H_2O$  را برعهده دارد. با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش افزایش فعالیت این آنزیم با افزایش شوری در گیاه برنج تلقیح شده و شاهد دیده شد. البته در گیاه برنج تلقیح شده با قارچ اندوفیت *P.indica* این افزایش فعالیت در سطح بالاتری بود که نشان دهنده اثر مثبت این قارچ بر فعالیت این آنزیم می‌باشد

- analysis, vol. 2, Academic Press, NY, pp. 673-684.
- [3] Apel K., Hirt H. 2004, Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology, 55: 373-399.
- [4] Asghari H., Marschner P., Smith S., Smith F. 2005, Growth response of *Atriplex nummularia* to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi at different salinity levels. Plant Soil, 273:245-256.
- [5] Ashraf M., Foolad MR. 2007, Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59:206-216.
- [6] Badawi GH., Kawano N., Yamauchi Y., Shimada E., Sasaki R., Kubo A. Tanaka K. 2004, Over-expression of ascorbate peroxidase in tobacco chloroplasts enhances the tolerance to salt stress and water deficit. Physiologia Plantarum, 121: 231-238.
- [7] Bates LS., Waldern RP., Teare ID. 1973, Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
- [8] Beauchamp C., Fridovich I. 1971, Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytic Biochemistry, 44: 276-287.
- [9] Becana M., Moran JF., Iturbe-Ormaetxe I. 1998, Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. Plant and Soil, 201: 137-147.
- [10] Bor M., Ozdemir F., Turkan I. 2003, The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science, 164: 77-84.
- [11] Cheraghi SA., Hasheminejad MY., Rahimian MH. 2009, An overview of the salinity problem in Iran: Assessment and monitoring technology. In: Advances in the assessment and monitoring of salinization and status of biosaline agriculture Reports of expert consultation held in Dubai, United Arab Emirates, 26-29 November 2007. World Soil Resources Reports No. 104. FAO, Rome, p 21-22.

[۲۶ و ۵۱]. علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در حضور قارچ اندوفیت *P.indica* هنوز مشخص نشده است اما بحر حال احتمالاً این قارچ‌ها از راه فعال کردن مکانیسم‌های متنوعی که هنوز کاملاً مشخص نیست موجب افزایش مثبت ویژگی‌های مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان همزیست شده می‌شوند [۴۰].

### نتیجه‌گیری

امید است با جمع‌آوری جدایه‌های بومی قارچ *P. indica* به منظور غنی‌تر نمودن بانک میکروارگانیزم‌های مفید خاکزی ایران و نیز به رهگیری از این قارچ در تولید کود زیستی جهت مصرف در مناطق شور، خشک و نیمه خشک کشور، بتوان از پتانسیل‌های بالقوه قارچ مذکور در زمینه کشاورزی پایدار استفاده نمود. همچنین با تشخیص ژن‌ها، پروتئین‌ها و مکانیسم‌های فیزیولوژیکی دخیل در تحمل تنش‌های محیطی توسط قارچ مذکور گامی مؤثر در جهت اصلاح ژنتیکی گیاهان برای مقاومت به تنش‌های خشکی و شوری برداشت.

### سپاسگزاری

از موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، جهت فراهم آوردن امکانات لازم جهت انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

### منابع

- [1] Abtahi A. 1992, The tolerance limitation of plant against to salinity. Technical journal, 16, Pedology group, Agricultural faculty, Shiraz University.
- [2] Aebi H. 1974, Catalases, in: H.U. Bergmeyer (Ed.), Methods of enzymatic

- [12] Colla G., Roupheal Y., Cardarelli M., Tullio M., Rivera CM., Rea E. 2008, Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology of Fertilize Soils*, 44: 501-509.
- [13] Franken p. 1998, *Piriformospora indica* gen. et sp. Nov., A new root-colonizing fungus. *Mycologia*, 95: 896-903.
- [14] Giri B., Kapoor R. Mukerji KG. 2007, Improved tolerance of *Acaceanilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* maybe partly related to elevated K/N ratios in root and shoot tissues. *Microb Ecology*, 54: 753-60.
- [15] Gossett DR., Millhollon EP., Cran-Lucas M. 1994, Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. *Crop Science*, 34: 706-714.
- [16] Gueta-Dahan Y., Yaniv Z., Zilinskas BA., Ben-Hayyim G. 1997, Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in Citrus. *Planta*, 203: 460-469.
- [17] Heath RL., Packer L. 1968, Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archive of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.
- [18] Hernandez JA., Jimenez A., Mullineaux PM., Sevilla F. 2000, Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant, Cell & Environment*, 23: 853-862.
- [19] Hernandez JA., Olmos E., Corpas FJ., Sevilla F., Del Rio LA. 1995, Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Science*, 105: 151-167.
- [20] Jahromi F., Aroca R., Porcel R., 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. *MicroEcology*, 55: 45-53.
- [21] Jebara C., Jebara M., Limam F., Elarbi-Aouani M. 2005, Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 162: 929-936.
- [22] Kumari R., Kishan H., Bhoon, YK and Varma A. 2003, Colonization of cruciferous plants by *Piriformospora indica*. *Current Science*, 85: 1672-1674.
- [23] Khan MH., Panda S K. 2008, Alternations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologia Plantarum*, 30: 81-89.
- [24] Lutts S., Majerus V., Kinet JM. 1999, NaCl effects on proline metabolism in rice seedlings. *Physiol. Plant*, 105: 450-458.
- [25] [25] Mahmood S., Iram Sh. Athar HR. 2003, Intra-specific various quantitative and qualitative attributes under differential salt region. *Journal of Research Science*, 14: 177-186.
- [26] Miller G., Suzuki N., Rizhsky L., Hegie A., Koussevitzky S., Mittler R. 2007, Double mutants deficient in cytosolic and thylakoid ascorbate peroxidase reveal a complex mode of interaction between reactive oxygen species, plant development, and response to abiotic stresses. *Plant Physiology*, 144: 1777-1785.
- [27] Mittova V., Guy M., Tal M., Volokita M. 2004, Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Journal of Experimental Botany*, 55: 1105-1113.
- [28] [28] Mudgal V., Madaan N., Mudgal A. 2010, Biochemical Mechanisms of salt Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Botany*, 6: 136-143.
- [29] Nagamiya K., Motohashi T., Nakao K., Prodhan SH., Hattori E., Hirose S., Ozawa K., Ohkawa Y., Takabe T., Takabe T. 2007, Enhancement of salt tolerance in transgenic rice expressing an Escherichia coli catalase gene, kat E. *Plant Biotechnology Reports*, 1: 49-55.
- [30] [30] Noctor G., Foyer CH. 1998, Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249-279.

- [31] Neumann P. 1977, Salinity resistance and plant growth revised. *Plant Cell and Environment*, 20: 1193-1198, 179-186.
- [32] Parida AK., Das AB. 2005, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- [33] Pourakbar L., Abedzadeh M. 2014, Effects of UV-B and UV-C radiation on antioxidative enzymes activity of *Melissa officinalis* and influences of salicylic acid in UV-stress ameliorations. *Iranian Journal of Plant Biology*, 21: 23-34 (in Persian).
- [34] Rabie GH., Almadini AM. 2005, Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, 4: 210-222.
- [35] Rai M., Achaya D., Singh A., 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.
- [36] Rai M., Varma A. 2005, Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 8: 107-111.
- [37] Rao MV., Paliyath G., Ormrod DP. 1996, Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 110: 25-136.
- [38] Rezayatmand Z., Khavari-Nejad RA., Asghari G. 2013, The effect of salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 16: 57-70 (in Persian).
- [39] Rodriguez RJ., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., Kim YO., Redman RS. 2008, Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *The ISME Journal*, 2: 404-416.
- [40] Rodriguez RJ., Redman RS., Henson J. 2004, The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 9: 261-272.
- [41] Sairam RK., Srivastava G.C. 2001, Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186: 63-70.
- [42] Sekmen AH., Turkan I., Takio S. 2007, Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum*, 131: 399-411.
- [43] Shannon MC. 1997, Adaptation of plants to salinity. *Advances in Agronomy* 60: 75-120.
- [44] Staple RC., Toenniessen GH. 1984, Salinity tolerance in plant: strategies for crop improvement. Wiley, New York *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- [45] Sumithra K., Jutur PP., Carmel BD., Reddy AR. 2006, Salinity-induced changes in two cultivars of *Vigna radiata*: responses of antioxidative and proline metabolism. *Plant Growth Regul.*, 50: 11-22.
- [46] Varma A., Savita S., Sahay N., Butehorn B., Franken Ph. 1998, *Piriformospora indica*, A cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 2741-2744.
- [47] Verma S., Varma A., Rexer K. H., Kost G., Sarbhoy A., Bisen P., Butehorn B., Franken, ph. 1998, *Piriformospora indica* gen. et sp. Nov., A new root-colonizing fungus. *Mycologia*, 95: 896-903.
- [48] Verma S., Varma A., Rexer KH., Kost G., Sarbhoy A., Bisen P., Butehorn B. 1990, Interactions between water-stress and different mycorrhizal inoculate on plant growth and mycorrhizal development in maize and sorghum. *Plant Soil*, 121: 179-186.
- [49] Vierheilig H., Coughlan AP., Wyss U., Piche Y. 1998, Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 5004-5007.
- [50] Waller F., Achatz B. Baltruschat H. 2005, The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms

- barley to salt- stress tolerance, disease resistance and higher yield. PNAS, 102: 13386-13391.
- [51] WiSJ., Kim WT., Park KY. 2006, Overexpression of carnation S-adenosylmethionine decarboxylase gene generates a broad-spectrum tolerance to abiotic stresses in transgenic tobacco plants. Plant Cell Reports, 25: 1111-1121.
- [52] YangYL., Guo JK., Zhang F., Zhaob LQ., Zhang LX. 2004, NaCl induced changes of the H<sup>+</sup>-ATPase in root plasma membrane of two wheat cultivars. Plant Science, 166: 913-918.





