نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره پیاپی ۳۵، سال نهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۳ / صفحات: ۵۲-۴۳

بررسی خصوصیات کیفی هلوی زعفرانی (*Prunus persica* (L.) Batch.) مایه‌زنی شده با قارچ همزیست (*Piriformospora indica*)

عظیم قاسم‌نژاد[۱] و امین اله باقری‌فرد*[۲]

[۱] استادیار، گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، گرگان

[۲] دانشجوی دکتری، گروه باغبانی، پردیس دانشگاهی دانشگاه گیلان، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۰ تاریخ پذیرش:۹۳/۷/٦

چکیده

اغلب قارچ‌های همزیست از طریق افزایش توان جذب آب و مواد غذایی به رشد بهتر و بیشتر گیاه میزبان کمک می‌کنند که در این‌میان قارچ پیریفورموسپرا (*Piriformospora indica*) دارای قابلیت ویژه‌ای است. جهت بررسی تأثیر این قارچ بر خصوصیات کیفی میوه هلو، طرحی در قالب بلوک کامل تصادفی با تیمار گیاهان مایه‌زنی شده به قارچ پیریفورموسپرا و شاهد با ۱۰ تکرار در یکی از باغات شهرستان علی آباد واقع در استان گلستان انجام شد. پس از برداشت، میوه‌ها جهت مطالعه تغییرات کیفی و تعیین خصوصیات فیتوشیمیایی از جمله مواد جامد کل، pH، اسیدمالیک قندکل، گلوکز، ساکارز، ترکیبات فنل و فلاونوئیدها، به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انتقال یافتند. نتایج نشان داد که برخی شاخص‌های کیفی میوه‌ها در تیمار به‌طور معنی‌دار تغییر یافتند. میزان قند کل در میوه درختان آلوده به نسبت شاهد افزایش معنی‌داری یافت. این امر در مورد ساکارز و گلوکز نیز صادق بود. میزان فنل کل میوه در زمان رسیدن به صورت معنی‌دار و میزان فلاونوئیدها در مقایسه با شاهد روند افزایشی ولی فاقد معنی نشان دادند.

واژگان کلیدی: فلاونوئید، فنل، قند کل، هلو، *Piriformospora indica* .

مقدمه

هُلو (*Prunus persica* L.) از نظر گیاه‌شناسی متعلق به خانواده گل سرخیان (Rosaceous) و از جنس پرونوس (*Prunus*) می‌باشد (رسول زادگان، ۱۳۷٦). مبدا هلو نواحی گرم چین است. بیشتر ارقام هلو خود بارورند. از ارقام هلو می توان به آلبرتا، ردهیون، هلوی مشهدی و انجیری اشاره نمود (خوشخوی و همکاران، ۱۳۸۵).

تحقیقات نشان داده است رابطه متقابل گیاه و قارچ چه به‌صورت بیمارگر و چه به‌صورت همزیست می‌تواند بر عملکرد اثر مستقیم داشته باشد. قارچ *Piriformospora indica* Sav. Verma (پیریفورموسپرا) قارچ درون‌رُست از خانواده هیمنومیستس و از شاخه‌ی بازیدیومیکوتا است. این قارچ می‌تواند به راحتی در محیط‌های مختلف رشد کند در این حالت به شکل غیرجنسی و با کلامیدوسپور ۸ تا ۲۵ هسته‌ای دیده می‌شود (Verma et al., 1999). گزارشات نشان داده است. قابلیت

*نویسنده مسئول:aminbagherifard@yahoo.com

کشت قارچ در شرایط آزمایشگاهی امکان مطالعه بیشتر را فراهم می‌کند (Verma et al., 1999; Rai et al., 2004; Rai and Varma, 2005; Deshmukh et al., 2006). عنوان شده است قارچ مذکور علاوه بر تأثیر مستقیم در رشد از طریق تحریک سیستم دفاعی مقاومت گیاه را در مقابل بیماری‌ها و همچنین تنش خشکی افزایش می‌دهد (Deshmukh et al., 2006; Waller et al., 2005). بررسی‌ها نشان داد که تلقیح قارچ پیریفورموسپرا در ریشه گیاه کنگر فرنگی باعث افزایش تعداد، طول و پهنای برگ، طول و وزن ریشه و درصد کافئیک اسید برگ‌های جوان کنگر فرنگی شد (قاسم‌نژاد و بابایی زاد، ۱۳۹۰). با بررسی قارچ پیریموسپورا اندیکا بر گیاه جو نشان داده شد که تلقیح قارچ در ریشه توانست افزایش پارامترهایی از قبیل وزن‌تر شاخه، عملکرد، شاخص برداشت و تعداد دانه را نسبت به گیاهان شاهد در شرایط مزرعه افزایش دهد (Waller et al., 2005). Bagheri و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی قارچ پیریفورموسپرا بر برنج بیان کردند که گیاهان تیمار شده با قارچ در شرایط شوری نسبت به گیاهان شاهد رشد بهتری را نشان دادند. همچنین مشاهده نمودند در اندام‌های هوایی و ریشه میزان پروتئین محلول، محتوی نسبی آب، محتوای پرولین آزاد، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. با بررسی قارچ پیریفورموسپرا بر ریشه گیاه دارویی *Coleus forskohlii* دریافتند که گیاهان تیمار شده با قارچ افزایش پارامترهایی از قبیل افزایش گلدهی، تعداد گل آذین و میانگین طول گل آذین را به همراه داشت. همچنین با بررسی تجزیه اسانس گیاه مشاهده کردند گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد میزان مواد موثره بیشتری را دارا بودند (Das et al., 2012). Bajaj و همکاران (۲۰۱٤) با بررسی تاثیر قارچ پیریفورموسپرا بر عملکرد و مواد موثره گیاه دارویی زردچوبه به این نتیجه دست یافتند که درصد اسانس و ماده موثره کورکومین در گیاهان تیمار شده با قارچ افزایش بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند به طوری که افزایش ۲۱ و ۱۹ درصدی را به‌ترتیب نسبت که گیاهان شاهد نشان دادند. همچنین این محققان بیان کردند که در گیاهان تیمار شده با قارچ خصوصیات مورفولوژیکی (تعداد برگ و عملکرد ریزوم) نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت (Bajaj et al., 2014).

در مطالعه‌ای نشان داده شد که فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدانی در ریشه‌ها و شاخه‌ها از گیاهان ذرت تیمار شده با قارچ مذکور نسبت به گیاهان بدون تیمار افزایش بیشتری داشت (Dat et al., 2000; Imlay, 2003). با توجه به مطالب فوق هدف از این پژوهش اثر قارچ پیریفورموسپرا اندیکا بر برخی از شاخص‌های کیفی میوه درخت هلو مانند میزان مواد جامدکل، قند کل، اسید مالیک، گلوکز، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بود.

مواد و روش‌ها

مختصات جغرافیایی طرح: این طرح در شهرستان علی آباد از توابع استان گلستان با ارتفاع ۱٤۰ متر از سطح دریا و طول جغرافیایی ″٤۸ ′۳٤ °٥٤ و عرض جغرافیایی ″٤۹ ′٤٦ °۳٦ با اقلیم معتدل و نیمه مرطوب بود.

نمونه‌برداری و کشت قارچ پیریفورموسپرا: جدایه‌ی قارچ پیریفورموسپرا (*Piriformospora indica*) از گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه JLU کشور آلمان تهیه شد. برای شناسایی جدایه پیریفورموسپرا از روش Parmeter و Whitney (۱۹۷۰) و Ogoshii (۱۹۸۷) که کلید شناسایی این قارچ بوده استفاده گردید. در آزمایشگاه گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی

و منابع طبیعی گرگان نمونه قارچ روی محیط اختصاصی CM، کشت داده شد (قاسم‌نژاد و بابایی‌زاد، ۱۳۹۰). پس از تهیه محیط کشت تحت شرایط کاملاً سترون، قطعه‌ای از محیط حاوی قارچ به تشتک‌های پتری ۹۰ میلی‌متری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط جامد CM اضافه شد. تشتک‌های پتری مایه‌زنی شده تا شرایط رشد کامل قارچ (۲۸ روز) در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از تکمیل رشد زایشی (۲۸ روز پس از کشت قارچ)، نمونه‌ها از انکوباتور خارج شده و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند. محلول نمک ماکرو که برای محیط کشت قارچ مورد استفاده گردید حاوی نیترات سدیم، فسفات پتاسیم، کلرید پتاسیم و سولفات منیزیم و محلول نمک میکرو شامل کلرید منگنز، سولفات روی، اسید بوریک، یدید پتاسیم، سولفات مس و مولیبدات سدیم بود.

مایه‌زنی قارچ پیریفورموسپرا: پس از تهیه قارچ ریشه گیاهان بالغ هلو در دو مرحله به قارچ مایه‌زنی شدند. اولین مایه‌زنی در اسفند ماه و قبل از باز شدن گلها انجام شد و مایه‌زنی دوم در خردادماه و همزمان با فندقه شدن میوه صورت گرفت. برای آغشته‌سازی قارچ ابتدا یک پتری حاوی قارچ به دو قسمت تقسیم شده و سپس در دو سمت گیاه در محلی که تراکم ریشه‌های جوان و مویین بیشتر وجود داشت، به ریشه‌ها زده شد. با توجه به مطالعات انجام شده، قارچ مذبور از قسمت زیر سطح کلاهک وارد ریشه می‌شود در فضای بین سلولی گسترش یافته و در نهایت کل ریشه را آلوده می‌کند (Verma et al., 1999). با توجه به اینکه برای اولین بار مایه‌زنی گیاهان بالغ در شرایط باغ انجام می‌شد، سعی شد که نمونه‌های قارچ به شکلی قرار داده شوند که حداکثر تماس با نوک ریشه برقرار گردد. پس از انجام مایه‌زنی اول مایه‌زنی در فصل خواب (نیمه اسفند، ۱۳۸۸)، مایه‌زنی دوم به شکل مشابه و در خردادماه (در مرحله فندقی میوه) صورت گرفت.

مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی: پس از مرحله بلوغ میوه، میوه‌ها برداشت شده و جهت مطالعه تغییرات کیفی به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان انتقال یافتند. در آزمایشگاه خصوصیات فیتوشیمیایی میوه مورد مطالعه قرار گرفت. از مهمترین پارامترهای اندازه‌گیری شده عبارتند از مواد جامد کل، pH، اسید مالیک (درصد)، قند کل، گلوکز، ساکارز، فنل کل، فلاونوئیدها بود. ۱ الی ۲ هفته پس از مایه‌زنی قارچ در مرحله دوم به‌منظور بررسی نفوذ قارچ در ریشه، نمونه‌برداری از ریشه‌های باریک و مویین درختان شاهد و تیمار شده صورت گرفت. نمونه‌های ریشه در کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردید و براساس روش Philips و Hayman (۱۹۷۰) رنگ آمیزی شد. اسلایدهایی از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده برای بررسی میکروسکپی تهیه شد.

سنجش قند کل: اندازه‌گیری قند کل به روش Sadasivam و Manickam (۱۹۹٦) انجام شد. ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه وزن و در لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدیک ۲/۵ نرمال به محلول اضافه شده و در آب جوش به‌مدت ۳ ساعت تا هیدرولیز شدن کامل نمونه‌ها نگهداشته شد. با خنثی‌کردن نمونه‌ها با کربنات سدیم در نهایت حجم نمونه‌ها به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و بعد با دور ۳۵۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۵ تا ۱ میلی‌لیتر از محلول سطحی جهت اندازه‌گیری برداشته شد. جهت کالیبره کردن دستگاه اسپکتوفتومتر، گلوکز استاندارد با غلظت‌های مختلف ۰، ۰/۲، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شده و سطح ۰ به‌عنوان شاهد در نظر گرفته می‌شود. حجم همه لوله‌ها شامل نمونه و استاندارد با آب مقطر به ۱

میلی‌لیتر رسانده شده و سپس ٤ میلی‌لیتر معرف آنترون به تمام نمونه‌ها و استانداردها اضافه شد. لوله‌ها به‌مدت ٨ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شده، سپس با خنک کردن سریع نمونه‌ها و مشاهده رنگ سبز و سبز تیره، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٦٣٠ نانومتر قرائت شد.

سنجش قندهای غیر احیاء کننده: برای اندازه‌گیری قند غیر احیا از روش پیشنهادی سوموگی استفاده شد (Somogyi, 1952). بدین صورت که ابتدا مقدار ١٠٠ میلی‌گرم از نمونه در ٥ میلی‌لیتر الکل ٨٠ درصد گرم له شده و سپس به‌مدت ١٠ دقیقه در بن ماری با دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس در دور ٣٥٠٠ به مدت ١٠ دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه با جمع‌آوری مواد شناور سطحی این عمل سه مرتبه تکرار شد. سپس در حمام آب گرم با دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته تا الکل کاملاً تبخیر شود. مقدار ١٠ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه کرده تا مواد قندی در آن کاملاً حل شود. سپس یک میلی‌لیتر از محلول فوق با یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک ١ نرمال مخلوط شد. مخلوط فوق در دمای ٤٩ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٣٠ دقیقه قرار داده شد تا هیدرولیز کامل صورت گیرد. پس از سرد شدن نمونه‌ها ١ تا ٢ قطره معرف قرمز متیل به آن اضافه گشت. با افزایش سود ١ نرمال pH نمونه مشابه نمونه شاهد شد. مقدار ٠/١ تا ٠/٢ میلی‌لیتر از مواد قندی فوق به لوله آزمایش افزوده و با اضافه نمودن ٠، ٠/٢، ٠/٤، ٠/٦، ٠/٨ و ١ میلی‌لیتر و به حجم رساندن به ٢ میلی‌لیتر سطوح مختلف استاندارد تهیه و غلظت ٠ نمونه به‌عنوان شاهد استفاده شد. حجم نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با آب مقطر به دو میلی‌لیتر رسانیده شد. سپس مقدار یک میلی‌لیتر معرف تاتارات مس آلکالین به تمام لوله‌های آزمایش اضافه گشت. در مرحله بعد لوله‌ها برای مدت ١٠ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شده و پس از سرد شدن ١ میلی‌لیتر معرف آرسنومولیبدات به آنها اضافه شود. حجم تمام لوله‌ها با آب مقطر به ١٠ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ١٠ دقیقه جذب رنگ آبی در طول موج ٦٢٠ نانومتر قرائت شد.

سنجش قندهای احیاء کننده: اندازه‌گیری قندهای احیاء نمونه، از روش دی نیترو سالیسیلیک اسید استفاده گردید (Sadasivam and Manickam, 1996). ابتدا مقدار ١٠٠ میلی‌گرم از نمونه در ٥ میلی‌لیتر الکل ٨٠ درصد گرم له شده و سپس به مدت ١٠ دقیقه در بن ماری با دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس در دور ٣٥٠٠ به‌مدت ١٠ دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه با جمع‌آوری مواد شناور سطحی این عمل سه مرتبه تکرار شد. سپس در حمام آب گرم با دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا الکل کاملاً تبخیر شود. مقدار ١٠ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه شده تا مواد قندی کاملاً حل شود سپس مقدار ٠/٥ تا ٣ میلی‌لیتر عصاره حاصل در لوله آزمایش با آب مقطر به حجم ٣ میلی‌لیتر رسانده شد. سه میلی‌لیتر معرف دی نیترو سالیسیلیک اسید به تمام لوله‌ها اضافه و لوله‌ها به‌مدت ٥ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. زمانی که هنوز محتویات لوله گرم بود ١ میلی‌لیتر محلول نمکی تارتارات سدیم پتاسیم ٤٠ درصد به تمام لوله‌ها اضافه شد. پس از خنک شدن جذب رنگ قرمز تیره در طول موج ٥١٠ نانومتر قرائت گشت.

سنجش اسد مالیک: جهت اندازه‌گیری اسیدمالیک به روش اسیدیته قابل تیتراسیون انجام گرفت بدین صورت که ٦ گرم نمونه میوه با ٥٠ میلی‌لیتر آب مقطر درهاون کاملا له شده و با پیپت ٢ الی ٣ قطره فنل فتالئین به مخلوط حاصل اضافه شد. سپس اسیدیته قابل تیتر به وسیله سود ٠/١ نرمال تیتر شد. عمل تیتر شدن تا زمان حصول رنگ صورتی ادامه یافت (AOAC, 1984).

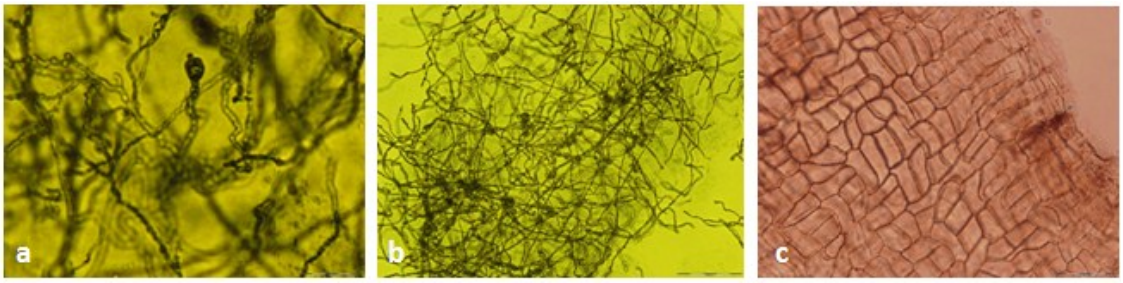
سنجش فنل کل: به منظور تهیه عصاره متانولی ابتدا نمونه‌های برگی با آسیاب برقی به خوبی پودر شدند. نمونه‌های پودر شده از الک شماره ۱۸ گذرانده شدند. نمونه‌های الک شده توزین و مقدار ۱ گرم از هر نمونه به ارلن ۵۰ میلی‌لیتری انتقال و با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط شد (نسبت ۱ به ۱۰). پس از ۲٤ ساعت عصاره متانولی حاوی نمونه با کاغذ صافی صاف شده و متانول در دستگاه روتاری اواپوراتور از نمونه جدا شد. برای اندازه گیری فنل ۰/۵ میلی‌لیتراز عصاره متانولی (۱٦۰ میلی‌گرم عصاره حل شده در ۵۰ میلی‌لیتر متانول) با ۵ میلی‌لیتر فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) مخلوط شده، سپس ٤ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار (۱۰/٦ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به نمونه اضافه شد. کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر با ترکیب متانول، فولین سیوکالتیو و کربنات سدیم انجام شد. محلول فوق ۱۵ دقیقه در تاریکی نگه داشته شده و سپس جذب آن در طول موج ۷٦۰ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت گالیک اسید استفاده گردید (McDonald et al., 2001).

سنجش فلاونوئیدها: برای اندازه‌گیری فلاونوئیدها به روش آلومینیوم کلرید (Chang et al., 2002) استفاده شد به این صورت که ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار (۲/٤۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. محلول حاصل ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شده و سپس در طول موج ٤۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد.

این تحقیق در قالب بلوک کامل تصادفی و با ۱۰ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 17 استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل معنی‌داری (LSD 5%) صورت گرفت.

نتایج

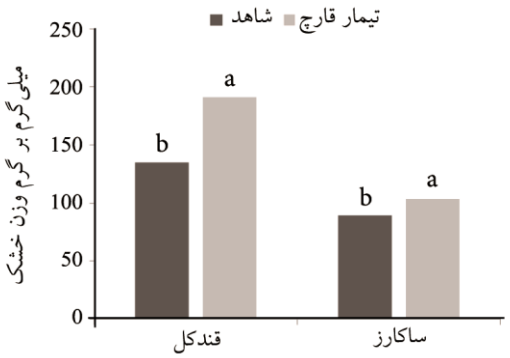
تصاویر میکروسکوپی ریشه رنگ آمیزی شده گیاهان آلوده و شاهد که در شکل ۱ آورده شده است. تصاویر نشان داد که در مقایسه با شاهد (تصویر c شکل ۱) عامل قارچ در سطح ریشه جوانه زده و گسترش سطحی داشته است.



شکل۱: تصاویر برش عرضی رنگ آمیزی شده ریشه گیاهان سالم (تصویر c) و تیمار شده (تصاویرa و b)

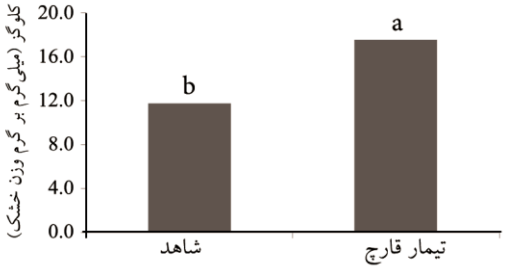
بر اساس شکل‌های ۲ تا ۷ نتایج این تحقیق نشان داد مایه‌زنی گیاه هلوی زعفرانی به قارچ پیریفورموسپرا می‌تواند بسیاری از خصوصیات کیفی میوه از جمله میزان ساکارز، قند کل و اسیدیته تأثیر بگذارد. همچنین بررسی‌ها نشان داد که میزان قند کل و ساکارز در شاهد و تیمارهای قارچ تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد دارد. همانطور که در شکل (۲) آمده است، تغییرات قند کل در میوه

درختان آلوده بـه مراتـب از انـواع شـاهد بیشـتر بـود (۱۹۱/۲ در مقابل ۱۳۵/۲ میلی‌گرم در گرم به‌ترتیب در انواع آلوده و شـاهد). نتـایج مشـابه‌ای نیـز در میـزان ساکارز مشـاهده شـد. بـه‌طـوری کـه میـزان سـاکارز میوه‌های آلـوده (۱٤/۳ میلـی‌گـرم در گـرم) بیشـتر از شاهد بود (شکل ۲).



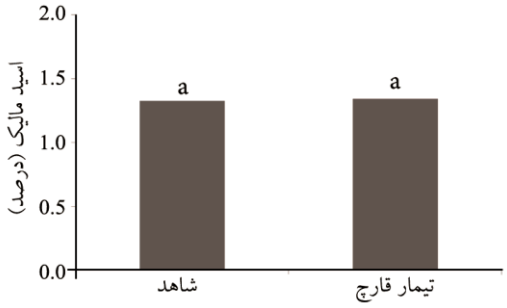
شکل ۲: میزان قند کل و ساکارز میوه نمونه‌های شاهد و تیمار با قارچ. حروف مشابه نشان دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، میزان گلوکز میوه درختان تیمار شده به صورت معنی‌داری بیشتر از انواع شاهد بود. به‌طوری‌که میزان گلوکز در مقایسه با شاهد افزایش داشت.

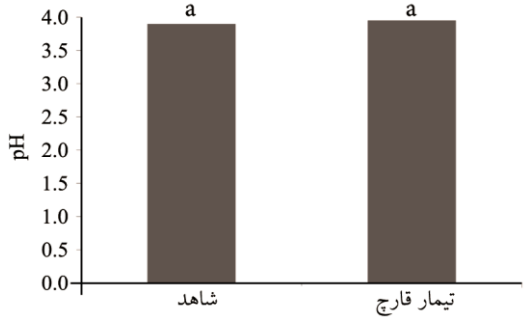


شکل ۳: تغییرات گلوکز میوه هلو در نمونه‌های شاهد و تیمار با قارچ. حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

همچنین نتایج مقایسه درصد اسید مالیک و pH میوه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های شاهد و تیمار شده وجود نداشت (شکل ٤ و ٥).



شکل ٤: تغییرات درصد اسید مالیک میوه هلو در درختان شاهد و تیمار با قارچ. حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

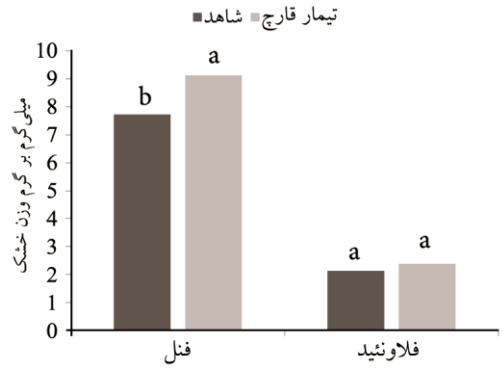


شکل ٥: تغییرات pH میوه هلو در درختان شاهد و تیمار با قارچ. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

میزان مواد جامد محلول تحت تاثیر تیمار قارچ قرار گرفت. به‌طوری که مشخص گردید مواد جامد کل میوه درختان تیمار شده با قارچ پیریفورموسپرا به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود (شکل ٦).

شکل ٦: تغییرات مواد جامد کل میوه هلو در نمونه‌های شاهد و تیمار با قارچ. حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

بررسی‌ها نشان داد که میزان فنل کل میوه در زمان رسیدن به صورت معنی‌داری تحت تأثیر تیمار قارچ پیریفورموسپرا افزایش یافت. به‌طوری‌که میزان فنل کل از ۷/۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در نمونه‌های شاهد به ۹/۱ میلی‌گرم در گرم در نمونه‌های تیمار شده افزایش یافت. در مقابل اگر چه میزان فلاونوئید کل در مقایسه با شاهد روند افزایشی داشت، با این وجود افزایش دارای تفاوت معنی داری نبود (شکل ۷).



شکل ۷: تغییرات میزان فنل کل و فلاونوئید کل میوه هلو در نمونه‌های شاهد و تیمار با قارچ. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

بحث

امروزه مشخص شده است که قارچ‌های میکوریزی به روش‌های مستقیم مانند بهبود تغذیه گیاه از طریق افزایش جذب عناصر غذایی و هم‌چنین افزایش جذب آب توسط گیاه (Smith and Read, 1997) و غیر مستقیم مانند کاهش تنش های زیستی (بیماری‌های گیاهی) (Calvet et al., 1995; Calvet et al., 2001) و غیرزیستی (شوری، خشکی، فلزات سنگین) سبب افزایش رشد گیاه میزبان می‌شوند (Feng et al., 2002; Ghazi and Karaki, 1998; Morte et al., 2000; Rabie, 2005; Ruiz-Lozano et al., 1996). پژوهش‌ها نشان داده است که پس از تلقیح قارچ، اسپور قارچ *Piriformospora indica* قادر است که در سطح ریشه گیاهان کنگر فرنگی جوانه زده و در سطح ریشه گسترش یابد و تعداد ریشه را نسبت به گیاهان غیرآلوده افزایش دهد. در تفسیر نحوه اثر عمل قارچ پیریفورموسپرا، بسیاری از محققین بر این باورند که قارچ از طریق تحریک تولید ریشه و افزایش تعداد آن و بالا بردن قدرت جذب مواد غذایی، رشد گیاه را افزایش می‌دهد (قاسم‌نژاد و بابایی‌زاد، ۱۳۹۰). قارچ‌های میکوریزا بر روابط رطوبتی گیاه نیز تأثیر می‌گذارند، بدین صورت که این قارچ‌ها با تأثیر بر میزان آب بافت‌های گیاهی و تبادلات گازی برگ‌ها، سبب افزایش میزان آب موجود در بافت های گیاهی می‌شوند و از سوی دیگر تبخیرو تعرق را نیز کاهش می‌دهند (Auge, 2001). Bagheri و همکاران (۲۰۱۳) نیز بیان کردند که گیاهان برنج تیمار شده با قارچ پیریفورموسپرا طول، وزن تر و وزن خشک شاخه بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند. همچنین با بررسی گیاهان تیمار شده با قارچ پیریفورموسپرا نسبت به شاهد، در مجموع برگ‌های پهن‌تری در گیاهان آلوده شده برنج با قارچ تولید نمودند. افزایش پهنای برگ در واقع منجر به افزایش میزان کلروفیل و در نهایت راندمان فتوسنتزی برگ شده و از این طریق علاوه بر این که به صورت مستقیم سبب افزایش عملکرد اندام رویشی می‌شود بلکه با افزایش فتوسنتز، افزایش مواد حد واسط را در

بر داشته که بیشتر آن‌ها یا به‌طور مستقیم در گروه مواد ثانویه قرار دارند و یا این که در نهایت به متابولیت‌های ثانویه در برگ کنگر فرنگی تبدیل می‌شوند (قاسم‌نژاد و بابایی‌زاد، ۱۳۹۰). افزایش قند کل چه محلول و چه نا محلول نشان دهنده بلوغ بیشتر و رسیده‌گی بالاتر میوه است. با توجه به نقشی که برای قارچ پیریفورموسپرا متصور است، به نظر می‌رسد که افزایش جذب آب و افزایش راندمان فتوسنتزی سبب تسریع رشد میوه و بلوغ سریع‌تر و در نهایت افزایش میزان قند آن شده است. Bagheri و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده کردند که گیاهان برنج تیمار شده با قارچ پیریفورموسپرا رشد ریشه، میزان پرولین و جذب آب بیشتری نسبت به شاهد را دارا بودند. فنل از اجزای اصلی تشکیل دهنده ساختار ترکیبات آنتی اکسیدانی از جمله فلاونوئیدهای و ترکیبات فنلی دیگر همچون کافئیک اسید و مشتقات آن می‌باشد. افزایش میزان فنل کل می‌تواند به‌صورت مستقیم و غیر مستقیم در افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی میوه نقش داشته باشد و از این طریق اهمیت غذایی و دارویی محصول را افزایش دهد (قاسم‌نژاد و بابایی‌زاد، ۱۳۹۰). محققین نشان دادند که گیاهان تیمار شده با قارچ پیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به شاهد دارند (Dat et al., 2000; Imlay, 2003). در گیاهان ترکیبات پلی فنلی عموما در پاسخ به تنش‌های حیاتی یا غیر حیاتی سنتز می‌شوند (Dixon and Paiva, 1995; Naczk and Shahidi, 2004). در واقع ترکیبات پلی‌فنلی مانند اسیدکافئیک نقش دفاعی در برابر رادیکال‌های فعال که در زمان اختلال متابولیسم هوازی یا فتوسنتز در مقابل استرس‌های محیطی تولید شده‌اند ایفا می‌کنند (Sreenivasulu et al., 2000). افزایش میزان مواد فنلی در گیاه هلو در تحقیق حاضر با نتایج که روی کنگر فرنگی انجام شده بود مطابقت داشت. در این راستا گزارش شده است که تلقیح قارچ پیریفورموسپرا در ریشه گیاه کنگر فرنگی باعث افزایش درصد کافئیک اسید برگ‌های جوان کنگر فرنگی می‌شود (قاسم‌نژاد و بابایی‌زاد، ۱۳۹۰). لذا مشاهده روند افزایشی میزان فنل کل تحت تأثیر تیمار قارچ می‌تواند مسیر تازه در تولید و بهره‌برداری میوه هلو باز کند.

نتیجه‌گیری

با توجه به شرایط اجرای آزمایش و استفاده از گیاهان بالغ به‌عنوان منابع آزمایشی به نظر می‌رسد استفاده از نمونه‌های دانهالی (کاشته شده با بذر) بتواند در توانمندی درخت هلو به‌عنوان میزبان مناسب این عامل همزیست بهتر مورد بررسی قرار دهد. از طرف دیگر در بررسی خصوصیات کیفی و صفات ریخت‌شناختی میوه به وضوح تفاوت معنی‌دار در اغلب موارد مورد آزمایش مشاهده شد. افزایش میزان قند کل، میزان گلوکز، ساکارز و فنل کل میوه که از فاکتورهای مهم کیفی میوه هستند نتایج این فرضیه (بلوغ سریعتر میوه) را تأیید می‌نمایند. لذا پیشنهاد می‌شود از قارچ مذکور برای بهبود کیفیت میوه و تولید ترکیبات بیوشیمیایی در برنامه به‌نژادی و دستور کار برنامه‌ریزان کشاورزی قرار گیرد.

منابع

خوشخوی، م.، شیبانی، ب.، روحانی، ا. و تفضلی، ع. (۱۳۸۵). اصول باغبانی. انتشارات دانشگاه شیراز. صفحه ۵۹۶.

رسول‌زادگان، ی. (۱۳۷۶). میوه‌کاری در مناطق معتدله (ترجمه). انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. صفحه ۷۵۶.

قاسم نژاد، ع. و بابایی زاد، و. (۱۳۹۰). رشد رویشی و میزان کافئیک اسید برگ کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) تحت تأثیر قارچ مایکوریز

Piriformospora indica. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی. جلد ۱۸. شماره ۱. صفحات ۱۴۰-۱۳۳.

AOAC. (1984). Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Washington, DC. USA. 1141.

Auge, R.M. (2001). Water relations drought and VA mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza. 11:3–42.

Bagheri, A.A., Saadatmand, S., Niknam, V., Nejadsatari, T. and Babaeizad, V. (2013). Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica* on growth and activity of antioxidant enzymes of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 1(11): 1337-1350.

Bajaj, R., Agarwal, A., Rajpal, K., Asthana, Sh., Prasad, R., Kharkwal, A., Kumar, R., Sherameti, I., Oelmüller, R. and Varma, A. (2014). Co-cultivation of *Curcuma longa* with *Piriformospora indica* enhances the yield and active ingredients. American Journal of Current Microbiology. 2(1): 1-12.

Calvet, C., Pinochet, J., Hernandez-Dorrego, A., Estan, V. and Camprubi, A. (2001). Field microplot performance of the peach-almond hybrid GF-677 after inoculation with *Arbuscular mycorrhizal* fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. Mycorrhiza. 10:295–300.

Calvet, C., Pinochet, J., Camprubi, A. and Fernandez, C. (1995). Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock. Mycorrhiza. 5:253–258.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10: 178-182.

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.

Das, A., Kamal, S., Shakil, N.A., Sherameti, I., Oelmüller, R., Dua, M., Tuteja, N., Johri, A.K. and Varma, A. (2012). The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. Plant Signal Behavior. 7(1): 103–112.

Deshmukh, S., Hückelhoven, R., Schäfer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F. and Kogel, K.H. (2006). The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. Proceedings of the National Academy of Sciences. 103: 18450-18457.

Dixon, R.A. and Paiva, N. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell. 7: 1085-1097.

Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.L., Tian, C.Y. and Tang, C. (2002). Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza. 12:185–190.

Ghazi, N. and Karaki, Al. (1998). Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal of durum wheat grown under drought stress. Mycorrhiza. 8:41–45.

Imlay, J.A. (2003). Pathways of oxidative damage. Annual Review of Microbiology. 57: 395–418.

McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry. 73:73-84.

Morte, A., Lovisolo, C. and Schubert, A. (2000). Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense*-Terfezia claveryi. Mycorrhiza. 10:115–119.

Naczk, M. and Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A. 1054: 95-111.

Ogoshii, A.K. (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and interaspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuehn. Annual Review of Phytopathology. 23:23-45.

Parmeter, J.R.J. and Whitney, H.S. (1970). Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. 7-19. In Parmeter, J., (ed.), Biology and pathology of *Rhizoctonia solani.* University of California Press, Berkeley. p. 255.

Philips, J.M. and Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of

infection. Transactions of British Mycological Society. 55:158 161.

Rabie, G.H. (2005). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and kinetin on the response of mungbean plants to irrigation with seawater. Mycorrhiza. 15:225–230.

Rai, M. and Varma, A. (2005). Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica* Nees. Electronic Journal of Biotechnology. 8 (1): 107-112.

Rai, M., Acharya, D., Archana, S. and Varma, A. (2004). Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. Mycorrhiza. 11 (3): 123-128.

Ruiz-Lozano, J.M., Azcon R. and Gomez, M. (1996). Alleviation of salt stress by arbuscular-mycorrhizal Glomus species in *Lactuca sativa* plants. Physiologia Plantarum. 98:767–772.

Sadasivam, S. and Manickam, A. (1996). Biochemical methods for agricultural sciences. New age international (p) Ltd. p.256.

Smith, S.E. and Read, D.J. (1997). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, San Diego, CA.p. 769.

Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry. 194: 19-23.

Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. and Weschke, W. (2000). Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). Physiologia Plantarum. 109(4): 435-442.

Verma, A., Verma, S., Sudha Nirmal, S., Britta, B.T. and Philipp, F. (1999). *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Applied and Environmental Microbiology. 65(6): 2741-2744.

Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hckelhoven, R., Neumann, C., von Wettstein, D., Franken, P. and Kogel, K. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proceedings of the National Academy of Sciences. 102 (38): 13386-13391.