فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال نهم، شماره ۲، بهار ۱۳۹۶

تاثیر 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[1*]، فریبا خسروی نژاد[1]

[1] گروه زیست شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

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

تاریخ دریافت : ۹۶/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۱

چکیده

تنش های 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 آنتی اکسیدان 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 ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار نمک (NaCl) انجام گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادکه قارچ *P. indica* سبب افزایش پارامترهائی رشدی مانند بیومس (زیتوده) اندام‌های هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب، محتوای پرولین و فعالیت‌های آنزیم های آنتی اکسیدانی چون گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش تولید مالون دی آلدئید (حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی) 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 (*Oriza sativa*)، تنش شوری، *Piriformospora indica*

مقدمه

شوری موجود در خاک و یا آب یکی ازمهمترین تنش‌های غیر زیستی، بخصوص در زمین‌های خشک و نیمه‌خشک می‌باشد که بطور جدی باعث محدود نمودن رشد و نمو گیاهان می‌شود [۴۳]. بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار برابر با بیش از ٦٪ زمین‌های جهان تحت تاثیر سطوح مختلف شوری هستند. در حدود ۲۰ درصد از اراضی ایران (حدود ۳٤ میلیون هکتار) تحت

تاثیر شوری قرار دارد که ۸/۵ میلیون هکتار آن شدیدا تحت تاثیر شوری است[۱و ۱۱]. 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($O_2^{\bullet -}$)، پر اکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) می‌شوند. این انواع فعال اکسیژن ممکن است منجر به آسیب سلولی از طریق اکسیداسیون لیپیدها، پروتیین‌ها و اسیدهای نوکلیک 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 [۹و ۲۸ و ۳۰ و ۳۲] .برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القاشده از شوری، گیاهان از یک سیستم آنتی اکسیدانی پیچیده استفاده می‌کنند که شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مثل کاروتنوییدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (AXP)، گلوتاتیون 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 [٤ و ۱۲ و ١٤ و ٣٤]. قارچ *P. indica* از قارچ های اندوفیت قارچ‌های بازی دومیست است که در سال ۱۹۹۸ توسط Varmaو همکاران از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی پسند کهور (*Prosopis juliflora*) و کنار (*Zizyphus nummularia*) از صحرای تار ایالت راجستان کشور هندوستان جدا سازی شد[٤٦]. 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 ۳٦]. 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 پروفسور کوگل، رئیس موسسه بیماری‌شناسی و جانورشناسی

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

پس از رشد کامل قارچ و تولید اسپور در سطح محیط کشت، مایع 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 تحریک کنندگی 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 ٤ سطح شوری (۳۰۰ mM NaCl و ۰، ۱۰۰، ۲۰۰) و ۲ سطح قارچ *P. indica* (تلقیح و تلقیح نشده (شاهد)) بودند. جهت جوانه‌زنی بذرهای 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 ۱۵٪ وایتکس نگهداری شد و نهایتا چندین مرتبه با آب مقطر سترون شده شستشو دادیم.بذرهای 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 بذرهای جوانه‌دار شده برنج (تهیه شده از موسسه تحقیقات برنج کشور) با مقداری مایه تلقیح قارچ حاوی 5×10^5 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 ٤ گیاهچه تلقیح شده با قارچ در داخل هر گلدان کاشته شد. لازم به ذکر است که در مورد تیمارهای شاهد، بذرهای جوانه دار شده برنج بدون تلقیح با اسپورهای قارچ درگلدان‌های مشابه با شرایط فوق کشت شدند. گلدان‌ها پس از کشت، به اتاق رشد با طول دوره روشنایی ١٦ ساعته و با بیشینه دمای روزانه ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه کمینه ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود۷۰ 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

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

مواد مورد نیاز	مقدار	مواد مورد نیاز	مقدار
گلوکز آگار	۲۰ گرم ۱۵ گرم	محلول نمک ۲۰x	۵۰ میلی لیتر(۱۲۰ گرم $NaNO_3$،۱۰/٤گرم KCl، ۱۰/٤ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۳۰/٤ گرم KH_2PO_4 ، آب به حجم یک لیتر)
پپتون آب	۲ گرم یک لیتر	محلول Microelement	۱ میلی لیتر (٦ گرم $MnCl_2.4H_2O$، ۱/۵ گرم H_3BO_3 ، ۲/٦۵ گرم $ZnSO_4.7H_2O$، ۲/٤ میلی گرم $NaMO_4.2H_2O$، ۷۵۰ میلی گرم KI، ۱۳۰ میلی گرم $CuSO_4.5H_2o$، آب به حجم یک لیتر)
عصاره مخمر	۱ گرم	کازامین اسید	۱ گرم

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 کلامیدوسپورهای 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 دیجیتالی اندازه گیری شد. پس از اندازه گیری وزن تر، نمونه‌ها به مدت ٤ ساعت در ظروف آب در دمای آزمایشگاه قرار داده شد و وزن نمونه ها مجدد اندازه گیری شد. بعد از این مرحله نمونه‌ها متورم شده به مدت ٤٨ ساعت در دمای ٦٥ درجه آون قرار داده شد و سپس وزن نمونه‌ها توسط ترازوی دیجیتالی تعیین گردید.

نهایتا محتوای نسبی آب نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید که در آن(RWC) محتوای نسبی آب، (FW) وزن‌تر، (DW) وزن خشک و (TW) وزن اشباع شده یا متورم شده نمونه‌ها می‌باشد (Lutts *et al.*,1999).

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

٤- 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 (۱۹٦۸) استفاده شد[۱۷].

٦- 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 (۱۹۷٤) 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 گلوتاتیون ردوکتاز (GR)

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز

با توجه به روش Rao و همکاران (۱۹۹۶) و بر اساس اکسیداسیون NADPH (با ضریب خاموشی $6.2\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) در ۳٤۰ نانومتر صورت گرفت[۳۷].

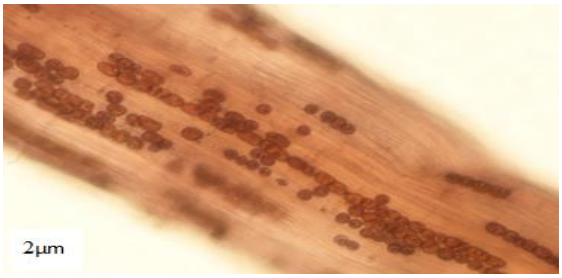
۱۰- تحلیل داده‌ها

کلیهٔ 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 $P\leq ۰/۰۵$ 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 اسپورهای قارچ *P. indica*، حاکی از توان بالای این قارچ در آلوده نمودن ریشه گیاه میزبان می‌باشد، بطوری که کلامیدوسپورهای قارچ در بافت کورتکس ریشه گیاهان تلقیح شده به صورت گرد تا گلابی شکل و زنجیره‌ای مشاهده شد. توده های هیف قارچ نیز در سطح ریشه قابل مشاهده بود در صورتیکه در ریشه‌های شاهد کلامیدوسپورها و توده های هیف مشاهده نشد (شکل ۱).



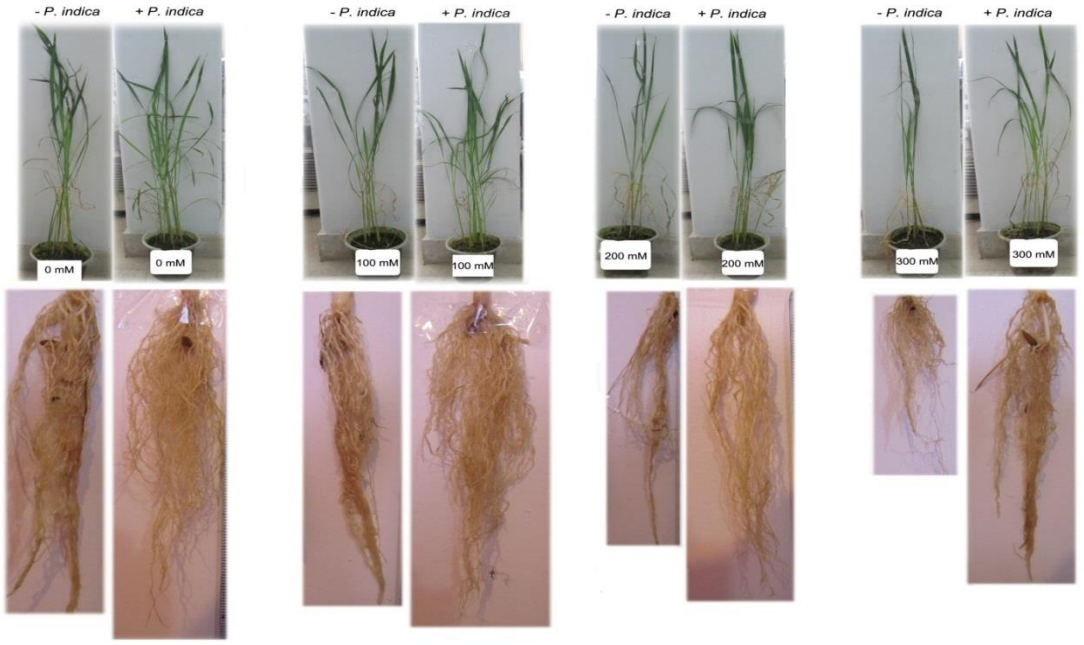
شکل ۱- بررسی میکروسکوپی ریشه برنج. کلامیدوسپورهای قارچ اندوفیت *P.indica* در بافت کورتکس ریشه برنج بصورت تکی یا زنجیره ای مشاهده می‌شوند.

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 متعاقبا بافت مردگی (Necrosis) دیده شد که البته در برنج تلقیح شده کمتر از برنج شاهد بود (شکل ۲).

وزن‌تر اندام‌های هوایی و ریشه در برنج تلقیح شده در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به ترتیب ۵۰ و ۵۳ درصد و در برنج شاهدبه ترتیب ۷٤ و۷۷ 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 ٤۷ و ٦۰ درصد و در برنج شاهد به ترتیب ۷۲ و۷۷ 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 ٤۳ درصد و در برنج شاهد به ترتیب ٤۳ و ۵۱/۵ درصد نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک یافت (جدول ۲).

نتایج حاصل از اثر تنش شوری بر محتوای نسبی آب نمونه ها نشان داد که با افزایش غلظت NaCl میزان محتوای نسبی آب در برنج تلقیح شده نسبت به برنج شاهد کاهش کمتری نشان داد، بطوریکه دراندام هدایی و ریشه برنج تلقیح شده در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار به ترتیب ۲۸ و ۳۱ درصد و در برنج شاهد به ترتیب ٤۳ و ۵۱ درصد نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک کاهش نشان داد (جدول ۳).



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

جدول ۲- مقایسه پارامترهای رشد (ارتفاع اندام های 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)		اندام های هوایی			ریشه		
		ارتفاع ساقه (سانتی متر)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	طول ریشه (سانتی متر)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
۰	-*P. indica*	۷۲ ± ۱/۶۳a	۱۳/۵ ± ۱/۶a	۴/۳ ± ۰/۹a	۱۳ ± ۰/۲۴a	۴ ± ۰/۶۶a	۱/۸ ± ۰/۲۱a
	+*P.indica*	۷۶ ± ۰/۸۱a	۱۵/۵ ± ۰/۴a	۴/۸ ± ۰/۱۶a	۱۳/۲ ± ۰/۴a	۴/۳ ± ۰/۱۶a	۲ ± ۰/۴a
۱۰۰	- *P. indica*	۶۹/۳ ± ۱/۲a	۱۰ ± ۰/۸۱a	۳/۲ ± ۰/۱۴a	۱۲ ± ۰/۲۴b	۳ ± ۰/۰۸a	۱ ± ۰/۱۴b
	+*P.indica*	۷۵ ± ۰/۸۱a	۱۳/۳ ± ۱/۲ab	۴/۳ ± ۰/۹۷ab	۱۳ ± ۰/۰۸a	۳/۸ ± ۰/۶۹ab	۱/۸ ± ۰/۳۵a
۲۰۰	-*P. indica*	۵۴ ± ۲/۱۶b	۶ ± ۰/۵۷b	۱/۷ ± ۰/۱۶bc	۸/۷۳ ± ۰/۱c	۱/۵ ± ۰/۲۷b	۰/۶ ± ۰/۰۴c
	+*P.indica*	۶۹ ± ۰/۸۱b	۱۱ ± ۰/۸۱bc	۲/۹ ± ۰/۴۷ab	۱۰ ± ۰/۱۲b	۳/۱ ± ۰/۲۱b	۱/۳ ±۰/۲۹ab
۳۰۰	- *P. indica*	۴۱ ± ۰/۸c	۳/۵ ± ۰/۲۴C	۱/۲ ± ۰/۴۲bc	۶/۳ ± ۰/۱d	۰/۹ ± ۰/۲۴bc	۰/۴ ±۰/۲۱cd
	+*P.indica*	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 نظرآماری تفاوت معنی‌داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.

۳- محتوای پرولین

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 دربرنج تلقیح شده با *P.indica* بسیار شدیدتر از برنج شاهد در تمامی تیمارهای نمک بود، بطوری که درغلظت ۳۰۰ میلی مولار نمک محتوای پرولین اندام هوایی و ریشه برنج تلقیح شده به ترتیب ۳و۵/۸ برابر و در برنج شاهد به ترتیب ۲ و ۳/۳ برابرنسبت به تیمار صفر میلی

مولار نمک افزایش نشان داد (جدول ۳).

٤- *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 دربرنج شاهد شدیدتر از برنج تلقیح شده می باشد که نشان دهنده تخریب بیشتر لیپیدهای غشایی تحت شرایط تنشی می باشد، بطوری که درغلظت ۳۰۰ میلی مولار NaCl، محتوای مالون دی آلدئید اندام هوایی و ریشه برنج تلقیح شده به ترتیب ۱/۸و۵/۲ برابر و دربرنج شاهد به ترتیب ۳/٦ و ۹/۸ برابرنسبت به فعالیت آن در تیمار صفر میلی مولار نمک افزایش نشان داد (جدول ۳).

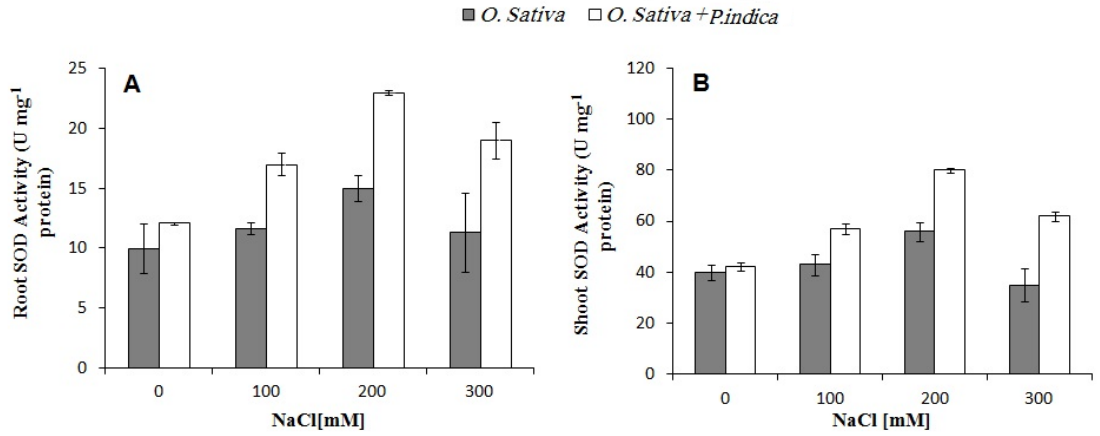
۱- آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز(SOD)

نتایج بدست آمده نشان داد که فعالیت این آنزیم از صفرتا 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 ۱/٤ و۱/۵ برابر نسبت به فعالیت آن در تیمار صفر میلی مولار نمک از خود نشان داد. در ضمن در تمام تیمارها فعالیت این آنریم در برنج تلقیح شده بیشتر از برنج شاهد بود (شکل 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		
		پرولین (µmol/g FW)	مالون دی آلدئید (µmol/g FW)	محتوای نسبی آب (%)	پرولین (µmol/g FW)	مالون دی‌آلدئید (µmol/g FW)	محتوای نسبی آب (%)
۰	-*P. indica*	۱۵۰ ± ۹/۰۹c	۵۳ ± ۷/۱۱c	۸۶/۳ ± ۱/۳a	۴۳ ± ۲/۲۷c	۱۰/۷۵ ± ۲/۸d	۷۱ ± ۳a
	+*P.indica*	۱۶۳ ± ۹/۶d	۵۰ ± ۹/۶cd	۹۵ ± ۲/۱a	۴۶ ± ۷/۳c	۲/۸۵±۱۰c	۷۵ ± ۳/۵a
۱۰۰	- *P. indica*	۱۸۰ ± ۳۷bc	۷۷± ۱۵/۷۶c	۸۱/۷ ± ۲/۰۵a	۵۰ ± ۸/۱۶c	۲۷ ± ۱/۶۳c	۶۶ ± ۲/۵a
	+*P.indica*	۲۷۱ ± ۳۸c	۵۵ ± ۷/۸bc	۸۶/۶ ± ۴/۰۲ab	۸۰ ± ۲۹/۴c	۱۴/۲ ± ۲/۶۸c	۶۹ ±۳/۱a
۲۰۰	-*P. indica*	۲۲۰ ± ۸/۱abc	۱۴۰ ± ۸/۶b	۵۴ ± ۱/۶۳b	۸۸ ± ۱۴/۹b	۷۱/۳± ۲/۰۵b	۳۷ ± ۲/۶۲bc
	+*P.indica*	۳۴۹ ± ۳/۳b	۷۰ ± ۷/۱۱bc	۸۰/۶ ± ۳/۱bc	۲۱۷ ± ۱۴b	۲۴ ± ۰/۸۱b	۶۷ ± ۳/۹a
۳۰۰	- *P. indica*	۳۰۰ ± ۵۷ab	۴/۰۸ ± ۱۹۰a	۴۰/۳ ± ۱/۲۴c	۱۴۳ ± ۲/۹۴a	۱۰۵/۶ ± ۳/۳a	۳۲ ± ۱/۳bc
	+*P.indica*	۴۹۰ ± ۴۵a	۹۰ ± ۸/۱۶a	۷۵/۳۳ ± ۳/۷bc	۲۶۶ ± ۱۶a	۵۲ ± ۹/۷۹a	۵۴ ± ۲/۵b

گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظرآماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.



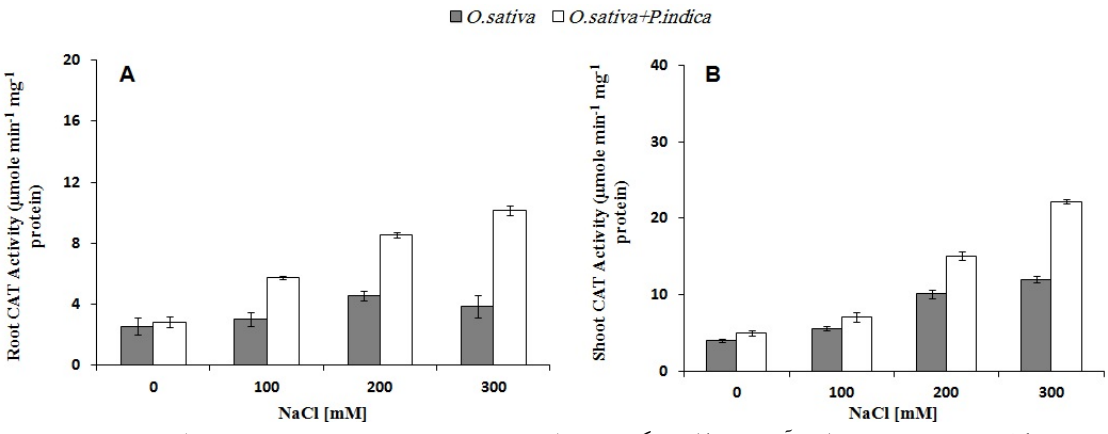
شکل۳- مقایسه میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه برنج تلقیح شده با *P.indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری.گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظرآماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.

۲- آنزیم کاتالاز(CAT)

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 ٤/٥ و٣/٦ برابر و در اندام‌های هوایی برنج شاهد۳ 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 کاهشی در فعالیت آنزیم کاتالاز دیده شد (شکل ٤).

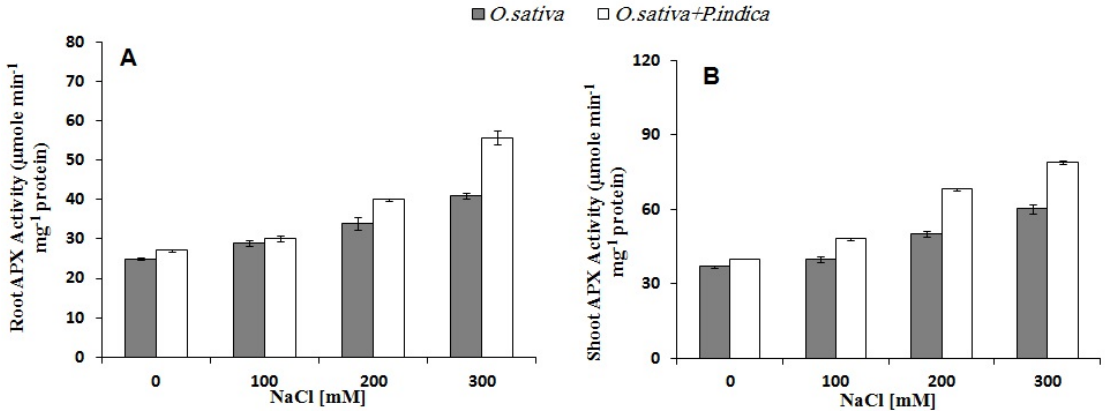
۳- آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

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 اندام های هوایی و ریشه برنج تلقیح شده به ترتیب ۲/٦ و ۲/۳ برابر و در اندام‌های هوایی و ریشه برنج شاهد به ترتیب ۱/٦و۱/۷ برابر نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک از خود نشان داد (شکل ٥).



شکل٤- مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز 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 ۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظرآماری تفاوت معنی‌داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.



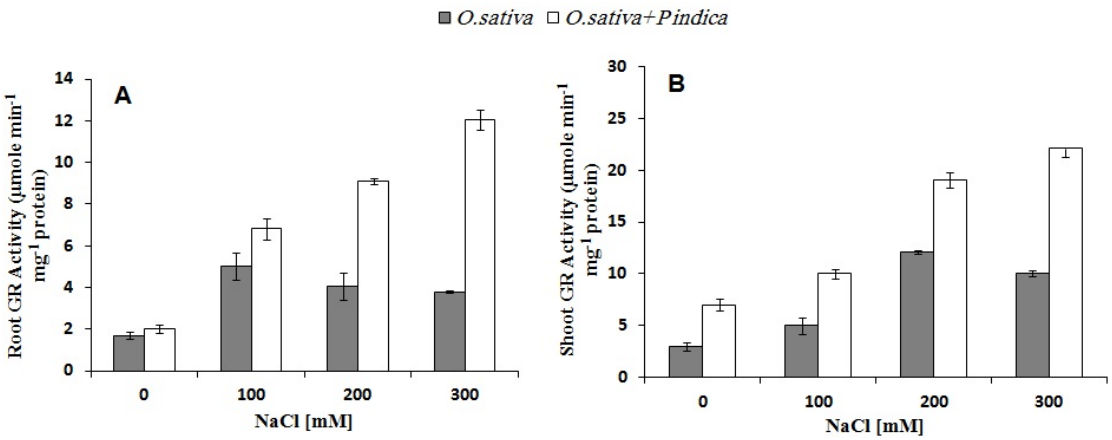
شکل ۵- مقایسه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه برنج تلقیح شده با *P.indica* با برنج شاهد در شرایط تنش شوری.گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظرآماری تفاوت معنی‌داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.

٤- آنزیم گلوتاتیون 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 اندام‌های هوایی و ریشه به ترتیب ۳/۲ و ٦ 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 مولار روند کاهشی در فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز دیده شد (شکل ٦).

بحث

ایران از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه‌خشک دنیا قراردارد، از این‌رو شوری خاک و آب آبیاری یکی از مشکلات عمده پیش روی زراعت کشور است. شوری آب وخاک سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌شود [۴۱]. یکی از راهکارهای اساسی گیاهان برای به



شکل٦- مقایسه میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون 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 ۵٪ صورت گرفته است. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظرآماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف معیار می باشند.

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 ٤٠] . 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 طورکلی، کاهش موارد فوق در برنج‌های تلقیح شده با قارچ اندوفیت *P.indica*، کمتر از برنج_های شاهد در تمامی تیمارها بود. تأثیر تلقیح قارچ *P. indica* در افزایش توده زنده گیاهان ذرت (*Zea mays* L.) توتون (*Nicotiana tabaccum*)، جعفری (*Petroselinum crispum* L.)، درمنه، (*Artemisia* L.) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri* L.) توسط Vermaو 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 محلول‌های سازگار از قبیل پرولین، گلایسین بتائین و پلی اول‌ها 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 می کند، بطوری که میزان تجمع پرولین درگیاهان تحت شرایط تنش شوری رابطه مستقیم با میزان تحمل به شوری دارد [۵ و ٤٥] . با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، افزایش محتوای پرولین با افزایش تنش شوری در هردو 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 احتمالا قارچ اندوفیت *P.indica* با مکانیسم‌های ناشناخته فیزیولوژیکیامولکولی موجب افزایش سنتز پرولین در سلول های گیاه برنج و نهایتا موجب کاهش اثر مخرب تنش شوری و مقاومت گیاه برنج می‌شود[۴۴]. یکی ازموارد آسیب اکسیداتیو حاصل از شرایط تنش شوری، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می باشد که منجر به تولید مالون دی آلدئید 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 دی آلدئید 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 آنتی اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار

می‌آید [۱۰ و ۱۸ و ٤۲.]

گزارش‌های زیادی در مورد نقش قارچ‌های میکوریزی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی 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 ٤۷ و ۵۰] .

با افزایش میزان شوری، سیستم آنتی اکسیدان 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 [٦ 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 میابد. 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 آنتی اکسیدان 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 بافعالیت 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، گلوتاتیون 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 گلوتاتیون 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

[۲۶ و ۵۱]. علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در حضور قارچ اندوفیت *P.indica* هنوز مشخص نشده است اما بحر حال احتمالا این قارچ ها از راه فعال کردن مکانیسم های متنوعی که هنوز کاملا مشخص نیست موجب افزایش مثبت ویژگی‌های مرفولوژیکی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان همزیست شده می‌شوند [۴۰].

نتیجه‌گیری

امید است با جمع‌آوری جدایه‌های بومی قارچ *P. indica* به‌منظور غنی‌تر نمودن بانک میکروارگانیسم‌های 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 فیزیولوژیک 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 بین المللی 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 tolorance 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 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 atdifferent salinity levels. Plant Soil, 273:245-256.

[5] Ashraf M., Foolad MR. 2007, Roles of glycine betaine and proline inimproving 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] BatesLS., 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., Hasheminejhad 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.

[12] Colla G., Rouphael Y., CardarelliM., Tullio M., Rivera CM., Rea E.2008, Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchiniplants grown at low and highphosphorus 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/Naratios 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, Photoperoxidarion 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 ofsalinity on the in vitro development of*Glomus intraradices* and on the in vivoPhysiological and molecular responsesof 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., KishanH., Bhoon, YK and Varma A. 2003, Colonization of cruciferous plants by *Piriformospopra 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 prolin 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 resistanceand plant growth revised. Plant Celland 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 developmentof salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. African Journal of Biotechnolgy,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] RodriguezRJ., 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 symbiosesin 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 activiy 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 andEnvironmental 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 anddifferent mycorrhizal inoculate on plant growth and mycorrhizal developmentin 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 resistanceand 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 inducedchanges of the H+-ATPase in root plasma membrane of two wheat cultivars. Plant Science, 166: 913–918.