



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵
صفحه‌های ۶۵۳-۶۳۹

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا در واکنش به تلقیح قارچ *Piriformospora indica* تحت تنش شوری

زهرا نوری آکندی^۱، همت‌اله پیردشتی^{۲*}، یاسر یعقوبیان^۳ و ولی‌اله قاسمی عمران^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری - ایران
۲. دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری - ایران
۳. دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز - ایران
۴. استادیار پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری - ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۶/۰۸

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۲۴

چکیده

به منظور بررسی اثر همزیستی قارچ *Piriformospora indica* بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام شد. عامل‌های آزمایش شامل تنش شوری در شش سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار NaCl) و تیمار همزیستی قارچی در دو سطح عدم تلقیح و تلقیح قارچ *P. indica* بود. روند تغییرات غلظت پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد به صورت خطی و افزایشی و در تیمار تلقیح با قارچ به صورت دوتکه‌ای بود، به طوری که در تیمار تلقیح در سطوح پایین تنش این میزان کاهش یافت. روند تغییرات کلروفیل a، b و کلروفیل a+b در هر دو تیمار عدم تلقیح و تلقیح قارچ به صورت معادله‌ی دوتکه‌ای بود. با این وجود، محتوای کاروتنوئید با افزایش تنش شوری در تیمار تلقیح و عدم تلقیح به صورت خطی (به ترتیب با شیب ۰/۰۰۷- و ۰/۰۰۵-) کاهش یافت. در مجموع، نتایج نشان داد که قارچ *P. indica* در سطوح پایین شوری احتمالاً از طریق کاهش غلظت پراکسید هیدروژن (دو درصد تا سطح ۱۲۴ میلی‌مولار شوری) و مالون‌دی‌آلدهید (۱۷ درصد تا سطح ۵۰ میلی‌مولار شوری) و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی سبب افزایش نسبی تحمل به تنش در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد شد.

کلیدواژه‌ها: تجزیه رگرسیون، قارچ همزیست، کاتالاز، کلروفیل، مالون‌دی‌آلدهید

۱. مقدمه

شوری به عنوان یکی از شایع‌ترین تنش‌های محیطی با محدود نمودن رشد و نمو گیاه، تولید موفقیت‌آمیز محصولات زراعی را به مخاطره انداخته است [۴۲] و یکی از چالش‌های مهم جهت تولید محصولات زراعی به‌ویژه در کشورهایی است که کشاورزی از طریق آبیاری انجام می‌گیرد [۲۶]. کاهش زیست‌توده تولیدی، کم شدن کارایی فتوسنتز و تغییر در میزان آماس برگ از اثرات اولیه شوری در گیاهان است [۲۵]. همچنین در طی تنش، همه فرآیندهای اصلی گیاه از قبیل تولید انرژی، متابولیسم چربی‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر قرار می‌گیرند [۴۳]. تنش اسمزی از اثرات ثانویه حاصل از شوری است که سبب وقوع تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود [۲۶]. صدمات تنش اکسیداتیو در اثر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH^\cdot) و سایر رادیکال‌های آزاد می‌باشد که به وسیله احیای متوالی اکسیژن تولید می‌شود. گیاهان برای کاستن از اثرات مخرب گونه‌های اکسیژن فعال مکانیسم‌های متفاوتی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی اشاره کرد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز هستند که در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند، همچنین به عنوان مهم‌ترین ترکیبات و اولین راه دفاعی در برابر صدمات وارده می‌باشند [۲۸].

امروزه استفاده از روش‌های زیستی مبتنی بر استفاده از پتانسیل ارگانسیم‌های مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، به عنوان راهکاری مؤثر در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی عنوان شده‌است [۱] و [۹]. قارچ‌های همزیست به صورت مستقیم همانند بهبود تغذیه

گیاهان از طریق جذب عناصر غذایی و همچنین افزایش جذب آب توسط گیاه و غیرمستقیم همانند کاهش تنش‌های زیستی (بیماری‌های گیاهی) و غیرزیستی (شوری، خشکی، فلزات سنگین و غیره)، سبب افزایش رشد گیاه میزبان می‌شوند [۱۵]، وجود این قارچ‌ها در خاک‌های شور و ایجاد همزیستی با ریشه بسیاری از گیاهان در این شرایط نشان می‌دهد که احتمالاً برخی از این قارچ‌ها در برابر تنش شوری مقاوم بوده و در همزیستی با گیاهان، از طریق بهبود رشد گیاه، تحمل آنها را در برابر شوری افزایش می‌دهند [۴۵]. قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* از جمله میکروارگانسیم‌های مفید خاکزی در همزیستی با گیاهان است که ضمن بهبود تحمل در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی [۴ و ۳۳] سبب افزایش رشد رویشی و عملکرد آن‌ها می‌شود [۲۷]. در همین راستا، قارچ *P. indica* علاوه بر تحمل سطوح بالای شوری موجب بهبود مقاومت گیاه میزبان از راه‌های مختلف نظیر افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسمولیت‌ها (به‌خصوص پرولین) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی موجب افزایش تحمل به شوری در گیاه میزبان نیز می‌شود [۴۶] و [۴۷]. تلقیح استویا با *P. indica* سبب افزایش عملکرد رویشی در این گیاه می‌شود [۴۱].

استویا (*Stevia rebaudiana* B.) گیاه علفی متعلق به خانواده آستراسه (Astraceae)، بومی مناطق شمالی آمریکای جنوبی، پاراگوئه و برزیل است [۲۴]. ویژگی جالب توجه این گیاه شیرینی زیاد برگ‌ها و عصاره آبی آن می‌باشد که در عین حال مناسب برای افرادی است که از بیماری‌هایی نظیر دیابت، هیپوگلیسمی (افت قند خون) و فشار خون بالا رنج می‌برند [۲۲، ۲۳ و ۲۴]. قند استویا می‌تواند در جایگزینی شیرین‌کننده‌های مصنوعی به کار رود، بدون اینکه اثرات سوء ناشی از مصرف این شیرین‌کننده‌ها و اثرات جانبی کلپوی یا نورولوژیکی آن‌ها

به‌زراعی کشاورزی

۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از رشد و ریشه‌دهی گیاهان در مدت ۱۴ روز، ریشه‌ی این گیاهان به مدت ۳۰ ثانیه با سوسپانسیون قارچ *P. indica* آغشته و در محیط کشت‌های حاوی تیمارهای مختلف شوری واکنش شدند. در نهایت، ۲۰ روز پس از رشد، نمونه‌برداری از برگ‌های بالای گیاه صورت گرفته و رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از روش پورا اندازه‌گیری شد [۳۰].

میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از روش الکسیوا و همکاران [۸] و براساس واکنش H_2O_2 با یدیدپتاسیم (KI) تعیین گردید. در این روش، ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ در ۵ میلی‌لیتر TCA ۰/۱ درصد در حمام آب یخ ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در $g\ 12000$ سانتریفیوژ گردید. سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار و اسیدیت ۷/۵ و ۱ میلی‌لیتر یدیدپتاسیم یک مولار اضافه گردید. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت و جذب نمونه‌ها نیز در 390 نانومتر اندازه‌گیری شد.

پراکسیداسیون لیپیدی غشاء بر اساس روش استوارت و بولی اندازه‌گیری شد [۳۸]. ۰/۵ گرم از برگ‌های گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک‌اسید هموزن و به مدت ۱۰ دقیقه در $g\ 15000$ سانتریفیوژ گردید. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد تری‌کلرواستیک‌اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل شد. نمونه‌ها مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در $g\ 10000$ سانتریفیوژ شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید و میزان پراکسید شدن لیپیدها با استفاده از اختلاف بین طول موج‌های جذبی و ضریب خاموشی $1\ cm^{-1}\ 155\ mmol^{-1}$ به دست آمد.

را داشته باشد. هرچند استویا می‌تواند تحت شرایط مختلف آب و هوایی و خاک، به طور موفقیت‌آمیزی رشد کند [۱۷]، اما حساسیت یا تحمل به تنش شوری آن دقیقاً مشخص نشده است [۱۳]. افزایش شوری آب آبیاری موجب کاهش رشد رویشی استویا، از جمله تعداد شاخه، تعداد و سطح برگ و وزن تر و خشک ساقه و برگ گردید [۱۴]. همچنین، در آزمایش دیگری نیز افزایش غلظت شوری از ۰ تا ۱۲۵ میلی‌مولار، افزایش میزان قند و پرولین و کاهش میزان کلروفیل این گیاه را به دنبال داشت [۱۳]. بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر همزیستی قارچ *P. indica* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان مالون‌دی‌آلدهید، پرکسید هیدروژن و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا تحت تنش شوری در شرایط کنترل شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار، در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۳ انجام شد. عامل‌های آزمایش شامل تنش شوری در شش سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار NaCl) و تیمار همزیستی قارچی شامل دو سطح (عدم تلقیح و تلقیح قارچ اندوفیت *P. indica*) بود. قارچ *P. indica* در محیط کشت مایع کفر^۱ [۱۹] و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد به مدت دو هفته کشت شد. به منظور فراهم‌سازی نمونه‌های گیاهی مورد استفاده در این تحقیق، ریزنمونه‌های جوانه‌ی انتهایی به طول ۲ سانتی‌متر از گیاهچه‌های رشدیافته در شرایط درون‌شیشه‌ای تحت شرایط استریل جداسازی شد و در محیط MS کشت گردید. ریزنمونه‌ها در اتاق کشت با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای

1. Kaefer

دوتکه‌ای (معادله ۵) پیشنهاد شده توسط سلطانی و همکاران استفاده شد [۳۷].

$$y = b_1x + a \quad (4)$$

$$y = b_1x + a \quad \text{if } x \leq x_0 \quad (5)$$

$$y = (b_1x_0 + a) + b_2(x - x_0) \quad \text{if } x > x_0$$

در این رابطه‌ها، y مقدار پیش‌بینی شده برای صفات مورد نظر، a مقدار ثابت در غلظت صفر شوری، x غلظت شوری در محیط کشت، x_0 نقطه چرخش بین دو فاز معادله و b_1 و b_2 شیب تغییرات صفات (کاهشی یا افزایشی) به ترتیب در فاز یک و دو معادله هستند. رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس رگرسیون داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر تنش شوری چه در سطح تیمار شاهد (عدم تلقیح) و چه در تیمار تلقیح با قارچ *P. indica* بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و همچنین غلظت پراکسیدهیدروژن و میزان مالون‌دی‌آلدهید تأثیر معنی‌داری داشته است (جدول ۱). با افزایش تنش شوری روند تغییرات غلظت پراکسیدهیدروژن در تیمار عدم تلقیح قارچ به صورت خطی ($R^2 = 0/696$) و با شیب $0/0026$ واحد افزایش یافت، اما در شرایط تلقیح شده با قارچ در ابتدا و تا سطح 124 میلی‌مولار شوری نسبتاً ثابت بوده و با افزایش سطح شوری از 124 تا 250 میلی‌مولار با شیب $0/0045$ واحد افزایش یافت ($R^2 = 0/961$) (شکل ۱-الف و جدول ۲). براساس یافته‌ها، در گیاهان تلقیح شده با قارچ غلظت H_2O_2 تا سطح 124 میلی‌مولار شوری به میزان حدود 10 درصد کاهش یافت.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز براساس روش بوچمپ و فریدویچ انجام شد [۱۱]. محلول واکنش در حجم نهایی یک میلی‌لیتر برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شامل 835 میکرولیتر بافر فسفات سدیم 50 میلی‌مولار ($pH=8$)، 33 میکرولیتر نیتروبلوترازولیوم $0/75$ میلی‌مولار، 33 میکرولیتر ریبولوین و 33 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به تیمار شاهد به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (PAN 2500-Walz, germany) در طول موج 560 نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

فعالیت کاتالاز به روش ابی [۷] اندازه‌گیری شد که بر پایه تجزیه پراکسیدهیدروژن توسط آنزیم کاتالاز استوار است. مخلوط واکنش شامل 3 میلی‌لیتر بافر فسفات 50 میلی‌مولار، 10 میکرولیتر پراکسید هیدروژن 15 میلی‌مولار و 50 میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج 240 نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

کمپلکس واکنش آنزیم پراکسیداز (دو میلی‌لیتر) شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات 100 میلی‌مولار ($pH=7$)، 250 میکرولیتر EDTA $0/1$ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر گایاکول 5 میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن 15 مولار و 50 میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. واکنش با اضافه کردن محلول آنزیمی شروع شده و افزایش جذب در طول موج 470 نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد [۴۰].

درنهایت، داده‌های آنزیمی و رنگیزه‌های فتوستتزی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه و تحلیل شدند [۳۴]. برای توصیف تغییرات آنزیمی و رنگیزه‌های فتوستتزی از معادلات خطی (معادله ۴) و

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوستتزی گیاه دارویی استویا در واکنش به تلقیح ...

جدول ۱. تجزیه واریانس رگرسیون اثر قارچ *P. indica* و سطوح مختلف شوری بر غلظت پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدید و فعالیت آنزیمی در گیاه استویا

| منابع تغییرات | درجه آزادی | | پراکسید هیدروژن | | مالون دی‌آلدید | | سوپراکسید دیسموتاز | | کاتالاز | | گیاکول پراکسیداز | |
|------------------|------------|---------|-----------------|---------|----------------|---------|--------------------|---------|----------|----------|------------------|---------|
| | تلقیح | با قارچ | تلقیح | با قارچ | تلقیح | با قارچ | تلقیح | با قارچ | تلقیح | با قارچ | تلقیح | با قارچ |
| رگرسیون | ۰/۲۸۹* | ۰/۲۶۴** | ۱۲۷/۴* | ۴۲۶/۳** | ۰/۰۵۳** | ۰/۱۱۲** | ۰/۳۰۲** | ۰/۳۳۶** | ۲۴۵۵/۴** | ۱۴۲۰/۸** | ۳۲/۶۲ | ۹/۴۴ |
| باقی مانده | ۰/۰۳۲ | ۰/۰۱۶ | ۷/۷۷۴ | ۱۴/۳۴ | ۰/۰۰۱۲ | ۰/۰۰۰۴ | ۰/۰۰۰۵ | ۰/۰۰۰۹ | ۳۲/۶۲ | ۴۹/۱۱۴ | ۳۲/۶۲ | ۳۲/۶۲ |
| ضریب تغییرات (I) | ۲۳/۲۱ | ۷/۶۰ | ۳/۹۶ | ۵/۹۰ | ۶/۱۱ | ۴/۲۳ | ۸/۲۸ | ۵/۸۵ | ۹/۴۴ | ۱۳/۶۶ | ۳۲/۶۲ | ۹/۴۴ |

* و ** - به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد

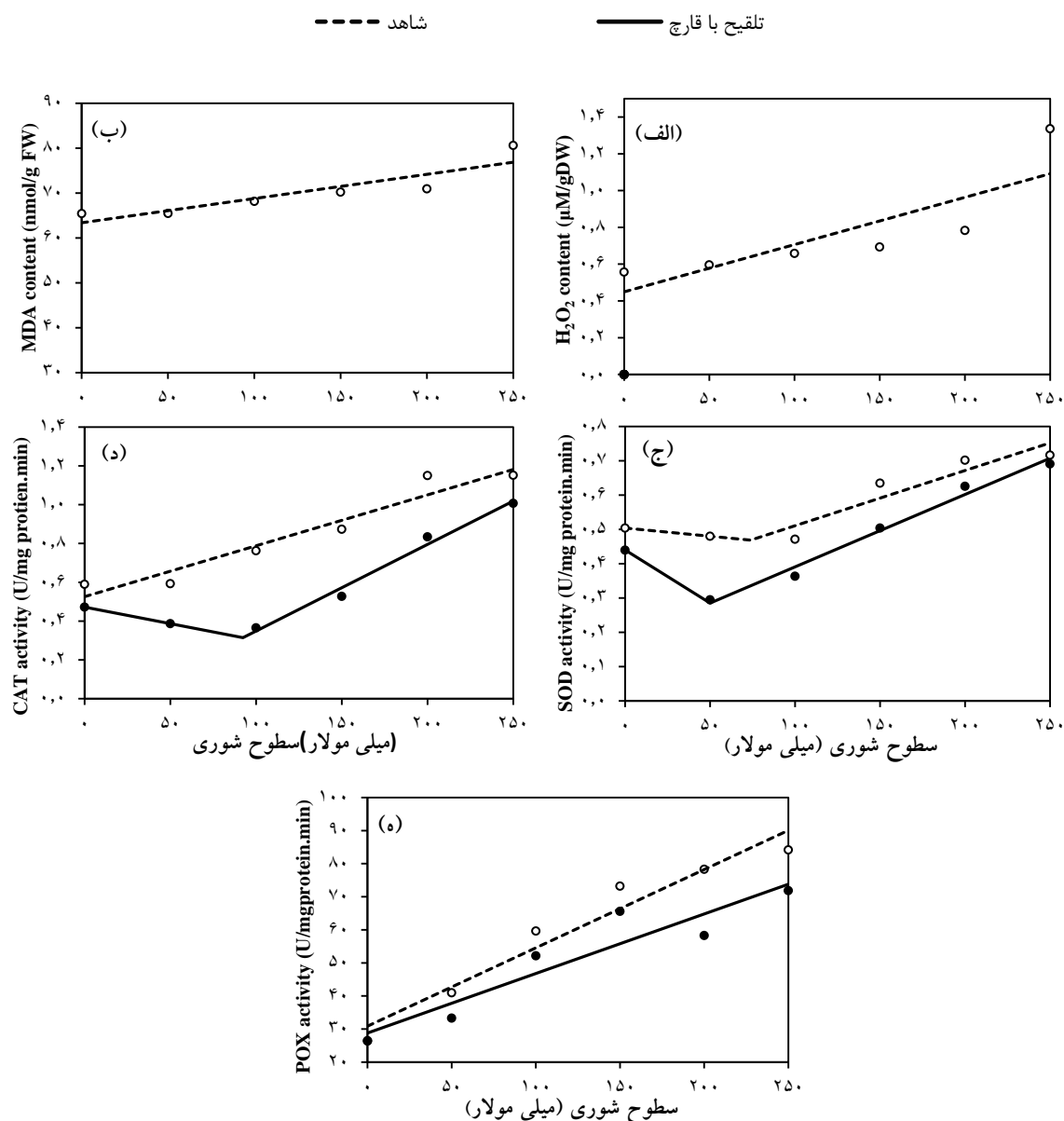
روند تغییرات فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نیز در تیمار شاهد ($R^2=0/912$) و هم در تلقیح قارچ ($R^2=0/912$) به صورت معادله‌ی دو تکه‌ای بیان شد. میزان فعالیت این آنزیم در تیمار شاهد تا سطح ۷۴ میلی‌مولار شوری به میزان ۷ درصد نسبت به سطح صفر شوری کاهش یافت. این امر در حالی است که در گیاهان تلقیح شده با قارچ شیب کاهشی بیشتر بود، به طوری که میزان فعالیت این آنزیم تا سطح ۵۰ میلی‌مولار شوری تا ۳۳ درصد کاهش یافت (شکل ۱- ج و جدول ۲). بر اساس نتایج حاصل، فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش میزان NaCl در گیاهان تلقیح نشده به طور خطی ($R^2=0/933$) و با شیب ۰/۰۰۲۶ واحد افزایش یافت، اما در تیمار تلقیح شده با قارچ، فعالیت این آنزیم به صورت نمودار دو تکه‌ای ($R^2=0/988$) تغییر یافت. بر این اساس، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تا سطح شوری ۹۲ میلی‌مولار کاهش یافت اما با افزایش بیشتر سطح شوری از ۹۲ میلی‌مولار فعالیت این آنزیم نسبت به سطح صفر شوری به میزان ۵۳ درصد افزایش یافت (شکل ۱- د و جدول ۲).

در گیاهان تلقیح نشده میزان مالون‌دی‌آلدهید به صورت خطی افزایش یافت، به طوری که این افزایش تا سطح ۲۵۰ میلی‌مولار شوری به ۲۳ درصد رسید که این امر نشان‌دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در سطوح بالای تنش بوده است. بررسی غلظت مالون‌دی‌آلدهید بافت گیاهی می‌تواند بیانگر میزان تخریب غشا سلولی باشد، زیرا این ترکیب تحت تأثیر تخریب و پراکسیده شدن غشا سلولی آزاد می‌شود [۱۲]. غلظت مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان همزیست شده با قارچ تا سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد ۱۷ درصد کمتر شد، اما با افزایش شوری بیش از ۵۰ میلی‌مولار حتی در حضور قارچ غلظت مالون‌دی‌آلدهید افزایش یافت (شکل ۱- ب و جدول ۲). با این وجود، محتوی مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان تلقیح شده کمتر از گیاهان شاهد بود که بیانگر کارایی قارچ *P. indica* در کاهش پراکسیداسیون غشاء به ویژه در دامنه‌های پایین تنش شوری است. کاهش نسبی مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* توسط محققین در گندم [۴۴] و کلم چینی [۳۹] تحت تنش خشکی و ذرت [۴۸] تحت تنش سرما نیز مشاهده شده است.

جدول ۲. معادله مناسب توصیف‌کننده رابطه تیمارهای شاهد و تلقیح با قارچ در غلظت‌های شوری

| تلقیح با قارچ | شاهد | صفت |
|--|--|--------------------|
| $x \leq 123.8$ گر $y = -0.0001x + 0.5158$ $x > 123.8$ گر $y = 0.00454x + 0.5034$ $R^2 = 0.961$ $P = 0.0006$ $CV = 7.60$ | $y = 0.0026x + 0.4496$ $R^2 = 0.695$ $P = 0.039$ $CV = 23.21$ | پراکسید هیدروژن |
| $x \leq 50$ گر $y = -0.201x + 60.96$ $x > 50$ گر $y = 0.1388x + 50.91$ $R^2 = 0.883$ $P = 0.0053$ $CV = 5.90$ | $y = 0.054x + 63.391$ $R^2 = 0.803$ $P = 0.015$ $CV = 3.96$ | مالون دی آلدهید |
| $x \leq 50$ گر $y = -0.00309x + 0.4397$ $x > 50$ گر $y = 0.00211x + 0.2852$ $R^2 = 0.985$ $P = 0 < 0.0001$ $CV = 4.23$ | $x \leq 73.87$ گر $y = -0.00048x + 0.504$ $x > 73.87$ گر $y = 0.00161x + 0.4685$ $R^2 = 0.912$ $P = 0.003$ $CV = 6.11$ | سوپراکسید دیسموتاز |
| $x \leq 92.35$ گر $y = 0.00171x + 0.472$ -y = $x > 92.35$ گر $y = 0.00447x + 0.314$ $R^2 = 0.988$ $P < 0.0001$ $CV = 5.15$ | $y = 0.0026x + 0.5255$ $R^2 = 0.932$ $P = 0.002$ $CV = 8.28$ | کاتالاز |
| $y = 0.1802x + 28.775$ $R^2 = 0.878$ $P = 0.006$ $CV = 13.66$ | $y = 0.2369x + 30.856$ $R^2 = 0.949$ $P = 0.001$ $CV = 9.44$ | گایاکول پراکسیداز |

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا در واکنش به تلقیح ...



شکل ۱. روند پاسخ میزان پراکسید هیدروژن (الف)، مالون دی آلدئید (ب) و آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (ج)، کاتالاز (د) و پراکسیداز (ه) گیاه استویا به سطوح مختلف شوری در شرایط شاهد و تلقیح با *P. indica*

وجود در گیاهان شاهد شیب افزایشی (با شیب ۰/۲۳۷ واحد) بیشتری نسبت به گیاهان همزیست شده با قارچ (با شیب ۰/۱۸ واحد) بود مشاهده شد (شکل ۱-ه و جدول

میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با افزایش تنش هم در تیمار عدم تلقیح ($R^2=0/949$) و هم در تیمار تلقیح با قارچ ($R^2=0/878$) به طور خطی افزایش یافت. با این

به زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

زهرا نوری آکندی و همکاران

غیرمیزبان، کاهش می‌دهند، زیرا معمولاً گیاهان تلقیح شده با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان تلقیح نشده، قادرند از شرایط تنش تا حدودی فرار کنند و کم‌تر دچار آسیب شوند. در نتیجه میزان پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به گیاهان تلقیح نشده، افزایش کم‌تری نشان می‌دهد [۲۹].

نتایج حاصل از تجزیه واریانس رگرسیون داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که تنش شوری هم در سطح شاهد و هم در سطح تلقیح شده با قارچ *P. indica* بر محتوای کلروفیل a, b, a+b و در سطح یک درصد و بر محتوای کاروتنوئید در سطح پنج درصد اثر معنی‌داری داشت (جدول ۳).

(۲). در نتایج دیگر تحقیقات، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در تنش خشکی گزارش شده است [۲۱، ۳۹ و ۴۴]. به‌طورکلی، مکانیسم اثر قارچ *P. indica* بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان تلقیح شده تحت شرایط تنش شناخته شده نیست، اما می‌توان اظهار داشت که قارچ *P. indica* به‌طور مستقیم باعث خستگی کردن فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه می‌شود [۳۹]. همچنین، *P. indica* از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش اثرات سوء تنش شوری و افزایش رشد گیاه جو تحت تنش شوری گردید [۱۰]. قارچ‌های میکوریزا در شرایط تنش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیباتی نظیر پرولین را در برگ گیاهان میزبان نسبت به گیاهان

جدول ۳. تجزیه واریانس رگرسیون اثر سطوح مختلف شوری بر میزان کلروفیل a, b, a + b, a/b، کاروتنوئید و عملکرد بیولوژیک گیاه استویا در شرایط تلقیح و عدم تلقیح *P. indica*

| منابع تغییرات | درجه آزادی | کلروفیل a | | کلروفیل b | | کلروفیل a+b | | کلروفیل a/b | |
|------------------|------------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|
| | | تلقیح با قارچ | شاهد | تلقیح با قارچ | شاهد | تلقیح با قارچ | شاهد | تلقیح با قارچ | شاهد |
| رگرسیون | ۱ | ۳۲/۳۴** | ۳۵/۷۱** | ۰/۰۸۸** | ۰/۶۳۶** | ۳۱/۱۸** | ۲۸/۹۰** | ۴۷/۶۶** | ۸۳/۵۴** |
| باقی مانده | ۴ | ۰/۳۰۴ | ۰/۵۴۲ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۱۷ | ۰/۳۷۰ | ۰/۴۵۲ | ۰/۰۰۱ | ۱/۲۵۲ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۱۷/۵۶ | ۱۴/۵۲ | ۴/۰۹ | ۱۰/۷۸ | ۱۴/۶۰ | ۱۰/۶۶ | ۱/۱۶ | ۲۰/۸۷ |

ادامه جدول ۳

| منابع تغییرات | درجه آزادی | کاروتنوئید | | عملکرد بیولوژیک | |
|------------------|------------|---------------|--------|-----------------|-----------|
| | | تلقیح با قارچ | شاهد | تلقیح با قارچ | شاهد |
| رگرسیون | ۱ | ۲/۰۹۶* | ۱/۱۹۹* | ۳۴۱۲/۲** | ۵۰۷۸/۲۲** |
| باقی مانده | ۴ | ۰/۱۰۵ | ۰/۰۵۵ | ۲۸/۵۷ | ۸۴/۹۱ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۲۸/۴۵ | ۲۲/۴۴ | ۸/۱۵ | ۱۴/۵۲ |

* و ** - به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد

به‌زراعی کشاورزی

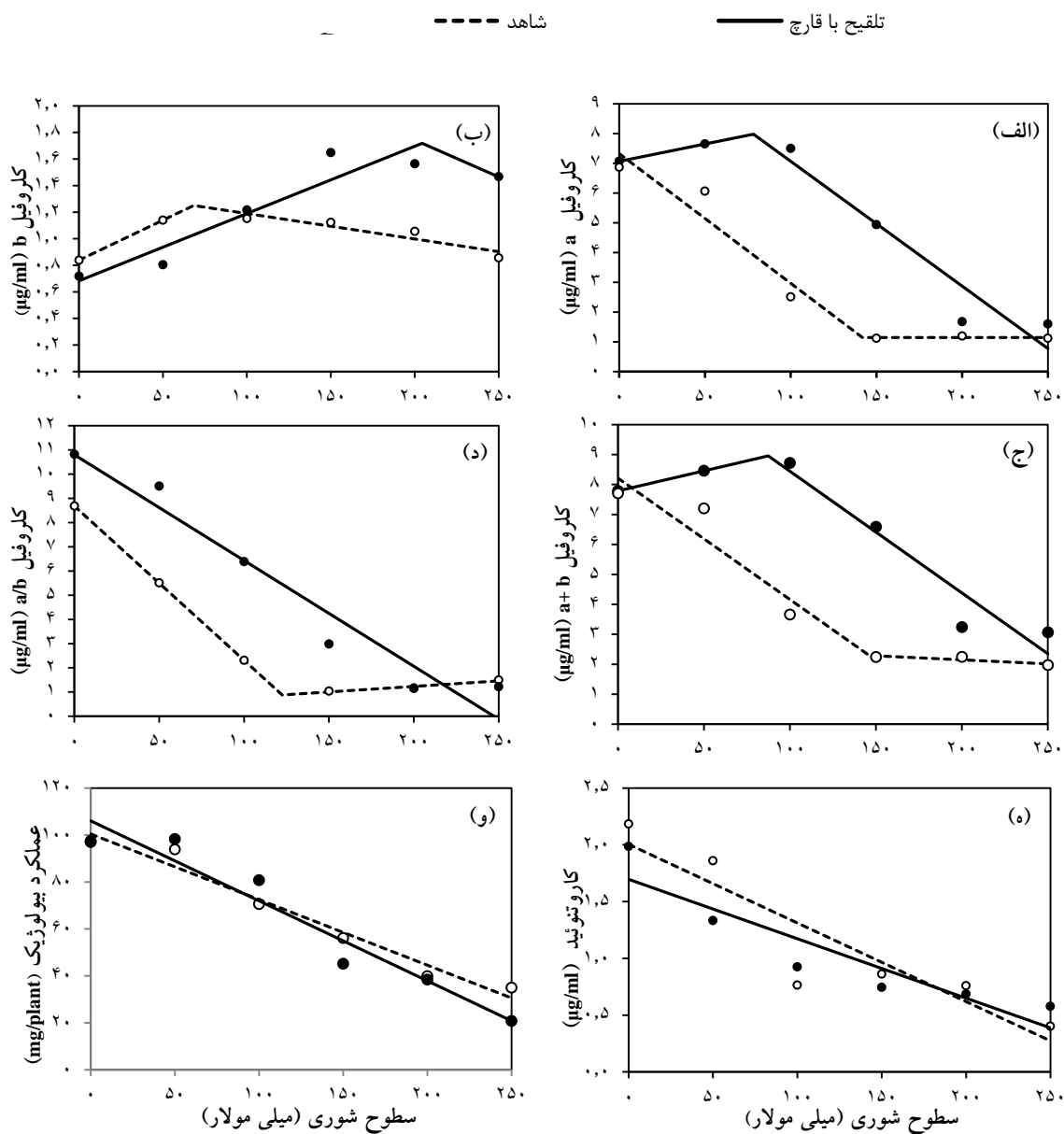
دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

جهت بیوستتز کلروفیل از دیگر اثرات تنش شوری بر محتوی کلروفیل است [۵].

سمیت بیش از حد یون‌های سدیم و کلر نیز موجب آسیب به غشای پلاسمایی، اندامک‌های سلولی و اختلال در فتوستتز، تنفس و سنتز پروتئین‌ها [۱۵] و نیز موجب عدم پایداری ترکیب رنگیزه پروتئین در گیاه می‌گردد [۳۶]. کاهش کلروفیل تحت تنش شوری در گیاهان مختلف از جمله استویا [۳۱] و چغندر قند [۲۰] نیز مشاهده شده است. به نظر می‌رسد افزایش محتوی کلروفیل a ، b و $a+b$ در گیاهان تلقیح شده با *P. indica* ممکن است به دلیل بهبود وضعیت آبی گیاه و جذب بیشتر عناصر معدنی (نظیر منیزیم) باشد [۱۶ و ۱۸]. میزان بالای محتوی کلروفیل در برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزی تحت تنش شوری توسط بسیاری از محققین در گیاهان ذرت [۳۵]، یونجه [۵] و گندم [۲] مشاهده شده است. در پژوهشی دیگر روی گیاه کنگر فرنگی، گیاهان تلقیح یافته با قارچ *P. indica* برگ‌های پهن‌تری در مقایسه با گیاه شاهد تولید کردند. افزایش پهنای برگ منجر به افزایش میزان کلروفیل و در نهایت راندمان فتوستتزی برگ شد [۴]. عملکرد بیولوژیک در گیاهان شاهد ($R^2=0/941$) و هم در گیاهان تلقیح شده ($R^2=0/851$) با افزایش تنش شوری به‌طور خطی کاهش یافت. در بررسی مشابهی در گیاه استویا، در طول دوره رشد گیاه تا مرحله برداشت اول، زمانی که هدایت الکتریکی آب آبیاری بالاتر از ۲ دسی‌زیمنس بود، عملکرد گیاه کاهش یافت [۳۲].

بر اساس یافته‌ها، تلقیح قارچ *P. indica* اثر چندانی بر عملکرد بیولوژیک استویا نداشت. این امر در حالی است که همزیستی قارچ *P. indica* به جذب بهتر عناصر غذایی در گیاه کمک می‌کند که افزایش عملکرد در گیاه را در پی دارد [۴۱]. این نتایج با نتایج سایر محققان که بیان کردند قارچ *P. indica* سبب افزایش عملکرد در گیاهان گندم [۶] و ذرت [۲۱] می‌شود، مطابقت نداشت.

نتایج تجزیه رگرسیونی رنگیزه‌های فتوستتزی نشان داد که روند تغییرات کلروفیل a ، b و کلروفیل $a+b$ در هر دو تیمار عدم تلقیح و تلقیح قارچ به صورت معادله‌ی دو تکه‌ای بیان شد. در گیاهان شاهد، محتوی کلروفیل a و مجموع کلروفیل a و b با افزایش غلظت NaCl تا سطح ۱۴۲ میلی‌مولار (به ترتیب با شیب $-0/0436$ و $-0/0405$ واحد) کاهش یافت، این در حالی است که با افزایش بیش از این مقدار شوری شیب کاهشی کمتری در محتوی کلروفیل a و مجموع کلروفیل a و b ($a+b$) مشاهده شد. کاهش شیب تغییرات در سطوح بالای شوری می‌تواند به دلیل کاهش شدت حساسیت گیاه به تنش‌های شدید باشد. در تیمار تلقیح با قارچ محتوی کلروفیل a و $a+b$ به ترتیب تا سطح ۷۸ و ۸۷ میلی‌مولار به میزان ۱۳ و ۱۴ درصد نسبت به سطح صفر شوری افزایش یافت، اما با بیشتر شدن تنش، محتوی کلروفیل a و $a+b$ کاهش یافت. میزان کلروفیل b در تیمار عدم تلقیح تا سطح ۶۸ میلی‌مولار و در تیمار تلقیح قارچ تا سطح ۲۰۴ میلی‌مولار افزایش یافت. نسبت کلروفیل a به b با افزایش شوری در گیاهان همزیست شده به صورت خطی و با شیب $-0/0437$ واحد کاهش یافت. این صفت در تیمار عدم تلقیح تا سطح ۱۲۲/۵ میلی‌مولار شوری با شیب $-0/0637$ واحد کاهش یافت، اما با افزایش شوری به بیش از سطح ۱۲۲/۵ میلی‌مولار نسبت کلروفیل a به b با شیب $0/0045$ واحد افزایش نشان داد. هرچند محتوی کاروتنوئید با افزایش تنش شوری در گیاهان شاهد و همزیست به صورت خطی و با ضریب تبیین $0/833$ و $0/844$ کاهش یافت، اما شیب کاهش در گیاهان همزیست نشده (شاهد) بیشتر بود. شوری با تسریع زوال رنگیزه‌های کلروفیلی، کاهش هدایت دی‌اکسیدکربن و کوچکتر شدن فضای بین سلولی موجب کاهش فتوستتز در گیاهان می‌گردد. همچنین کاهش در جذب عناصر معدنی (به عنوان مثال منیزیم) موردنیاز



شکل ۲. روند پاسخ کلروفیل a (الف)، b (ب)، a+b (ج)، a/b (د)، کاروتنوئید (ه) و عملکرد بیولوژیک (و) گیاه استویا به

سطوح مختلف شوری در شرایط تلقیح و عدم تلقیح با *P. indica*

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوستتزی گیاه دارویی استویا در واکنش به تلقیح ...

جدول ۴. معادله مناسب توصیف‌کننده رابطه تیمارهای شاهد و تلقیح با قارچ در غلظت‌های شوری

| تلقیح با قارچ | شاهد | صفت |
|--|---|-----------------|
| $x \leq 78$ یا $y = 0.0117x + 7.068$ | $x \leq 142$ یا $y = 0.04361x + 7.3269$ | کلروفیل a |
| $x > 78$ یا $y = -0.042x + 7.983$ $R^2 = 0.942$ $P = 0.0013$ $CV = 14.52$ | $x > 142$ یا $y = -0.00001x + 1.144$ $R^2 = 0.963$ $P = 0.0005$ $CV = 17.56$ | |
| $x \leq 204$ یا $y = 0.00507x + 0.6824$ | $x \leq 68$ یا $y = 0.00602x + 0.8381$ | کلروفیل b |
| $x > 204$ یا $y = -0.00555x + 1.7187$ $R^2 = 0.899$ $P = 0.0039$ $CV = 10.78$ | $x > 68$ یا $y = 0.00191x + 1.2496$ $R^2 = 0.925$ $P = 0.0021$ $CV = 4.09$ | |
| $x \leq 87$ یا $y = 0.0134x + 7.78$ | $x \leq 0.0405x + 8.2132$ -y = 146 | کلروفیل a+b |
| $x > 87$ یا $y = -0.0406x + 8.95$ $R^2 = 0.941$ $P = 0.0013$ $CV = 10.66$ | $x > 146$ $P = 0.0008$ $CV = 14.60$ $R^2 = 0.954$ | |
| $y = -0.0437x + 10.804$ $R^2 = 0.943$ $P = 0.001$ $CV = 20.87$ | $x \leq 0.0637x + 8.6821$ -y = 122.5 | کلروفیل a/b |
| | $x > 122.5$ $R^2 = 0.999$ $P < 0.0001$ $CV = 1.16$ | |
| $y = -0.0052x + 1.6967$ $R^2 = 0.844$ $P = 0.010$ $CV = 22.44$ | $y = -0.0069x + 2.0039$ $R^2 = 0.833$ $P = 0.011$ $CV = 28.45$ | کاروتنوئید |
| $y = -3.0765x + 916.14$ $R^2 = 0.851$ $P = 0.002$ $CV = 25.27$ | $y = -2.8155x + 902.39$ $R^2 = 0.941$ $P < 0.001$ $CV = 13.33$ | عملکرد بیولوژیک |

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج نشان داد که قارچ *P. indica* در سطوح پایین شوری احتمالاً از طریق کاهش غلظت پراکسید هیدروژن (دو درصد تا سطح ۱۲۴ میلی‌مولار شوری) و مالون دی‌آلدئید (۱۷ درصد تا سطح ۵۰ میلی‌مولار شوری) و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود میزان رنگیزه‌های فتوستتزی سبب افزایش نسبی تحمل به تنش در گیاه دارویی استویا شد. با این وجود، برای تعیین سازوکارهای مرتبط و دخیل در افزایش تحمل گیاه به تنش شوری نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتری است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان و دبیرخانه طرح کلان ملی دانش و فناوری استفاده از آب دریا و آب‌های شور قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. امامی ع (۱۳۷۵) روش‌های تجزیه گیاه. جلد ۱، نشریه فنی شماره ۹۸۲، انتشارات سازمان تحقیقات آموزش ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات آب و خاک، البرز. ۱۲۶ ص.

به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

۸. Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S and Karanov E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment* 24: 1337-1344.
۹. Bacilio M, Rodriguez H, Moreno M, Hernandez JP and Bashan Y (2004) Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a gfp-tagged *Azospirillum lipoferum*. *Biology and Fertility of Soils*. 40: 188-193.
۱۰. Baltruschat H, Fodor J, Harrach BD, Niemczyk E, Barna B, Gullner G, Janeczko A, Kogel K H, Schäfer P and Schwarczinger I (2008) Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*. 180: 501-510.
۱۱. Beauchamp C and Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: Improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 44: 276-287.
۱۲. Bhattacharjee S and Mukherjee AK (2002) Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science and Technology*. 30: 279- 287.
۱۳. Cony MA and Trione SO (1998) Inter and intraspecific variability in *Prosopis flexuosa* and *P. chilensis* seed germination under salt and moisture stress. *Journal of Arid Environments*. 40: 307-317.
۱۴. Ebtsam A, El-Housini MA, Ahmed MS, Hassanein M and Tawfik M (2014) Effect of Salicylic Acid (SA) on Growth and Quality of *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bert.) Under Salt Stress. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 14 (4): 275-281.
۲. حاجی نیا س، زارع م ج، محمدی گل تپه ا و رجال ف (۱۳۹۰) بررسی سودمندی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum Sp.* در افزایش تحمل گندم رقم سرداری (*Triticum aestivum*) به تنش شوری. تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۴(۱): ۳۱-۲۱.
۳. قاسم‌نژاد ع و بابایی زاد و (۱۳۹۰) رشد رویشی و میزان کافئیک اسید برگ کنگر فرنگی (*Cynara scolymus L.*) تحت تأثیر قارچ مایکوریز *Piriformospora indica*. پژوهش‌های تولید گیاهی. ۱۸(۱): ۱۴۰-۱۳۳.
۴. کاری دولت‌آبادی ح، محمدی گل تپه ا، معینی ا و ورما آ (۱۳۹۱) ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف اکسین و قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Sebacina vermifera* روی نعناء فلفلی (*Mentha piperita*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) در شرایط درون شیشه‌ای. گیاهان دارویی. ۲(۹): ۲۲-۱۳.
۵. کرمی ع و زارع م ج (۱۳۹۳) پاسخ فیزیولوژیک و تغذیه‌ای گیاه یونجه *Medicago sativa. cv. Hamedani*) در تلقیح با قارچ درون‌زی *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum spp.* تحت تنش شوری. تولید گیاهان زراعی. ۷(۱): ۱۲۹-۱۰۹.
۶. یعقوبیان ی، پیردشتی ه، محمدی گل تپه ا، فیضی اصل و و اسفندیاری ع (۱۳۹۱) ارزیابی واکنش گندم دیم (*Triticum aestivum L.*) رقم آذر ۲ به همزیستی با قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار و شبه میکوریزا در سطوح مختلف تنش خشکی. بوم‌شناسی کشاورزی. ۴(۱): ۷۳-۶۳.
7. Abi H (1984) Catalase *in vitro*. *Method of Enzymology*. 105: 121-126.

15. Feng G, Li XL, Zhang F S, Tian CY 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.
16. Giri B, Kapoor R and Mukerji K G (2002) VA Mycorrhizal techniques VAM technology in establishment of plants under salinity stress condition. In: Mukerji K G, Manoracheir C and Singh I (Eds.), *Techniques in Mycorrhizal Studies*. Kluwer, Dordrecht, pp. 313-327.
17. Hajar EWI, Sulaiman AZB and Sakinah AMM (2014) Assessment of heavy metals tolerance in leaves, stems and flowers of *Stevia rebaudiana* plant. *Procedia Environmental Sciences*. 20: 386-393.
18. Jenschke G, Brandes B, Kuhn A J, Schoder WH, Becker JS and Godlbbd DL (2000) The Mycorrhizal fungus *Paxillus* in volutes magnesium to Norway spruce seedlings. Evidence from stable isotope labeling. *Plant and Soil*. 220: 243-246.
19. Kaefer E (1977) Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. *Advances in Genetics*. 19: 33-131.
20. Koyro HW (2000) Effect of high NaCl-salinity on plant growth, leaf morphology and ion composition in leaf tissues of *Beta vulgaris* ssp. *Maritima*. *Journal of Applied Botany*. 74: 67-73.
21. Kumar M, Yadav V, Tuteja N and Johri AK (2009) Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. *Microbiology*. 155: 780-790.
22. Lailerd N, Saengirisuwan V, Sloniger JA, Toskulkao C and Henriksen EJ (2004) Effect of stevioside on glucose transport activity in insulin-sensitive and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Metabolism*. 53:101-107.
23. Madan S, Sayeed A, Singh GN, Kohli K, Singh YKR and Garg M. (2010) *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-A Review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 1(3): 267-287.
24. Mishra NP, Mishra RK and Singhal GS (1995) Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visual light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. *Plant Physiology*. 102: 903-910.
25. Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment*. 25: 239-250.
26. Munns R and Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59:651-681.
27. Oelmüller R, Sherameti I, Tripathi S and Varma A (2009) *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*. 19: 1-19.
28. Pan J, Wang Q and Snell W J (2005) Cilium-generated signaling and ciliarelated disorders. *Laboratory Investigation*. 85:452-463.
29. Porcel R and Ruiz-Lozano JM (2004) Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 55:1743-1750.
30. Porra RJ (2002) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynthesis Research*. 73:149-156.
31. Rathore Sh, Singh N and Singh SK (2014) Influence of NaCl on biochemical parameters of two cultivars of *Stevia rebaudiana* regenerated in vitro. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. 10(2): 287-296.

32. Reisa M, Coelho L, Santosa G, Kienlec U and Beltraoa J (2015) Yield response of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) to the salinity of irrigation water. *Agricultural Water Management*. 152: 217–221.
33. Ruize-Lozno JM (2003) Arbuscular mycorrhiza symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspective for molecular studies. *Mycorrhiza*. 13: 309-317.
34. SAS Institute (2004) SAS/STAT user's guide. SAS Institute, Cary.
35. Sheng M, Tang M, Chan H, Yang B, Zhang F and Huang Y (2008) Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*. 18: 287–296.
36. Singh SP, Singh BB, Maharaji S and Singh M (1994) Effect of kinetin on chlorophyll, nitrogen and proline in *Vigna radiata* under saline condition. *Indian Journal of Plant Physiology*. 37: 37-47.
37. Soltani A, Hammer GL, Torabi B, Robertson MJ and Zeinali E (2006) Modeling chickpea growth and development: phenological development. *Field Crops Research*. 99: 1-13.
38. Stewart RRC and Bewley JD (1980) Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*. 65:245–248.
39. Sun C, Johnson JM, Cai D, Sherameti I, Oelmüller R and Lou B (2010) *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought related genes and the plastid-localized CAS protein. *Journal of Plant Physiology*. 167: 1009-1017.
40. Tang W and Newton RJ (2005) Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) zygotic embryos. *Plant Physiology and Biochemistry*. 43:760–769.
41. Varma A, Bakshi M, Lou B, Hartmann A and Oelmüller R (2012) *Piriformospora indica*: A Novel Plant Growth-Promoting Mycorrhizal Fungus. REVIEW. NAAS (National Academy of Agricultural Sciences). *Agricultural Research*. 1(2):117–131.
42. Waller F, Achatz B and Baltruschat H (2005) The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms Barley to salt-stress tolerance, disease resistance and higher yield. *Procedia Environmental Sciences* 102: 13386-13391.
43. Weisany W, Sohrabi Y, Heidari Gh, Siosemardeh A and Ghassemi-Golezani k (2012) Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics Journal*. 5: 60-67.
44. Yaghoubian Y, Mohammadi Goltapeh E, Pirdashti H, Esfandiari E, Feiziasl V, Kari Dolatabadi H, Varma A and Haryani Hassim M (2014) Effect of *Glomus mosseae* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. *Agricultural Research*. 3(3):239–245.
45. Yano-Melo AM, Saggin Jr, OJ and Maia LC (2003) Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp. cv. Pacovan) plantlets to saline stress. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 95: 343-348.
46. Zarea MJ, Chordia P and Varma A (2012a) *Piriformospora indica* versus Salt Stress. In: Varma A, Kost G and Oelmüller R (Eds.), *Sebacinales*, Springer-Verlag, pp. 263-281.
47. Zarea MJ, Hajinia S, Karimi N, Mohammadi

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا در واکنش به تلقیح ...

Goltapeh E, Rejali F and Varma A (2012b) Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biology and Biochemistry. 45: 139-146.

48. Zhu XC, Song FB and Xu HW (2009) Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. Mycorrhiza. 20: 325-332.