نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و چهارم، شماره دوم، ۱۳۹۶
http://jopp.gau.ac.ir

ارزیابی اثر همزیستی قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* و کاربرد پاکلوبوترازول بر ویژگی‌های رشدی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در واکنش به تنش شوری

سارا کرامتی[۱]، *همت‌اله پیردشتی[۲]، ولی‌اله بابایی‌زاد[۳] و علی دهستانی[۴]

[۱]دانشجوی دکتری گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،
[۲]دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،
[۳]استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۴]استادیار پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۱

چکیده

سابقه و هدف: شوری آب و خاک از مشکلات جدی و فزآینده در سطح جهان می‌باشد به‌طوری‌که بخش وسیعی از اراضی کشور ما نیز با این مشکل مواجه است. امروزه استفاده از ریزجانداران همزیست با ریشه گیاهان مانند قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* از جمله راهکارهایی است که جهت بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاهان زراعی در شرایط نامناسب محیطی مانند شوری آب و خاک به‌کار گرفته می‌شود. علاوه بر این، امروزه استفاده از موادی مانند پاکلوبوترازول که توانایی تنظیم رشد و تخفیف تنش‌های محیطی را دارند نیز افزایش یافته است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی جداگانه و هم‌زمان این عوامل بر ویژگی‌های رشد گیاه دارویی ریحان در شرایط بروز تنش شوری طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹٤ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح همزیستی (عدم تلقیح به‌عنوان شاهد و تلقیح با قارچ)، سه سطح پاکلوبوترازول (صفر، ۲۰ و ٤۰ میلی‌گرم در لیتر) و چهار سطح شوری آب آبیاری (صفر، سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر NaCl) بودند. صفاتی مانند وزن تر و خشک برگ، اندام هوایی و ریشه، ارتفاع بوته، تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل برگ، درصد و عملکرد اسانس، میزان پراکسیداسیون چربی‌ها و پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد همزیستی قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* توانست وزن تر و خشک برگ، اندام هوایی و ریشه را در شرایط تنش به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. کاربرد پاکلوبوترازول گرچه در شرایط عادی موجب کاهش وزن تر و خشک برگ و بوته شد اما در شرایط تنش توانست وزن تر و خشک برگ و بوته را بهبود بخشد. همچنین، تلقیح قارچی ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل برگ، درصد و عملکرد اسانس گیاه ریحان را در شرایط تنش شوری به‌طور قابل‌توجهی افزایش داد هر چند بیش‌ترین اثر مثبت قارچ در تیمارهای شوری متوسط و بالا مشاهده شد. اما

* مسئول مکاتبه: pirdasht@yahoo.com

در این شرایط برگ‌پاشی پاکلوبوترازول تنها بر صفات سطح برگ، طول ریشه، محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل برگ و عملکرد اسانس تأثیر معنی‌دار داشت. همزیستی با قارچ شبه‌میکوریز و کاربرد پاکلوبوترازول، همچنین، میزان پراکسیداسیون لیپید غشاء را به هنگام تنش کاهش داد. تلقیح قارچی و برگ‌پاشی پاکلوبوترازول، همچنین، موجب افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و بالا رفتن قابل‌توجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش شد.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، همزیستی قارچ شبه‌میکوریز *P. indica* با گیاه ریحان توانست با افزایش تحمل به شوری تا حدود زیادی ویژگی‌های رشدی آن را بهبود بخشد. همچنین کاربرد پاکلوبوترازول در تخفیف آثار نامطلوب تنش شوری مؤثر بود، گرچه این اثربخشی به اندازه تأثیر همزیستی با قارچ نبود. کاربرد هم‌زمان دو عامل مورد مطالعه نیز بر وزن تر و خشک برگ و ریشه، ارتفاع و عملکرد اسانس ریحان تأثیر معنی‌دار داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسانس، پاکلوبوترازول، تنش شوری، قارچ شبه‌میکوریز، ماده خشک

مقدمه

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهنده عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان به‌شمار می‌روند (۲۳). در این میان، شوری آب و خاک یکی از مشکلات جدی در کشاورزی است و کشور ایران که از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه‌خشک دنیا قرار دارد از این قاعده مستثنی نیست. کمبود منابع آب شیرین و استفاده از آب‌های شور یا آب‌های با کیفیت پایین برای آبیاری، موجب افزایش شوری خاک می‌گردد که این مسأله میزان تولید محصول را از طریق کاهش رشد گیاهان و ایجاد عدم تعادل در جذب عناصر ضروری و آب و تنش اکسیداتیو تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (٤٥). تنش اکسیداتیو به دنبال تولید بیش از اندازه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) رخ می‌دهد که موجب بالا رفتن پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و کاهش فتوسنتز می‌گردد (۱۲). گیاهان برای کاهش دادن آثار مخرب گونه‌های اکسیژن فعال سازوکارهای متفاوتی دارند. از جمله می‌توان به سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی اشاره کرد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند (۵۹).

در سال‌های اخیر، پژوهش‌گران برای مقابله با پدیده شوری و به حداقل رساندن آثار زیان‌بار آن و کاهش تلفات محصول به‌دنبال راهکارهای نوین هستند. یکی از این روش‌ها، استفاده از ریزجانداران سودمند از جمله قارچ‌ها جهت بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌باشد. قارچ‌های مفید در بهبود رشد و عملکرد گیاه، تحمل تنش‌های محیطی، گیاه‌پالایی، سلامت مواد غذایی و تولید پایدار محصولات کشاورزی نقش دارند (۷). علاوه بر قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار[1] که شناخته‌شده‌ترین قارچ‌ها در زمینه مطالعات همزیستی گیاهان به‌شمار می‌آیند، بعضی از قارچ‌های خانواده سباسیناسه[2] نیز می‌توانند نقش میکوریز را برای گیاه ایفا نموده و موجب افزایش رشد گیاه شوند (۳٦). قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا*[3] و *سباسینا ورمیفرا*[4] جزء این خانواده می‌باشند که به گروه قارچ‌های بازیدیومیست تعلق دارند (۲۸). از آن‌جایی‌که این دو قارچ مانند قارچ‌های میکوریزا آربسکولار همزیست داخلی ریشه بوده و ویژگی‌های تقریباً مشابه آن‌ها دارند (۳۰)،

1- Arbuscular mycorrhiza (AM)
2- Sebacinaceae
3- *Piriformospora indica*
4- *Sebacina vermifera* Sencu

به‌عنوان قارچ‌های شبه‌میکوریز شناخته می‌شوند. این قارچ‌ها بر خلاف میکوریزا آربوسکولار همزیست اختیاری هستند و می‌توانند به راحتی در محیط‌های کشت مصنوعی مختلف بدون نیاز به گیاه میزبان کشت شوند و این یکی از مهم‌ترین مزیت‌های آن‌ها نسبت به میکوریزا به‌شمار می‌رود (٥٤). این قارچ که اولین بار از خاک محیط ریزوسفر گیاه کهور[1] در ایالت راجستان هندوستان به‌دست آمد (٥٥)، با ریشه بسیاری از گونه‌های گیاهی قابلیت همزیستی دارد و رشد رویشی و عملکرد آن‌ها را افزایش می‌دهد (٣٥)، همچنین، از راه‌های مختلف مانند افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسمولیت‌ها (به‌ویژه پرولین) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی (٦٢)، باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده مانند بیماری‌ها (١٩)، عناصر سنگین (١٧)، خشکی (٥٠) و شوری (٧ و ١٠) می‌شود.

از سوی دیگر، توسعه استفاده از مواد کندکننده رشد به‌ویژه در سال‌های اخیر، توانایی تنظیم رشد و تخفیف تنش‌های محیطی را در کشاورزی افزایش داده است. پاکلوبوترازول (PBZ)[2] یکی از این مواد می‌باشد که به خانواده تری‌آزول‌ها تعلق دارد. به این ترکیب اغلب کلمه آنتی‌جیبرلین اطلاق می‌شود. همچنین پاکلوبوترازول توانایی کنترل بسیاری از ساز و کارهای گیاهی مانند رشد و کنترل تنش‌های محیطی را دارد و به‌دلیل حساسیت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مانند شوری، دمایی و خشکی، می‌توان با استفاده از این ماده به بخشی از محدودیت‌های موجود در زراعت و باغبانی خاتمه داد و بدون افزایش سطح زیرکشت و یا مصرف آب بیش‌تر، با هزینه کم‌تر به‌میزان تولید بالاتری دست یافت (٤).

1- *Prosopis juliflora*
2- Paclobutrazol

گیاه دارویی ریحان[3] با گستره وسیع جغرافیایی یکی از گیاهان مهم خانواده نعناعیان می‌باشد که در صنایع غذایی، داروسازی، دندانپزشکی و عطرسازی کاربرد فراوان دارد (٣٤). در سال‌های اخیر، توجه به گیاهان دارویی و مشتقات زیستی فعال آن‌ها در رابطه با امکان تولید داروهای جدید افزایش یافته است (٤٧) که برای پاسخگویی به این نیاز روزافزون استفاده از فناوری‌های مختلف کشت و کار جهت افزایش کارایی و بهبود عملکرد گیاهان اجتناب‌ناپذیر است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر همزیستی قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* و برگ‌پاشی پاکلوبوترازول بر بهبود ویژگی‌های رشدی و دارویی گیاه دارویی ریحان در شرایط شور طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار، در بهار و تابستان ١٣٩٤ در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. تیمارها شامل همزیستی با قارچ (تلقیح با قارچ و بدون تلقیح)، پاکلوبوترازول (صفر، ٢٠ و ٤٠ میلی‌گرم در لیتر) و چهار سطح شوری (صفر، سه، شش، نه دسی‌زیمنس بر متر[4] NaCl) بودند. خاکورزی و آماده‌سازی زمین با دو بار شخم در اسفند و فروردین‌ماه آغاز و سپس کاشت بذور در اردیبهشت‌ماه و بعد از دو مرتبه روتیواتور انجام شد. سویه قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* از آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه و در محیط کشت مایع کفر[5] کشت شد (٢٢). جهت اطمینان از همزیست شدن ریشه ریحان با قارچ، چند گلدان

3- *Ocimum basillicum* L.
4- $dS.m^{-1}$
5- Kaefer

آزمایشی با بذور تلقیح‌شده ریحان با قارچ پیریفورموسپورا کشت و پس از حدود سه هفته، رنگ‌آمیزی ریشه (۵۶) انجام و بعد از اطمینان از همزیستی قارچ و ریحان، کشت مزرعه در کرت‌هایی با ابعاد ۲×۲ متر آغاز شد.

بذرهای ریحان پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به‌مدت پنج دقیقه و شش مرتبه شستشو با آب مقطر، به دو قسمت بدون تلقیح و تلقیح با قارچ تقسیم شدند. بذرها جهت تلقیح با قارچ به‌مدت سه ساعت در سوسپانسیون قارچ (۵۹) غوطه‌ور و سپس کشت شدند. برگ‌پاشی پاکلوبوترازول در مرحله شش برگی انجام و یک هفته پس از آن تنش شوری برای هر تیمار اعمال گردید. پس از اطمینان از رسیدن شوری خاک به سطوح موردنظر آزمایش از طریق آزمون خاک، نمونه‌برداری‌ها برای صفات موردنظر (در شروع مرحله گلدهی) آغاز شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده و سپس با ترازوی دیجیتال وزن شدند. برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته و طول ریشه از خط‌کش استفاده شد.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی.

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil in the experimental field.

بافت Soil texture	واکنش خاک pH	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) E.C. ($dS.m^{-1}$)	کربن آلی (درصد) O.C (%)	فسفر قابل‌جذب	پتاسیم قابل‌جذب	نیتروژن کل (درصد) N (%)
				(میلی‌گرم در کیلوگرم) K and P ava. ($mg.Kg^{-1}$)		
لوم- شنی	7.26	0.62	2.09	14.5	270	0.21

به‌منظور اندازه‌گیری میزان محتوای نسبی آب برگ[1]، دیسک‌هایی به قطر هشت میلی‌متر از قسمت میانی پهنک برگ تهیه (از هر واحد آزمایشی هشت تا ده دیسک برگی) و پس از توزین به پتری‌دیش‌های درب‌دار حاوی آب مقطر منتقل و به‌مدت چهار ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار گرفتند. پس از آن دیسک‌های برگی از آب خارج و جهت حذف رطوبت اضافی بین دو لایه کاغذ صافی خشک و سپس وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. سرانجام دیسک‌ها به آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و پس از گذشت ۴۸ ساعت وزن خشک آن‌ها تعیین و در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (۳۳)، که در این رابطه Fw وزن تر دیسک‌های برگی، Dw وزن خشک دیسک‌های برگی و Sw وزن آماس دیسک‌های برگی می‌باشد.

$$RWC = \frac{Fw - Dw}{Sw - Dw} \times 100 \qquad (1)$$

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای کلروفیل برگ از دستگاه SPAD-502 (مینولتا، ژاپن[2]) استفاده شد. اندازه‌گیری از چهار نقطه برگ انجام و میانگین آن‌ها به‌عنوان عدد SPAD در محاسبه استفاده شد. برای استخراج اسانس، قسمت‌های هوایی گیاه ریحان در شروع مرحله گلدهی برداشت و پس از خشک شدن در سایه برگ‌های آن جمع‌آوری و اسانس آن به روش تقطیر با بخار آب در دستگاه کلونجر و به‌مدت سه ساعت استخراج شد (۱). میزان پراکسیداسیون لیپید

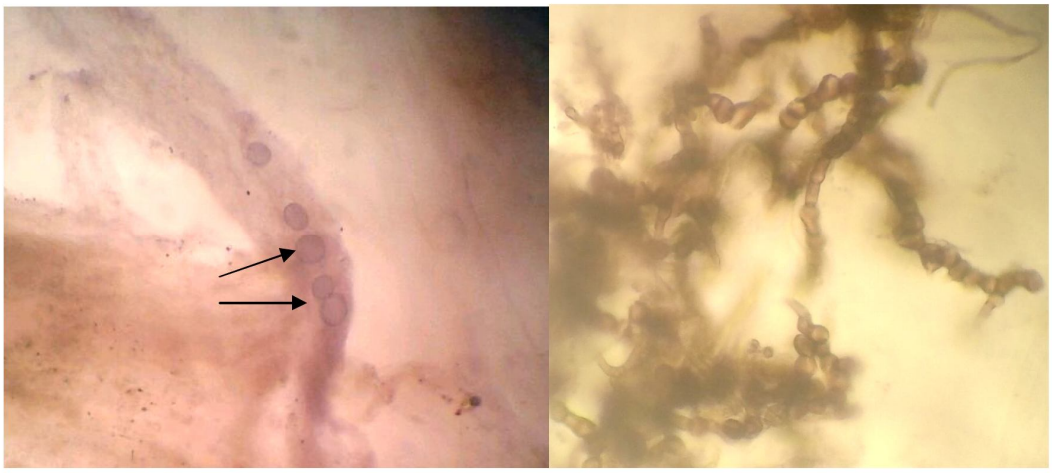
1- Relative Water Content (RWC)

2- Minolta, Japan

غشاء یا مالون دی‌آلدئید در طول موج‌های ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر و بر اساس اختلاف بین طول موج‌های جذبی در ضریب خاموشی $155\ mM^{-1}cm^{-1}$ به‌دست آمد (٤۹). میزان پراکسیدهیدروژن در طول موج ۳۹۰ نانومتر سنجش و با استفاده از منحنی استاندارد به‌دست آمد (٤۳). همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (۱۵)، کاتالاز (۲) و آسکوربات پراکسیداز (٦۱) نیز اندازه‌گیری شد. برای اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، آزمون نرمال به روش کولموگروف- اسمیرنوف صورت گرفت و سپس با نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

بررسی همزیستی ریشه ریحان و قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا*: ریشه ریحان‌های تلقیح‌شده ابتدا به خوبی شسته و سپس به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شد. این قطعات به روش ویرهیلیگ و همکاران (٥٦) رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی X ٤۰-۱۰ مورد بررسی و تأیید قرار گرفت (شکل ۱).



الف
a

ب
b

شکل ۱- هیف‌ها (الف) و کلامیدوسپورهای (ب) قارچ *P. indica* (نقاط سیاه رنگ که با فلش مشخص شده‌اند) در سلول‌های ریشه ریحان.

Figure 1. *P. indica* hyphae (a) and chlamydospores (b) (black spots shown by arrows) in root cells of *Ocimum basilicum*.

وزن تر و خشک برگ، اندام هوایی و ریشه: نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری و همزیستی با قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) بر وزن تر و خشک برگ، بوته و ریشه ریحان داشت (جدول ۲). بر این اساس، همزیستی قارچ توانست به‌ترتیب وزن تر و خشک برگ (٤/۹٦ و ۲۳/۲٥ درصد)، اندام هوایی (۱۱/۰۷ و ۱٥/۲٥ درصد) و ریشه (۹/۸۳ و ۳٦/۱٥ درصد) را نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ٤). اما، کاربرد پاکلوبوترازول موجب کاهش معنی‌دار وزن تر و

خشک برگ و وزن خشک اندام هوایی شد. هر چند، کاهش وزن تر اندام هوایی در اثر کاربرد پاکلوبوترازول معنی‌دار نبود. در مقایسه، وزن تر و خشک ریشه در اثر کاربرد پاکلوبوترازول به‌طور معنی‌داری بیش‌تر شد (جدول‌های ۲ و ٤).

در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ شبه‌میکوریز *پیریفورموسپورا* اثرات مخرب شوری بر زیست‌توده ریشه و اندام‌های هوایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین مربعات (MS) اثر شوری، قارچ پیریفورموسپورا و محلول‌پاشی پاکلوبوترازول بر وزن تر و خشک برگ، اندام هوایی و ریشه ریحان.

Table 2. Mean square (MS) of the effect of salinity, *Piriformospora indica* symbiosis and paclobutrazol foliar spray on leaf, aerial and root fresh and dry weights in *Ocimum basilicum* plants.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر Fresh weight			وزن خشک Dry weight		
		برگ Leaf	اندام هوایی Aerial part	ریشه Root	برگ Leaf	اندام هوایی Aerail part	ریشه Root
بلوک Block	2	5.446*	20.443*	0.0215^{ns}	0.887**	2.826*	0.008^{ns}
تلقیح قارچ Fungi (F)	1	99.969**	582.087**	13.633**	54.641**	31.098**	5.060**
پاکلوبوترازول PBZ (P)	2	21.887**	14.448^{ns}	12.974**	1.982**	2.538*	4.690**
شوری Salinity (S)	3	376.224**	3599.81**	23.296**	18.371**	188.279**	3.641**
F × P	2	19.161**	5.407^{ns}	0.341**	1.376**	1.554^{ns}	0.097**
F × S	3	9.319**	76.533**	1.396**	2.972**	4.130**	0.249**
P × S	6	15.119**	41.465**	0.280**	1.369**	6.6572**	0.155**
F × P × S	6	10.776**	13.624^{ns}	0.242**	0.158^{ns}	2.284**	0.016^{ns}
خطای آزمایشی Error	46	1.698	6.069	0.046	0.134	0.668	0.013
ضریب تغییرات C.V(%)		5.53	5.22	3.62	9.41	9.04	5.44

^{ns}، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ می‌باشد.

^{ns},* and ** are not significant, significant at 5% and 1% level of probability, respectively.

در شرایط تنش، بیش‌ترین اثر مثبت قارچ در بهبود زیست‌توده گیاه در تیمارهای شوری متوسط و بالا (٦ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر) مشاهده شد. در همین راستا، وزن خشک برگ، اندام هوایی و ریشه گیاه همزیست با قارچ در تیمار ٦ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۷۷، ۱٤/۸۲ و ٤۲/۸۱ درصد و در تیمار ۹

دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۸۷، ۷٤/٦ و ٦۲/۹۳ نسبت به شاهد بدون قارچ بیش‌تر شد (جدول ٤). افزایش وزن تر و خشک گیاه تلقیح‌شده با قارچ ممکن است با افزایش جذب آب و محتوای نسبی آب مرتبط باشد (جدول ۳). همچنین می‌تواند به‌دلیل جذب بهتر و بیش‌تر عناصر غذایی (۳۹)، افزایش میزان محتوای کلروفیل برگ (جدول ۳) و نقش فعال‌تر واکنش نوری (۲۵) و یا به‌دلیل افزایش سنتز هورمون‌های رشد در شرایط تلقیح باشد. هیف‌های قارچ می‌توانند باعث تحریک تولید محرک‌های رشد و انتقال آن‌ها به نقاط مختلف گیاه و به تبع آن باعث افزایش تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و ویتامین‌ها و در نهایت افزایش رشد گیاه شوند (۹). در شرایط بروز تنش شوری، قارچ *پیریفورموسپورا* به احتمال زیاد از طریق سازوکارهای ناشناخته فیزیولوژیکی یا مولکولی موجب تجمع یون‌های سدیم در ریشه‌ها و جلوگیری از ورود آن‌ها به اندام‌های هوایی شده و بدین‌ترتیب موجب تخفیف آثار سوء ناشی از تنش شوری می‌شود (٤۲). افزایش رشد و نمو در اثر همزیستی ریشه گیاه با قارچ شبه‌میکوریز در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است (۳۸ و ۵۳).

از سوی دیگر، در شرایط تنش شوری، گیاهان برگ‌پاشی‌شده با پاکلوبوترازول، وزن تر و خشک برگ، اندام هوایی و ریشه بیش‌تری تولید کردند. کاربرد پاکلوبوترازول به‌میزان ٤۰ میلی‌گرم بر لیتر و در سطح شوری نه دسی‌زیمنس بر متر (جدول ٤) بیش‌ترین میزان وزن خشک برگ، اندام هوایی و ریشه (به‌ترتیب ٦/۹۳، ٦۸/۱۷ و ۳۹/۸۵ درصد در مقایسه با تیمار شاهد) را نشان داد. افزایش تحمل گیاهان تیمار شده با پاکلوبوترازول نسبت به تنش شوری می‌تواند با کیفیت رشد بالاتر به همراه نکروزه برگی کم‌تر، بروز نشانه‌های خفیف‌تر و برگ‌ریزی کم‌تر این گیاهان نسبت به گیاهان شاهد مرتبط باشد (۱۱). به‌علاوه، در شرایط شور، پاکلوبوترازول دهیدراته شدن در اثر تنش را از طریق تعادل اسمزی بهبود می‌بخشد (۲۰).

به‌علاوه، برهمکنش تلقیح قارچی و برگ‌پاشی پاکلوبوترازول در شرایط تنش شوری تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) بر وزن تر برگ و ریشه و وزن خشک اندام هوایی گیاه ریحان داشت (جدول ۲). بدین‌ترتیب کاربرد همزمان تیمار قارچی و پاکلوبوترازول، تخفیف اثرات سوء شوری و افزایش تولید زیست‌توده گیاه ریحان را در شرایط تنش به دنبال داشت (جدول ٤).

ارتفاع بوته: نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنش شوری به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) ارتفاع بوته را تحت‌تأثیر قرار داد (جدول ۳). بر این اساس، ارتفاع بوته با افت ۳٤ درصدی از ٤۱ سانتی‌متر در تیمار شاهد به ۲۷ سانتی‌متر در تیمار ۹ دسی‌زیمنس بر متر رسید. همچنین، تلقیح قارچی و کاربرد پاکلوبوترازول اثر معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) بر ارتفاع بوته ریحان داشتند (جدول ۳).

در پژوهش حاضر، همزیستی با قارچ موجب افزایش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) ارتفاع بوته به هنگام تنش شوری شد (جدول ۲). براساس نتایج اثر متقابل (جدول ۵) همزیستی ریحان با قارچ *پیریفورموسپرا* موجب بهبود معنی‌دار ارتفاع بوته به‌ویژه در شرایط تنش شوری بالا (۲۹/۷۸ سانتی‌متر در گیاهان تلقیح‌شده و شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با ۲۵/۷۲ سانتی‌متر در همین سطح و گیاهان شاهد) شد. قارچ پیریفورموسپورا قادر است با تولید هورمون‌های اکسین و سیتوکینین ارتفاع گیاه را افزایش دهد (۳۸).

جدول ۳- میانگین مربعات (MS) اثر شوری و قارچ پیریفورموسپورا بر ارتفاع بوته، تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، محتوای کلروفیل برگ، محتوای نسبی آب، محتوا و عملکرد اسانس برگ ریحان.

Table 3. Mean square (MS) of the effect of salinity, *Piriformospora indica* symbiosis and paclobutrazol foliar spray on height, leaf number, leaf area, root length, SPAD, RWC, Essential oil content and yield of *Ocimum basilicum* plants.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Height (cm)	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area (cm^2)	طول ریشه Root length (cm)	محتوای نسبی آب برگ RWC	محتوای کلروفیل برگ SPAD	اسانس (درصد) Essential oil Content%	عملکرد اسانس Essential oil yield ($L.ha^{-1}$)
بلوک Block	2	3.135^{ns}	17.055^{ns}	1867.823^{ns}	0.823^{ns}	0.533^{ns}	36.305**	0.000904**	12.446**
تلقیح قارچ Fungi (F)	1	116.28**	1081.13**	181930.75**	163.50**	706.692**	1035.88**	0.004835**	421.81**
پاکلوبوترازول PBZ (P)	2	49.573**	52.598^{ns}	415.328^{ns}	0.073^{ns}	2.543^{ns}	49.173**	0.000304^{ns}	23.179**
شوری Salinity (S)	3	558.9**	6341.75**	600396.93**	157.40**	231.299**	374.174**	0.8438**	552.45**
F × P	2	7.198*	16.125^{ns}	2239.808^{ns}	0.545^{ns}	6.791^{ns}	4.481^{ns}	0.0000097^{ns}	12.54**
F × S	3	4.865*	76.939*	8753.402**	5.670**	51.220**	30.177**	0.000416*	7.1425**
P × S	6	2.791^{ns}	18.449^{ns}	29130.17**	1.804*	33.210**	14.517*	0.0000189^{ns}	14.247**
F × P × S	6	1.184^{ns}	16.939^{ns}	1191.95^{ns}	0.295^{ns}	9.106*	5.261^{ns}	0.000013^{ns}	1.81^{ns}
خطای آزمایشی Error	46	1.61	18.74	1254.55	0.728	3.659	5.841	0.00013	1.55
ضریب تغییرات C.V(%)		3.64	7.98	6.28	3.48	2.29	5.72	1.57	10.52

^{ns}، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ می‌باشد.

^{ns},* and ** are not significant, significant at 5% and 1% level of probability, respectively.

کاهش ارتفاع بوته ریحان در اثر کاربرد پاکلوبوترازول به هنگام تنش نیز مشاهده شد گرچه این کاهش معنی‌دار نبود. این کاهش ارتفاع را می‌توان به تأثیر پاکلوبوترازول در کاهش رشد رویشی و ساقه در اثر کاهش فاصله میان گره‌ها و محدود شدن رشد ساقه نسبت داد (۱۱). برهمکنش قارچ و پاکلوبوترازول نیز تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۵) بر ارتفاع ریحان در شرایط عادی داشت اما به هنگام تنش شوری، کاربرد هم‌زمان این دو نتوانست تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه ریحان بگذارد (جدول ۳).

تعداد برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تنش شوری تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۱) بر تعداد برگ گیاه ریحان داشت (جدول ۳). تلقیح قارچی نیز چه در شرایط نرمال (P<۰/۰۱) و چه در شرایط تنش شوری (P<۰/۰۵)، بر تعداد برگ تأثیر معنی‌داری داشت. اما پاکلوبوترازول در شرایط تنش و بدون تنش تأثیر معنی‌داری بر تعداد برگ گیاه ریحان نداشت (جدول ۳). مطابق یافته‌های پژوهش حاضر به‌نظر می‌رسد بیش‌ترین اثر قارچ پیریفورموسپورا بر رشد و نمو گیاه همزیست در شرایط تنش، از طریق افزایش

رشد رویشی و وزن تر و خشک گیاه باشد تا افزایش تعداد برگ آن.

سطح برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنش شوری و تیمار زیستی تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۱) بر سطح برگ گیاه ریحان داشتند. همچنین، همزیستی قارچ شبه‌میکوریز در شرایط تنش شوری نیز روی تعداد برگ تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشت اما کاربرد پاکلوبوترازول که در شرایط نرمال تأثیر معنی‌داری بر تعداد برگ گیاه ریحان نداشت در شرایط تنش شوری توانست سطح برگ ریحان را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (جدول‌های ۳ و ۵). یافته‌های این پژوهش نشان داد تلقیح با قارچ شبه‌میکوریز *پیریفورموسپورا* اثرات منفی تنش شوری بر سطح برگ را به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش داد و این بهبود به‌خصوص در سطح بالای شوری (۹ دسی‌زیمنس بر متر) نمایان‌تر بود (۵۹/۲ درصد بالاتر از شاهد بدون تلقیح) در حالی‌که در سطح صفر شوری این میزان تنها ۱۰/۳٦ درصد بود. این امر می‌تواند نمایانگر این امر باشد که قارچ در سطوح بالای شوری کاراتر عمل می‌کند.

در حالت عادی تقسیم سلولی در لایه‌های بافت مریستمی برگ باعث افزایش اندازه برگ می‌شود. پاکلوبوترازول با کاهش سطح جیبرلین میزان تقسیم شدن سلولی در صفحات مریستمی را کاهش داده که به دنبال آن سطح برگ نیز کاهش می‌یابد (٦۰). اما در شرایط تنش شوری، اسپری برگی پاکلوبوترازول به‌طور قابل‌توجهی اثرات منفی شوری بر سطح برگ ریحان را کاهش داد (در تنش شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر، سطح ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول موجب افزایش ۱٤/۲ درصدی و سطح ٤۰ میلی‌گرم بر لیتر آن موجب افزایش ۳۹/۲۷ درصدی سطح برگ در مقایسه با شاهد گردید).

در این پژوهش برگ‌پاشی پاکلوبوترازول با کنترل متغیرهای مختلف رشد رویشی مانند کاهش سطح برگ، تعداد برگ، ارتفاع و وزن تر و خشک گیاه توانست تحمل در برابر تنش شوری در گیاه را بهبود بخشد. بین زمان کاربرد پاکلوبوترازول و ظهور علائم ناشی از آن در گیاه فاصله زمانی وجود دارد که به عواملی چون زمان کاربرد، غلظت مورد استفاده، میزان تعرق، سرعت حرکت شیره گیاهی و میزان جیبرلین درونی بستگی دارد (٤٤).

طول ریشه: بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، شوری تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه گیاه ریحان داشت (جدول ۳). شوری موجب کاهش طول ریشه ریحان شد و این کاهش با افزایش سطح شوری تا ۹ دسی‌زیمنس به بیش‌ترین حد خود (۳۱/۸٤ درصد کاهش نسبت به شاهد) رسید (جدول ۵). اما در ریحان‌های همزیست‌شده با قارچ این کاهش شدت کم‌تری داشت به‌طوری‌که بیش‌ترین اثر مثبت قارچ در سطوح شوری ٦ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر (با ۲۱/۱۸ و ۲٤/۸۵ درصد افزایش نسبت به تیمار بدون قارچ) به‌دست آمد. به این ترتیب، قارچ شبه‌میکوریز در سطوح شوری متوسط و بالا عملکرد بهتری در مقایسه با سطوح پایین از خود نشان داد. به‌نظر می‌رسد اسید ایندول استیک[1] تولید شده به‌وسیله پیریفورموسپورا عامل مهمی برای اثر مفید این قارچ بر رشد گیاه و به‌ویژه ریشه باشد (٤٦). همچنین قارچ پیریفورموسپورا قادر است با تولید هورمون‌های اکسین و سیتوکینین طول ریشه را افزایش دهد (۳۸). نتایج همچنین نشان داد کاربرد پاکلوبوترازول که در شرایط بدون تنش تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه نداشت، به هنگام تنش شوری توانست طول ریشه را به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش دهد (جدول‌های ۳ و ۵). این افزایش با بالا رفتن درون‌زاد سطوح

1- IAA

سیتوکینین تحت کاربرد پاکلوبوترازول در ارتباط است (۳۱).

محتوای نسبی آب برگ: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد شوری محتوای نسبی آب برگ را به‌طور معنی‌داری ($P<0/01$) تحت‌تأثیر قرار داد (جدول ۳). به‌طوری‌که تا شوری سطح ۹ دسی‌زیمنس بر متر، کاهش محتوای نسبی آب برگ به حداکثر میزان خود یعنی ۹/۲۸ درصد نسبت به شاهد رسید. برهمکنش قارچ و شوری نیز تأثیر معنی‌داری ($P<0/01$) بر محتوای نسبی آب برگ داشت. همزیستی با قارچ پیریفورموسپورا توانست تا حد زیادی اثرات منفی شوری بر کاهش محتوای نسبی آب برگ را تقلیل دهد که بیش‌ترین اثر مثبت قارچ در تیمار شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر با ۱٤/۵۷ درصد افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۵).

کاربرد پاکلوبوترازول اما تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ ریحان نداشت (جدول ۳)، اما تحت تنش شوری وضعیت به گونه دیگری بود و برگ‌پاشی پاکلوبوترازول توانست به‌طور معنی‌داری ($P<0/01$) اثرات مخرب شوری بر محتوای نسبی آب برگ را کاهش دهد. بیش‌ترین تأثیر پاکلوبوترازول با غلظت ٤۰ میلی‌گرم در لیتر و در سطح ۹ دسی‌زیمنس بر متر شوری (با ٦/۳۵ درصد افزایش نسبت به شاهد) مشاهده شد (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس همچنین نشان داد اثر سه‌گانه تلقیح قارچی، کاربرد پاکلوبوترازول و شوری بر محتوای نسبی آب برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار ($P<0/05$) بود و کاربرد هم‌زمان تیمار زیستی و پاکلوبوترازول توانست محتوای نسبی آب برگ ریحان را به هنگام تنش بهبود بخشد (جدول‌های ۳ و ۵).

شواهدی وجود دارد مبنی بر این‌که تقویت کارایی مصرف آب در روابط همزیستی قارچ با گیاه عامل مهمی در افزایش مقاومت به تنش شوری و خشکی از طریق تنظیم اسمزی و تنظیمات روزنه‌ای می‌باشد (۵۸). به‌نظر می‌رسد افزایش محتوای نسبی آب برگ در همزیستی با قارچ شبه‌میکوریز به‌دلیل بهبود روابط آبی در این نوع همزیستی باشد چرا که احتمال می‌رود قارچ از طریق تغییر در ریخت‌شناسی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان موجب افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های خود شده در نتیجه آب بیش‌تری توسط گیاه جذب و موجب بهبود روابط آبی گیاه میزبان می‌گردد (٤٦).

محتوای کلروفیل برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد شوری، تلقیح با قارچ شبه‌میکوریز و برگ‌پاشی با پاکلوبوترازول، محتوای کلروفیل برگ ریحان را به‌طور معنی‌داری ($P<0/01$) تحت‌تأثیر قرار داد (جدول ۳). قرار گرفتن گیاه ریحان در شرایط شور، محتوای کلروفیل برگ را به‌طور معنی‌داری و از ۳/٤۸ درصد در تیمار شوری ۳ تا ۲۰/۹۱ درصد در تیمار ۹ دسی‌زیمنس بر متر کاهش داد (جدول ۵). در عین‌حال، همزیستی با قارچ اثر معنی‌دار ($P<0/01$) بر میزان کلروفیل برگ‌ها در شرایط تنش داشت، به‌طوری‌که تا ۳۲/۵ درصد بهبود محتوای کلروفیل برگ‌ها در تیمار قارچی در مقایسه با شاهد بدون قارچ در سطح آخر شوری (نه دسی‌زیمنس بر متر) مشاهده شد. افزایش میزان کلروفیل برگ‌ها در اثر همزیستی میکوریزایی می‌تواند به‌دلیل افزایش جذب فسفر از خاک توسط این قارچ‌ها باشد (۳). از طرفی دیگر پاکلوبوترازول در شرایط شور تأثیر معنی‌داری ($P<0/05$) بر محتوای کلروفیل برگ‌ها داشت. برگ‌پاشی پاکلوبوترازول با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر توانست ۱۰/٦٦ درصد و با غلظت ٤۰ میلی‌گرم بر لیتر ۱۹/۸۳ درصد موجب بهبود محتوای کلروفیل برگ‌ها در سطح تنش شدید شوری شود (جدول ۵). اما کاربرد هم‌زمان قارچ و پاکلوبوترازول تأثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل برگ‌ها به هنگام تنش شوری نداشت (جدول ۳).

محتوا و عملکرد اسانس: یافته‌های این پژوهش نشان داد که با افزایش سطح شوری، محتوا و عملکرد اسانس ریحان به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) تحت‌تأثیر قرار گرفت (جدول ۳). شوری موجب کاهش میزان محتوای اسانس ریحان شد، هر چند، افزایش اندکی (۲/۷ درصد در مقایسه با شاهد) در میزان محتوای اسانس گیاه ریحان در تیمار شوری ملایم ۳ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. اما با افزایش سطح شوری تا ٦ دسی‌زیمنس بر متر کاهش ۸/۰٤ درصدی در محتوای اسانس گیاه مشاهده شد و زمانی‌که شوری به ۹ دسی‌زیمنس بر متر رسید این کاهش بسیار قابل‌توجه بود و به حدود نصف (۵۲ درصد کاهش) میزان محتوای اسانس تیمار شاهد رسید (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس همچنین نشان داد همزیستی با قارچ *پیریفورموسپورا* تأثیر معنی‌دار بر محتوا و عملکرد اسانس گیاه ریحان داشت (P<۰/۰۱) اما کاربرد پاکلوبوترازول تنها بر عملکرد اسانس تاثیر معنی‌داری (P<۰/۰۱) داشت (جدول ۳). قارچ شبه‌میکوریز توانست محتوای اسانس ریحان را ۲/٤ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش دهد. به این ترتیب عملکرد اسانس ریحان به‌طور معنی‌داری در تیمارهای همزیست شده با قارچ افزایش یافت (۵۱/٤۳ درصد بالاتر از شاهد بدون قارچ). از سوی دیگر، برگ‌پاشی پاکلوبوترازول محتوای اسانس ریحان را افزایش داد، هر چند این افزایش معنی‌دار نبود. همزیستی با قارچ شبه‌میکوریز و کاربرد پاکلوبوترازول اثرات منفی تنش شوری بر عملکرد اسانس گیاه ریحان را کاهش داد به‌طوری‌که تحت تنش شوری شدید (۹ دسی‌زیمنس بر متر) عملکرد اسانس گیاه ریحان در تیمارهای قارچی حدود ٤ برابر تیمارهای شاهد بدون قارچ بود در حالی‌که افزایش عملکرد اسانس در اثر کاربرد پاکلوبوترازول با غلظت ٤۰ میلی‌گرم در لیتر تنها ۷/۷٤ درصد در مقایسه با شاهد بدون پاکلوبوترازول بود (جدول ۵). در عین‌حال اثر سه‌گانه تلقیح قارچی، کاربرد پاکلوبوترازول و شوری بر محتوا و عملکرد اسانس گیاه ریحان معنی‌دار نبود (جدول ۳).

در این آزمایش شاید بتوان درصد بالای اسانس را در تیمار تنش پایین (۳ دسی‌زیمنس بر متر) با کاهش سطح برگ و متعاقب آن افزایش تراکم غده‌های ترشح‌کننده اسانس توجیه کرد. همچنین افزایش محتوای اسانس در گیاهان تحت تنش در تیمار سطح پایین شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش متابولیت‌های اولیه در اثر شوری باشد که تولید محصولات واسطه برای ساخت متابولیت‌های ثانویه را به دنبال دارد (۳۲). اما علت کاهش اسانس در تیمار شوری متوسط و بالا رشد کم بوته‌های ریحان تحت این تیمار می‌باشد. به‌طوری‌که فقط تعداد کمی از بوته‌های تیمار ٦ و به‌خصوص ۹ دسی‌زیمنس بر متر وارد مرحله گلدهی شدند. بر اساس منابع بیش‌ترین میزان اسانس ریحان در اواخر دوره رشد رویشی و اوایل گلدهی مشاهده می‌شود و میزان اسانس با رشد گیاه (مقدار زیست‌توده) رابطه مستقیم دارد (۱۳). با توجه به این‌که گیاه ریحان در مرحله شروع گلدهی کامل دارای بیش‌ترین میزان اسانس است (۵۱)، بنابراین کم بودن تعداد بوته‌های به گل رفته و عدم رسیدن بوته‌ها به مرحله گل‌دهی می‌تواند توضیحی برای پایین بودن درصد اسانس در بوته‌های تحت تیمار تنش شوری شدید باشد.

جدول ٤– مقایسه میانگین اثر شوری، قارچ پیریفورموسپورا و پاکلوبوترازول بر وزن تر و خشک برگ، بوته و ریشه ریحان.

Table 4. The interaction effect of *Piriformospora indica* symbiosis and paclobutrazol foliar spray with soil salinity on leaf, aerial and root fresh and dry weights of *Ocimum basilicum* plants.

وزن خشک Dry weight (g)			وزن تر Fresh weight (g)			شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)	قارچ Fungi
ریشه Root	اندام هوایی Aerial part	برگ Leaf	ریشه Root	اندام هوایی Aerial part	برگ Leaf		
2.37 b(a)	12.225 a(a)	4.796 b(a)	6.75 b(a)	60.31 b(a)	27.91 b(a)	0	-Pi
2.20 c(a)	10.085 c(b)	3.371 d(b)	6.31 c(a)	53.29 d(b)	25.26 d(b)	3	
1.57 e(b)	7.604 e(c)	2.480 e(c)	5.10 f(b)	39.99 f(c)	20.31 f(c)	6	
1.20 f(b)	3.640 g(d)	1.475 f(d)	3.85 g(c)	23.65 h(d)	15.99 g(d)	9	
2.83 a(a)	12.836 a(a)	5.624 a(a)	7.75 a(a)	62.73 a(a)	29.28 a(a)	0	+Pi
2.43 b(ab)	10.890 b(b)	4.838 b(b)	6.48 c(b)	56.48 c(b)	26.90 c(b)	3	
2.24 c(bc)	8.731 d(c)	4.388 c(b)	5.89 d(bc)	45.61 e(c)	23.19 e(c)	6	
1.96 d(c)	6.356 f(d)	4.239 c(b)	5.36 e(c)	35.17 g(d)	20.76 f(d)	9	
0.1085	0.7759	0.3484	0.2041	2.3377	0.9831		LSD at 0.05
			پاکلوبوترازول PBZ ($mg\ L^{-1}$)				
2.19 d(a)	13.573 a(a)	6.050 a(a)	6.62 d(a)	63.72 a(a)	29.46 a(a)	0	0
2.01 e(ab)	11.351 b(b)	4.713 c(ab)	5.86 f(b)	57.48 c(b)	27.04 c(b)	3	
1.65 gh(bc)	7.661 e(c)	3.382 ef(bc)	5.03 g(c)	41.43 f(c)	21.02 f(c)	6	
1.33 i(c)	3.891 g(d)	2.765 h(c)	4.07 i(d)	26.08 i(d)	17.49 g(d)	9	
2.38 c(a)	12.177 b(a)	5.161 b(a)	6.98 c(a)	60.50 b(a)	28.29 ab(a)	0	20
1.98 ef(ab)	10.107 c(b)	3.914 d(ab)	5.83 f(b)	53.48 d(b)	25.63 d(b)	3	
1.69 g(b)	7.918 e(c)	3.243 fg(b)	5.19 g(bc)	41.97 f(c)	20.98 f(c)	6	
1.56 h(b)	4.561 g(d)	2.850 gh(b)	4.56 h(c)	29.52 h(d)	17.61 g(d)	9	
3.24 a(a)	11.843 b(a)	4.420 c(a)	8.15 a(a)	60.33 bc(a)	28.04 bc(a)	0	40
2.96 b(a)	10.005 c(ab)	3.686 de(ab)	7.49 b(a)	53.70 d(b)	25.56 d(ab)	3	
2.37 c(b)	8.924 d(b)	3.677 de(ab)	6.26 e(b)	45.01 e(c)	23.26 e(bc)	6	
1.86 f(c)	6.543 f(c)	2.957 fgh(b)	5.20 g(c)	32.63 g(d)	20.04 f(c)	9	
0.1329	0.9503	0.4267	0.25	2.8631	1.2041		LSD at 0.05

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. حروف خارج پرانتز مقایسه میانگین کلی اثر متقابل و حروف داخل پرانتز نشان‌دهنده مقایسه میانگین به روش برش‌دهی می‌باشند.

Within each column, means fallowed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$). The letters outside and inside the parentheses shows overall and sliced mean comparisons, respectively.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر شوری و قارچ پیریفورموسپورا بر ارتفاع بوته، تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، محتوای کلروفیل برگ، محتوای نسبی آب، محتوا و عملکرد اسانس برگ ریحان.

Table 5. The interaction effect of *Piriformospora indica* symbiosis and paclobutrazol foliar spray with soil salinity on height, leaf number, leaf area, root length, SPAD, RWC, Essential oil content and yield of *Ocimum basilicum* plants.

عملکرد اسانس Essential oil yield ($L.ha^{-1}$)	محتوای اسانس (درصد) Essential oil Content%	محتوای کلروفیل برگ SPAD	محتوای نسبی آب برگ RWC	طول ریشه Root length (cm)	سطح برگ Leaf area (cm^2)	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع بوته Height (cm)	شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)	قارچ Fungi
16.069 b(a)	0.838 c(b)	44.22 b(a)	85.17 cd(a)	26.56 b(a)	735.88 b(a)	69.89 b(a)	40.00 b(a)	0	-Pi
11.542 d(b)	0.857 b(a)	42.41 b(a)	83.44 d(a)	24.83 c(b)	607.42 d(b)	57.56 d(b)	35.44 d(b)	3	
7.709 e(c)	0.777 d(c)	35.28 c(b)	78.72 e(b)	21.89 e(c)	442.94 f(c)	50.67 e(c)	33.50 e(c)	6	
2.329 f(d)	0.394 f(d)	31.86 d(c)	73.43 f(c)	18.78 f(d)	269.54 g(d)	23.33 g(d)	25.72 g(d)	9	
19.19 a(a)	0.853 b(b)	49.42 a(a)	88.50 a(a)	29.11 a(a)	812.15 a(a)	79.56 a(a)	42.33 a(a)	0	+Pi
17.084 b(a)	0.882 a(a)	47.98 a(a)	87.41 ab(a)	27.00 b(b)	666.50 c(b)	62.11 c(b)	37.50 c(b)	3	
13.689 c(b)	0.780 d(c)	44.50 b(b)	85.79 bc(b)	24.56 c(c)	550.17 e(c)	54.78 d(c)	35.22 d(c)	6	
7.049 e(c)	0.416 e(d)	42.21 b(c)	84.12 cd(c)	23.44 d(d)	429.09 f(d)	36.00 f(d)	29.78 f(d)	9	
1.181	0.0108	2.2933	1.8151	0.81	33.609	4.1074	1.2054		LSD at 0.05
				پاکلوبوترازول PBZ ($mg\ L^{-1}$)					
20.345 a(a)	0.840 b(b)	47.13 a(a)	88.89 a(a)	28.17 a(a)	827.48 a(a)	78.50 a(a)	43.42 a(a)	0	0
16.422 bc(a)	0.868 a(a)	44.27 bc(ab)	86.54 bc(a)	26.25 b(a)	706.45 c(b)	59.83 c(b)	38.17 c(b)	3	
10.492 g(b)	0.775 c(c)	38.15 ef(bc)	80.17 fg(b)	22.83 d(b)	439.32 f(c)	52.67 d(b)	35.00 d(b)	6	
4.522 h(c)	0.402 d(d)	33.62 g(c)	76.33 h(b)	20.67 f(b)	296.48 h(d)	32.00 e(c)	29.67 f(c)	9	
17.465 b(a)	0.845 b(b)	46.87 ab(a)	87.06 ab(a)	27.83 a(a)	760.16 b(a)	74.33 ab(a)	40.25 b(a)	0	20
13.642 de(b)	0.868 a(a)	45.28 ab(ab)	85.55 bcd(ab)	26.17 b(a)	652.94 d(b)	60.33 c(b)	35.50 d(b)	3	
10.103 g(b)	0.778 c(c)	39.68 def(bc)	81.97 ef(bc)	23.00cd(b)	511.09 e(c)	52.67 d(c)	34.58 ed(b)	6	
4.673 h(c)	0.405 d(d)	37.20 f(c)	78.82 g(c)	21.00 ef(b)	338.57 g(d)	29.33 e(d)	27.33 g(c)	9	
15.078 cd(a)	0.852 b(b)	46.47 ab(a)	84.56 cd(a)	27.50 a(a)	734.39 bc(a)	71.33 b(a)	39.83 b(a)	0	40
12.877 ef(ab)	0.872 a(a)	46.03 ab(a)	84.17 de(a)	25.33 b(ab)	551.50 e(b)	59.33 c(b)	35.75 d(b)	3	
11.502 fg(b)	0.782 c(c)	41.83 cd(ab)	84.62 cd(a)	23.83 c(bc)	539.27 e(b)	52.83 d(b)	33.50 e(c)	6	
4.872 h(c)	0.408 d(d)	40.28 de(b)	81.18 f(a)	21.67 e(c)	412.90 f(c)	27.66 e(c)	26.25 g(d)	9	
1.4465	0.0132	2.8087	2.223	0.9921	41.163	5.0305	1.4763		LSD at 0.05

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. حروف خارج پرانتز مقایسه میانگین کلی اثر متقابل و حروف داخل پرانتز نشان‌دهنده مقایسه میانگین به روش برش‌دهی می‌باشند.

Within each column, means fallowed by the same letter are not significantly different (P<0.05). The letters outside and inside the parentheses shows overall and sliced mean comparisons, respectively.

اسانس‌ها ترپنوئیدهایی بر پایه واحدهای انتگرال C5 (isoprenoid) می‌باشند. مشتقات فعال (از نظر زیستی) ایزوپرن، isopentenyl pyrophosphate ((IPP) و dimethylallyl pyrophosphate ((DMAPP) می‌باشند. ایزوپرنوئیدهای فعال از نظر زیستی برای ساخته شدن به استیل کوآنزیم A، ATP و NADPH نیاز دارند. از این‌رو تولید اسانس به محتوای فسفر غیرآلی در گیاه وابسته است (۲۹). افزایش جذب عناصر معدنی به‌خصوص فسفر از مهم‌ترین سودمندی‌های قارچ‌های اندوفیت برای گیاه میزبان می‌باشد (۳۸). همچنین تغییر ایجاد شده در تولید اسانس‌ها می‌تواند به‌عنوان پاسخی دفاعی به کلونیزاسیون قارچی در نظر گرفته شود. با توجه به این نکته که خاصیت قارچ‌کشی بسیاری از اسانس‌ها ثابت شده است (۵۷). افزایش میزان اسانس گیاه ریحان در تیمارهای تلقیح‌شده با قارچ پیریفورموسپورا همچنین می‌تواند به‌دلیل افزایش تعداد غدد ترشحی اسانس باشد (۱٦). تعداد بیش‌تر غدد ترشحی نیز به تغییرات هورمونی این گیاهان همزیست مربوط است به‌طوری‌که سطوح بالاتر اکسین، سیتوکینین و جیبرلین در گیاهان تیمار تلقیح قارچی گزارش شده است (۵).

درصد بالای محتوای اسانس در تیمارهای پاکلوبوترازول را می‌توان با کاهش سطح برگ ریحان و به دنبال آن بالا رفتن تراکم غده‌های مترشحه اسانس توجیه کرد. پژوهش‌گران در مطالعه‌ای روی دو گیاه ریحان و نعناع گزارش کردند که بالا بودن تراکم غده‌های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ ناشی از تنش، موجب تجمع بیش‌تر اسانس می‌شود (۱٤). به‌طورکلی تشکیل اسانس و ترکیبات موجود در آن تحت‌تأثیر عوامل مختلفی مانند فتوسنتز، اثرات شدت نور، تنوع فصلی، شرایط اقلیمی، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و نیز تنش‌های محیطی قرار دارد (٤۱).

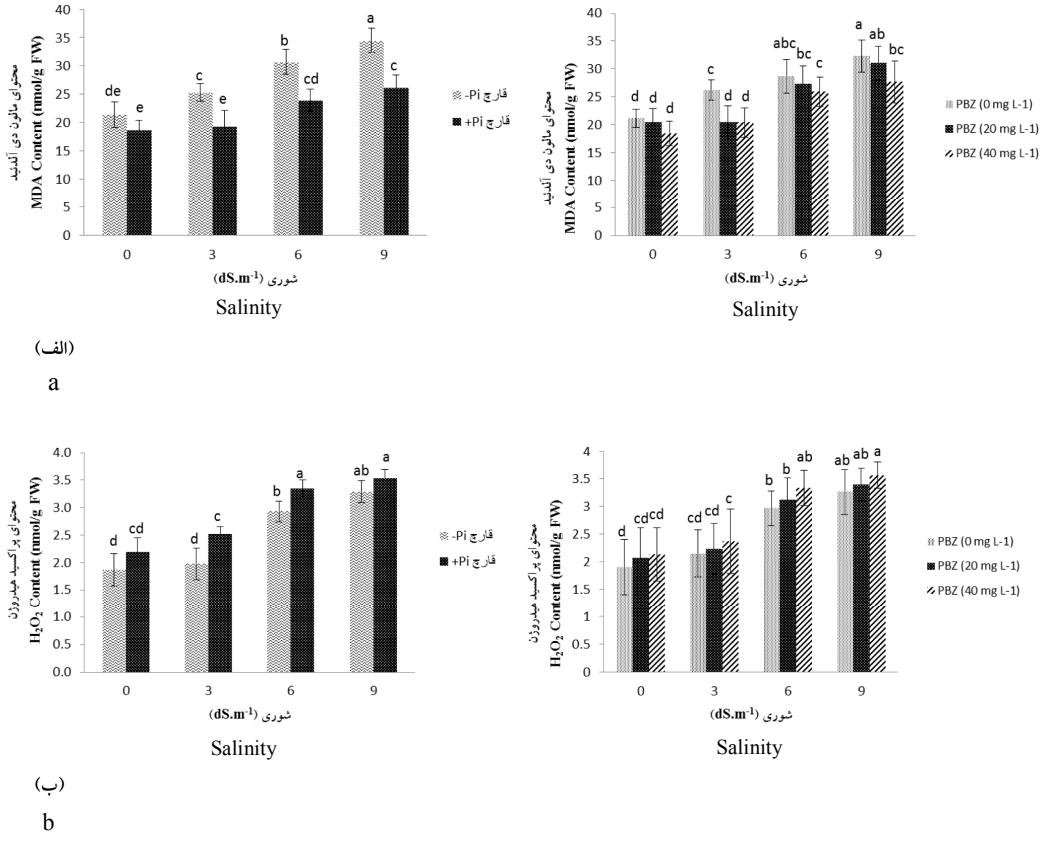
پراکسیداسیون چربی‌ها و پراکسید هیدروژن: پراکسیداسیون لیپید یک فرایند وابسته به رادیکال‌های آزاد است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آنیون‌های سوپراکسید به اسیدهای چرب غیراشباع حمله کرده و موجب تغییر ساختار و عمل غشا و در نهایت شکل‌گیری تولیدات مانند آلدئیدها می‌شود (۱۰). معمولاً افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها به‌عنوان شاخص افزایش تنش اکسیداتیو مطرح می‌شود. افزایش پراکسیداسیون لیپید در گیاهان تحت تنش شوری ناتوانی راهبرد تحمل گیاه به تنش‌های اکسیداتیو را نشان می‌دهد و کاهش در مقدار آن در تیمارهای قارچی و پاکلوبوترازول نشان‌دهنده استحکام راهبردهای تحمل در گیاه می‌باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد میزان مالون دی‌آلدهید با افزایش سطوح شوری افزایش پیدا کرد. این افزایش در سطح ۹ دسی‌زیمنس بر متر با ۵۱ درصد افزایش نسبت به شاهد به حداکثر میزان خود رسید. افزایش میزان مالون دی‌آلدهید به هنگام تنش، به‌طور چشم‌گیری در گیاهان تیمارهای کنترل بدون قارچ بالاتر از تیمارهای قارچی بود. همزیستی ریحان با قارچ شبه‌میکوریز به گیاه امکان مقاومت بهتر در برابر آسیب‌های وارده به لیپیدهای غشایی ناشی از تنش شوری را داد به‌طوری‌که میزان MDA در گیاهان همزیست با *P. indica* به‌خصوص در سطوح شوری بالا کاهش چشم‌گیری داشت (برای مثال در سطح ۹ دسی‌زیمنس بر متر با ۲٤ درصد کاهش در مقایسه با تیمار بدون قارچ) (شکل ۲ الف).

کاربرد پاکلوبوترازول نیز توانست میزان MDA را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد. گرچه کاهش میزان MDA به هنگام تنش شوری معنی‌دار نبود اما سطح ٤۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول در مقایسه با سطح ۲۰ آن در کاهش میزان MDA مؤثرتر بود (شکل ۲ الف).

یافته‌های پژوهش نشان داد میزان H_2O_2 با افزایش تنش شوری افزایش محسوسی داشت. محتوای H_2O_2 گرچه در شرایط بدون تنش در گیاهان قارچی نسبت به گیاهان شاهد افزایش داشت اما به هنگام تنش شوری و در سطوح شوری بالا، میزان این افزایش تنزل یافت (شکل ۲ ب). میزان بالای پراکسید هیدروژن باید به بهترین نحو جاروب شود، در غیر این‌صورت موجب آسیب مولکول‌های زیستی و غشا سلولی و در نهایت پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شود (۵۹). شواهد بیانگر آن است که H_2O_2 می‌تواند به‌عنوان مولکول نشانگر و پیامبر ثانویه در گیاهان عمل کند (۳۷). اخیراً پژوهش‌گران بسیاری گزارش کرده‌اند که تجمع H_2O_2 به هنگام تنش شوری به‌عنوان نشانه‌ای برای پاسخ سازگاری به تنش عمل می‌کند و بنابراین کنترل دقیق میزان غلظلت آن برای هموستازی سلول حیاتی می‌باشد (۴۰). مطالعات گذشته نشان داد قارچ *P. indica* تجمع آسکوربات در سلول‌های ریشه گیاه میزبان را تحریک می‌کند. اسید آسکوربیک به‌عنوان ماده اولیه در چرخه آسکوبات گلوتاتیون برای سم‌زدایی H_2O_2 عمل می‌کند. به‌علاوه، به‌طور مستقیم رادیکال‌های آزاد اکسیژن را خنثی می‌کند (۱۰).

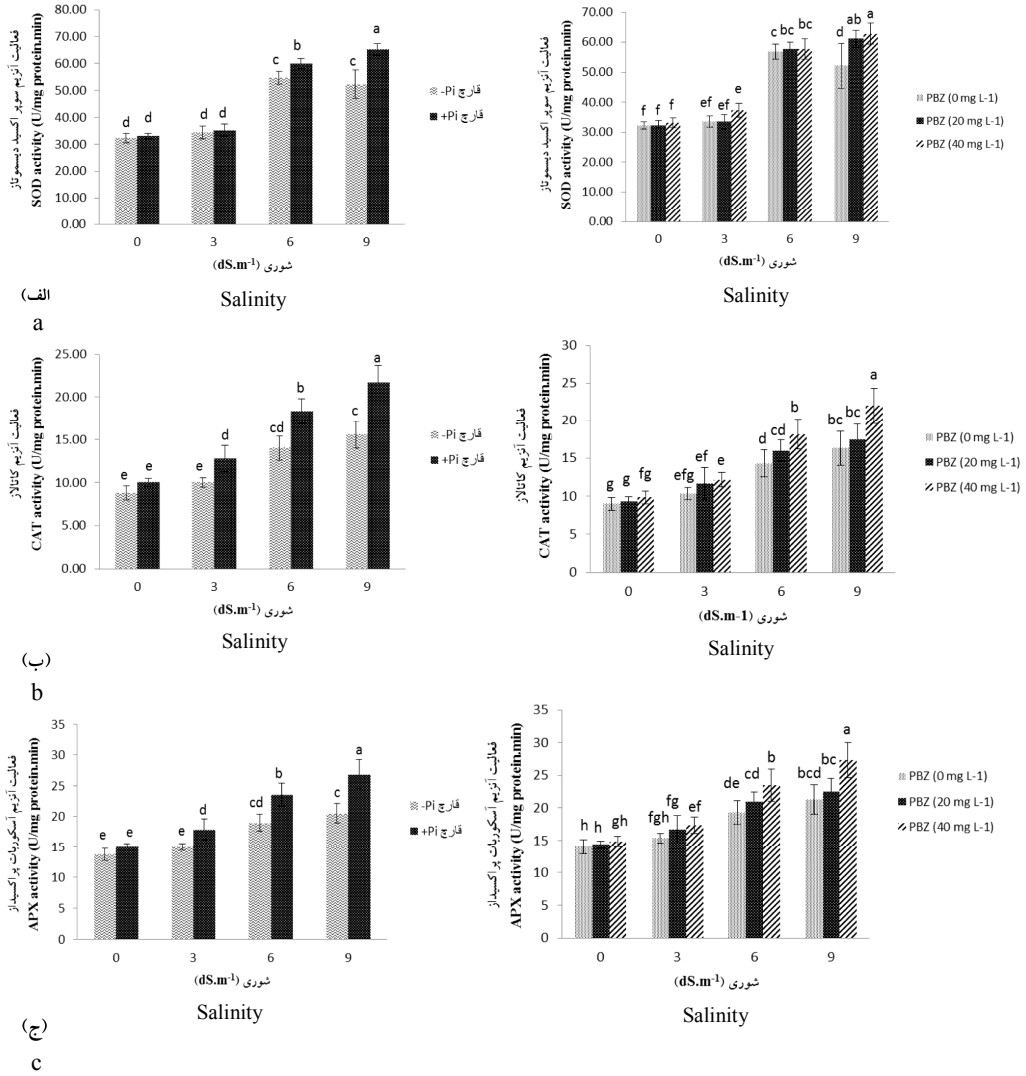
میزان H_2O_2 همچنین با کاربرد پاکلوبوترازول به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. گرچه به هنگام تنش شوری این افزایش معنی‌دار نبود (شکل ۲ ب).



شکل ۲- تأثیر همزیستی قارچ پیریفورموسپورا و کاربرد پاکلوبوترازول بر میزان پراکسیداسیون لیپید (الف) و محتوای پراکسید هیدروژن (ب) در برگ گیاه ریحان. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

Figure 2. Effect of *P. indica* (Pi) inoculation and paclobutrazol (PBZ) application on MDA (a) and H_2O_2 (b) contents in leaves of basil under salt stress.

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی: شوری موجب تحریک تنش اکسیداتیو می‌شود که با بالا رفتن میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH) ایجاد می‌گردد.



شکل ۳- تأثیر همزیستی قارچ پیریفورموسپورا و کاربرد پاکلوبوترازول بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (الف)، کاتالاز (ب)، و آسکوربات پراکسیداز (ج) در برگ گیاه ریحان. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

Figure 3. Effect of *P. indica* (Pi) inoculation and paclobutrazol (PBZ) application on SOD (a), CAT (b) and APX (c) activity in leaves of basil under salt stress.

این گونه‌های فعال اکسیژن برای بقای گیاه به هنگام تنش مضر می‌باشند. اما گیاهان تحت تنش، راهکار دفاعی پیچیده‌ای را شامل مولکول‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌کار می‌گیرند. آنزیم آنتی‌اکسیدانی اولیه که O_2^- را به H_2O_2 و اکسیژن تبدیل می‌کند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌باشد (۸). دو آنزیم مهم بعدی که در دفع H_2O_2 و تبدیل آن به آب و اکسیژن دخالت دارند، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) می‌باشند (۱۲). در شرایط تنش شوری، سامانه‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی

گیاهان می‌تواند با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته و مقاومت به تنش‌های محیطی افزایش یابد (۱۲). با این‌حال، تنش بیش از حد آغاز فرآیندهای اکسیداتیو مخرب مانند پراکسیداسیون لیپیدها، سفیدی کلروفیل، تجزیه پروتئین‌ها، آسیب به اسیدهای نوکلئیک و در نهایت مرگ سلولی است (۵۹).

نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) افزایش یافت (شکل ۳). همچنین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ شبه‌میکوریز در شرایط تنش بالاتر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. نتایج مشابهی در گیاهان دیگر مانند برنج (۱۲)، گندم (۵۹)، جو (۱۰) و کلم چینی (۵۰) به‌دست آمد. به این ترتیب با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان همزیست قارچی در دفع H_2O_2 تولید شده در اثر تنش بهتر عمل کرده و میزان پراکسیداسیون چربی‌ها پایین می‌آید (شکل ۲).

در این پژوهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان همزیست با قارچ شبه‌میکوریز افزایش معنی‌داری داشت (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). وقتی گیاهان قارچی در معرض تنش شوری قرار گرفتند فعالیت این آنزیم افزایش یافت و با بالا رفتن سطوح شوری به حداکثر میزان خود (۲٤/۸۹ درصد بالاتر از شاهد بدون قارچ در سطح نه دسی‌زیمنس بر متر شوری) رسید (شکل ۳ الف). در حالی‌که در گیاهان بدون قارچ در معرض تنش این افزایش تا سطح شوری ٦ دسی‌زیمنس بر متر ادامه داشت و با رسیدن به سطح ۹ اندکی کاهش در فعالیت این آنزیم مشاهده شد (شکل ۳ الف).

هر چند تعیین ساز و کار دقیق عملکرد قارچ در بالا بردن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط شور نیاز به پژوهش‌های بیش‌تر در آینده دارد. مطالعات کالریمتری نشان داد که میزان فعالیت متابولیکی در برگ گیاهان تلقیح‌شده با قارچ به دنبال تیمار شوری افزایش یافت. بنابراین، به‌نظر می‌رسد قارچ *P. indica* می‌تواند بر بازدارندگی اثر شوری بر فعالیت متابولیکی برگ غلبه کند (۱۰). به این ترتیب، افزایش مقاومت به تنش شوری در گیاهان همزیست با قارچ شبه‌میکوریز می‌تواند با فعالیت متابولیکی بالاتر در گیاهان آلوده به قارچ مرتبط باشد.

از سوی دیگر، تریازول‌ها روی تعادل هورمون‌ها، نسبت فتوسنتزی، فعالیت آنزیمی، پراکسیداسیون لیپید و رشد رویشی و زایشی گیاهان مؤثر هستند. این ترکیب‌ها در گیاهان اثرات ریخت‌شناختی و کالبدشناختی و زیست‌شیمیایی بر جای می‌گذارند. اثرات ریخت‌شناختی و کالبدشناختی تریازول‌ها شامل کاهش طول ساقه و طول کرک، افزایش موم، کلروپلاست‌های بزرگ‌تر و افزایش رشد ریشه است. اثرات زیست‌شیمیایی آن‌ها نیز شامل سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش سطح پرولین، آنتی‌اکسیدان‌ها و محتوای رنگدانه سبز می‌باشد (۲۷). یافته‌های این پژوهش نیز نشان داد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان برگ‌پاشی شده با پاکلوبوترازول افزایش قابل‌توجهی داشت. وقتی این گیاهان در معرض تنش شوری قرار گرفتند فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. این افزایش در سطوح بالای شوری محسوس تر بود به‌طوری‌که در سطح ۹ دسی‌زیمنس بر متر شوری غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول موجب افزایش ۱۷/۲۵ درصدی و غلظت ٤۰ میلی‌گرم در لیتر آن موجب افزایش ۲۰/٤۵ درصدی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد (شکل ۳ الف).

یافته‌ها همچنین نشان داد فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان همزیست با قارچ پیریفورموسپورا افزایش چشم‌گیری داشت. وقتی

گیاهان قارچی در معرض تنش شوری قرار گرفتند فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافت و با بالا رفتن سطوح شوری شدت گرفت. به‌طوری‌که در سطح شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر میزان فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به حداکثر مقدار خود (به‌ترتیب ۳۹ و ۳۰ درصد بالاتر از شاهد بدون قارچ) رسید (شکل ۳ ب و ج).

کاربرد پاکلوبوترازول نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد. به هنگام تنش شوری گیاهان برگ‌پاشی شده با پاکلوبوترازول فعالیت بیش‌تر آنزیم کاتالاز را از خود نشان دادند که با شدت گرفتن تنش تا ۹ دسی‌زیمنس بر متر و افزایش غلظت پاکلوبوترازول تا ٤۰ میلی‌گرم در لیتر فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نیز به حداکثر میزان خود (به‌ترتیب ۳٤ و ۳۵ درصد افزایش نسبت به شاهد بدون پاکلوبوترازول) رسید. هر چند میزان افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش در تیمارهای پاکلوبوترازول در مقایسه با تیمارهای قارچی بسیار کم‌تر بود.

افزایش مقاومت به تنش توسط پاکلوبوترازول به واسطه کاهش خسارت رادیکال‌های آزاد و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی صورت می‌گیرد (۱۸). نتایج مشابهی از تأثیر پاکلوبوترازول در بهبود اثرات تنش به‌واسطه تقویت سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی در سایر گیاهان مانند لوبیا چشم‌بلبلی (۳۱)، انبه (٤۸) و گیاه دارویی پروانش (۲۱) نیز گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج کلی به‌دست آمده از این بررسی نشان می‌دهد همزیستی با قارچ شبه‌میکوریز *پیریفورموسپورا ایندیکا* و کاربرد پاکلوبوترازول توانست اثرات نامطلوب تنش شوری بر گیاه دارویی ریحان را حد زیادی خنثی کند. پاکلوبوترازول در غلظت ٤۰ میلی‌گرم در لیتر خود مؤثرتر عمل کرد و قارچ شبه‌میکوریز عملکرد بهتری در شرایط شوری متوسط و بالا نسبت به شرایط شوری پایین از خود نشان داد. با این وجود، شناخت سازوکار چگونگی ایفای این نقش به پژوهش‌های بیش‌تری نیازمند است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت و مساعدت پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، جهت اجرای این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1.Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation.
2.Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.
3.Aghababayi, F. and Raeesi, F. 2011. Mycorrhizal symbiosis effect on chlorophyll, photosynthesis and water use efficiency in four peanut genotypes in Chaharmahal va Bakhtiari province. J. Water Soil Sci. (Sci. Technol. Agric. Nat. Resour.). 1556: 91-101. (In Persian)
4.Ahmadzadeh, M.R. and Rostami, A.K. 2010. Paclobutrazol (PP333) application in horticultural sciences. Zeytoon J. 31: 227. 2-7. (In Persian)
5.Allen, M.F., Moore, Jr.T.S. and Christensen, M. 1980. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: I. Cytokinin increases in the host plant. Can. J. Bot. 58: 371-4.
6.Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. J. Exp. Bot. 53: 1331-1341.

7.Ansari, M.W., Trivedi, D.K., Sahoo, R.K., Gill, S.S. and Tuteja, N. 2013. A critical review on fungi mediated plant responses with special emphasis to *Piriformospora indica* on improved production and protection of crops. Plant Physiol. Biochem. 70: 403-410.
8.Arshad, M. and Rashid, A. 2001. Nitrogen uptake and dry matter production by tomato plants under salt stress. Pak. J. Biol. Sci. 4: 397-399.
9.Ashoori, M., Ashraf, S. and Alipour, Z.T. 2015. Investigating the effect of two species of mycorrhiza fungi and salinity on growth, function and chlorophyll content on *Ocimum basilicum*. Intl. J. Agri. Crop Sci. 8: 503.
10.Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K.H., Schäfer, P., Schwarczinger, I. and Zuccaro, A. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. New Phytol. 180: 501-510.
11.Bañón, S., González, A., Cano, E.A., Franco, J.A. and Fernández, J.A. 2002. Growth, development and colour response of potted *Dianthus caryophyllus* cv. Mondriaan to paclobutrazol treatment. Sci. Hort. 94: 371-7.
12.Bu, N., Li, X., Li, Y., Ma, C., Ma, L. and Zhang, C. 2012. Effects of Na_2CO_3 stress on photosynthesis and antioxidative enzymes in endophyte infected and non-infected rice. Ecotoxicol. Environ. Saf. 78: 35-40.
13.Chang, X., Alderson, P.G. and Wright, C.J. 2008. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. Environ. Exp. Bot. 63: 216-223.
14.Charles, D.J., Joly, R.J. and Simon, J.E. 1990. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry. 29: 2837-2840.
15.Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol. 59: 309-314.
16.Copetta, A., Lingua, G. and Berta, G. 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. Mycorrhiza. 16: 485-94.
17.Faghih Abdollahi, L., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y. and Alavi, S.M. 2015. Effect of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth under copper nitrate levels. J. Soil Manage. Sust. Prod. 5: 113-127. (In Persian)
18.Fletcher, R.A., Gilley, A., Sankhla, N. and Davis, T.D. 2010. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. Hort. Rev. 24: 55-138.
19.Ghahfarokhi, R.M. and Goltapeh, M.E. 2010. Potential of the root endophytic fungus *Piriformospora indica*; *Sebacina vermifera* and Trichoderma species in biocontrol of take-all disease of wheat *Gaeumannomyces graminis* var. tritici in vitro. J. Agric. Technol. 6: 11-18.
20.Hajihashemi, S., Kiarostami, K., Enteshari, S. and Saboora, A. 2006. The effects of salt stress and paclobutrazol on some physiological parameters of two salt tolerant and salt sensitive cultivars of wheat. Pak. J. Biol. Sci. 9: 1370-4.
21.Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P. and Panneerselvam, R. 2007. Responses of antioxidant defense system of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. to paclobutrazol treatment under salinity. Acta Physiol. Plant. 29: 205-209.
22.Käfer, E. 1977. Meiotic and mitotic recombination in Aspergillus and its chromosomal aberrations. Adv. Genet. 19: 33-131.
23.Kafi, M. and Mahdavi Damghani, A.M. 2002. Mechanisms of resistance to environmental stresses in plants. Compiled by Amar Jeet S. Bosra and K. Bosra. Ferdowsi University of Mashhad Press. 467p. (In Persian)
24.Kashefi, B., Ghods, M. and Moghadam, M. 2015. The application of salicylic acid on some morphological and physiological characteristics of *Salvia officinalis* under salt stress. Agric. Crop Manage. (J. Agric.). 17: 2. 431-440. (In Persian)
25.Karami, A. and Zarea, M.J. 2013. Physiological and nutritional responses of inoculated Alfalfa (*Medicago sativa*. cv hamedani) with the fungus *Piriformospora indica* and bacterium Azospirillum Spp under salt stress. Elec. J. Crop Prod. (EJCP). 7: 109-129. (In Persian)

26.Khaliq, S., Ullah, Z., Rehman, A. and Khaliq, R. 2014. Physiological and biochemical basis of salt tolerance in *Ocimun basilicum* L. J. Med. Plant Stud. 2: 18-27.
27.Kishorekumar, A., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Sridharan, R. and Panneerselvam, R. 2007. Comparative effects of different triazole compounds on growth, photosynthetic pigments and carbohydrate metabolism of *Solenostemon rotundifolius*. Colloids Surf B Biointerfaces. 60: 207-212.
28.Kumar, V., Sahai, V. and Bisaria, V.S. 2011. High-density spore production of *Piriformospora indica*, a plant growth-promoting endophyte, by optimization of nutritional and cultural parameters. Bioresour. Technol. 102: 3169-3175.
29.Loomis, W.D. and Corteau, R. 1972. Essential oil biosynthesis. Rec. Adv. Phytochem. 6: 147-185.
30.Lugtenberg, B. and Kamilova, F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. Ann. Rev. Microbiol. 63: 541-556.
31.Manivannan, P., Jaleel, C.A., Kishorekumar, A., Sankar, B., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2008. Protection of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. plants from salt stress by paclobutrazol. Colloids and surfaces B: Biointerfaces. 61: 315-318.
32.Morales, C., Cusido, R.M., Palazon, J. and Bonfill, M. 1993. Tolerance of mint plants to soil salinity. J. Ind. Soc. Soil Sci. 44: 184-6.
33.Morgan, J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 35: 299-319.
34.Mottaghian, A., Pirdashti, H., Bahmanyar, M.A. and Motaghian, B. 2013. Response of growth characteristics and nutrients uptake of basil (*Ocimum basiilicum* L.) to concomitant use of municipal waste compost and three species of Trichoderma. Iran. J. Med. Aromat. Plants. (IJMAPR). 29: 2. 358-372. (In Persian)
35.Oelmüller, R., Sherameti, I., Tripathi, S. and Varma, A. 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. Symbiosis. 49: 1-17.
36.Pirdashti, H., Yaghoubian, Y., Goltapeh, E. and Hosseini, S. 2012. Effect of mycorrhiza-like endophyte (*Sebacina vermifera*) on growth, yield and nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. J. Agr. Sci. Tech. 8: 1651-1661.
37.Quan, L.J., Zhang, B., Shi, W.W. and Li, H.Y. 2008. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. J. Integr. Plant Biol. 50: 2-18.
38.Rai, M., Acharya, D., Singh, A. and 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.
39.Rai, M. and Varma, A. 2002. Field performance of *Withania somnifera* Dunal after inoculation with three species of Glomus. J. Basic Appl. Mycol. 1: 74-80.
40.Reginato, M.A., Castagna, A., Furlán, A., Castro, S., Ranieri, A. and Luna, V. 2014. Physiological responses of a halophytic shrub to salt stress by Na_2SO_4 and NaCl: oxidative damage and the role of polyphenols in antioxidant protection. AoB Plants, 6, p.plu042.
41.Sajjadi, S.E. 2006. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. DARU J. Pharm. Sci. 14: 128-130.
42.Sepehri, M., Saleh Rastin, N., Hossieni Salkedeh, G. and Khayam Nekouie, M. 2009. Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on growth and resistance of *Hordeum vulgare* L. to salinity stress. Rangeland. 3: 508-518. (In Persian)
43.Sergiev, I., Alexieva, V. and Karanov, E. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Com. Rend. Acad. Bulg. Sci. 51: 121-124.
44.Shakeri, F., Baninasab, B., Ghobadi, C. and Mobli, M. 2009. Effect of paclobutrazol concenteration and application methods on vegetative and reproductive growth of strawberry (*Fragaria × ananassa Duch*. cv. Selva). J. Hort. Sci. 23: 2. 18-24. (In Persian)
45.Silva, C., Martínez, V. and Carvajal, M. 2008. Osmotic versus toxic effects of NaCl on pepper plants. Biol. Plantarum. 52: 72-79.

46. Sirrenberg, A., Göbel, C., Grond, S., Cempinski, N., Feussner, I. and Pawlowski, K. 2007. *Piriformospora indica* induces increased root branching in Arabidopsis through IAA production. In Abstract in Meeting Report of Research Group (Vol. 546).
47. Soran, M.L., Cobzac, S.C., Varodi, C., Lung, I., Surducan, E. and Surducan, V. 2009. The extraction and chromatographic determination of the essentials oils from *Ocimum basilicum* L. by different techniques. In Journal of Physics: Conference Series (Vol. 182, No. 1, p. 012016). IOP Publishing.
48. Srivastav, M., Kishor, A., Dahuja, A. and Sharma, R.R. 2010. Effect of paclobutrazol and salinity on ion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.). Sci. Hort. 125: 785-788.
49. Stewart, R.R. and Bewley, J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiol. 65: 245-248.
50. Sun, C., Johnson, J.M., 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. J. Plant Physiol. 167: 1009-1017.
51. Tahsili, J., Sharifi, M., Behmanesh, M. and Ziayi, M. 2010. Gene expression of eugenol O - methyl transferase and components of essential oils in (*Ocimum basilicum* L.) at different stages of growth. Iran. J. Biol. 23: 18-25. (In Persian)
52. Tarchoune, I., Sgherri, C., Baâtour, O., Izzo, R., Lachaâl, M., Navari-Izzo, F. and Ouerghi, Z. 2013. Effects of oxidative stress caused by NaCl or Na_2SO_4 excess on lipoic acid and tocopherols in Genovese and Fine basil (*Ocimum basilicum*). Ann. Appl. Biol. 163: 23-32.
53. Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A. and Oelmueller, R. 2012. *Piriformospora indica*: a novel plant growth-promoting mycorrhizal fungus. Agric. Res. 1: 117-131.
54. Varma, A., Singh, A., Sahay, N.S., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Thakran, S., Deka, D., Bharti, K. and Hurek, T. 2001. *Piriformospora indica*: an axenically culturable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In Fungal Associations. 125-150. Springer Berlin Heidelberg.
55. Varma, A., Verma, S., Sahay, N., Bütehorn, B. and Franken, P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2741-2744.
56. Vierheilig, H., Coughlan, A.P., Wyss, U. and Piché, Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Appl. Environ. Microbiol. 64: 5004-5007.
57. Vos, C.M., Yang, Y., De Coninck, B. and Cammue, B.P.A. 2014. Fungal (-like) biocontrol organisms in tomato disease control. Biol. Control. 74: 65-81.
58. Wu, Q.S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. J. Plant Physiol. 163: 417-425.
59. Yaghoubian, Y., Goltapeh, E.M., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Dolatabadi, H.K., Varma, A. and Hassim, M.H. 2014. Effect of Glomus mosseae and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. J. Agric. Res. 3: 239-245.
60. Yeshitela, T., Robbertse, P.J. and Stassen, P.J. 2004. Paclobutrazol suppressed vegetative growth and improved yield as well as fruit quality of 'Tommy Atkins' mango (*Mangifera indica*) in Ethiopia. N. Z. J. Crop Hort. Sci. 32: 281-93.
61. Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. 2000. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. Plant Physiol. 123: 223-234.
62. Zarea, M.J., Hajinia, S., Karimi, N., Goltapeh, E.M., Rejali, F. and Varma, A. 2012. Effect of *Piriformospora indica* and Azospirillum strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biol. Biochem. 45: 139-146.