

اثر قارچ ریشه های آربوسکولار بر برخی از ویژگی های مورفولوژیکی و

فیزیولوژیکی دانهال های به در شرایط تنش بی کربنات^۱

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Some Morphological and Physiological Characteristics of Quince Seedlings under Bicarbonate Stress Condition

ساره رحیمی، بهرام بانی نسب^{*}، مجید طالبی، مهدیه غلامی و مهدی زارعی^۲

چکیده

به منظور ارزیابی واکنش دانهال های به رقم اصفهان به تنش سدیم بی کربنات در حضور قارچ ریشه ها آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی با چهار سطح سدیم بی کربنات (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی مولار) و چهار تیمار قارچ ریشه (*Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*)، ترکیب دو گونه قارچ و بدون مایه زنی (شاهد)) با سه تکرار اجرا شد. نتیجه ها نشان داد با افزایش غلظت سدیم بی کربنات محلول غذایی درصد آلودگی ریشه، ارتفاع دانهال، تعداد برگ، وزن خشک اندام هوایی، شاخص سبزیگی و ظرفیت آنتی اکسیدان کل برگ به صورت معنی داری کاهش یافت. در مقابل، مایه زنی دانهال ها با قارچ ریشه ها به ویژه گونه *R. intraradices* سبب افزایش این شاخص ها در مقایسه با شاهد شد. همچنین، اگرچه کاهش معنی داری در غلظت آهن ریشه و برگ دانهال های به با افزایش غلظت سدیم بی کربنات مشاهده شد، اما کاربرد قارچ ریشه *R. intraradices* به طور معنی داری سبب بهبود غلظت آهن به ویژه در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی مولار سدیم بی کربنات شد. در این پژوهش، میزان ترکیب های فنولی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز ریشه در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی مولار سدیم بی کربنات پس از تیمار با قارچ ریشه افزایش معنی داری داشت. به طور کلی، می توان پیشنهاد داد که قارچ ریشه ها به ویژه گونه *R. intraradices* با اثر بر ساخت ترکیب های فنولی سبب جذب آسان و افزایش غلظت آهن ریشه و برگ دانهال های به در حضور غلظت های مختلف سدیم بی کربنات شدند.

واژه های کلیدی: ترکیب های فنولی، سدیم بی کربنات، کمبود آهن، *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices*

مقدمه

دستگاه فتوسنتزی گیاهان یکی از سیستم های یاخته ای غنی از اتم های آهن می باشد به طوری که ۸۰ درصد از آهن کل گیاه در یاخته های فتوسنتزی یافت می شود. چنین توزیعی نشان دهنده نقش منحصر به فرد آهن در مسیر زیست ساختی کلروفیل، حفظ ساختار و عملکرد کلروپلاست و فعالیت های اکسیداسیون و احیاء بوده و از این رو کمبود آن سبب کاهش سبزیگی برگ، کاهش بازده فتوسنتزی و نیز کاهش رشد و عملکرد خواهد شد (۲۲). اثر اصلی بی کربنات بر بافت های گیاهی به علت افزایش پی اچ ناشی از اثر یون های HCO_3^- می باشد. این یون ها سبب بافری ساختن یون های هیدروژن و ترکیب های آلی ترشح شده و یا تجمع یافته در بافت های ریشه و بروز مشکل های مرتبط با کمبود آهن مانند کم سبزیگی برگ ها، کاهش رشد و افت عملکرد می گردند (۳۳). به خوبی شناخته شده است که حلالیت آهن نیز به میزان زیادی متأثر از پی اچ خاک می باشد؛ به طوری که با افزایش یک واحد پی اچ حلالیت این عنصر ۱۰۰۰ برابر کاهش می یابد. به طور کلی کمترین میزان آهن قابل حل در خاک در پی اچ

۱- تاریخ دریافت: ۹۹/۹/۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۹

۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم باغبانی، دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان و دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (bbanin@iut.ac.ir).

بین ۶/۵ تا ۸ وجود دارد و در این محدوده از پی‌اچ با محدود شدن دسترسی به عنصرهای پرمصرف و کم‌مصرف کاهش عملکرد و افت محصول رخ می‌دهد (۱۹). آزمایش‌های صورت گرفته روی گلابی و به نشان داده است که غلظت‌های مختلف بی‌کربنات افزون بر اثر بر حلالیت و جذب آهن با اثر بر پی‌اچ آپوپلاستی یاخته مانع از انتقال‌های آوند چوب از ریشه به اندام هوایی و انباشت بیش‌تر آهن در بافت‌های ریشه نیز می‌گردد. بنابراین، گیاهانی که در چنین شرایطی رشد می‌کنند در توسعه و پایداری کلروفیل کارآمد نیستند که نتیجه آن زرد شدن برگ‌ها، رشد ضعیف و کاهش عملکرد می‌باشد (۱۰).

به از جمله درختان کم‌توقع بوده که هرچند تحمل بهتری نسبت به سایر درختان میوه دانه‌دار به شوری آب و خاک و نیز خشکی دارد، اما حساسیت بالایی نسبت به خاک‌های آهکی و قلیایی نشان می‌دهد. به طور کلی درخت به توانایی زیادی برای جذب عنصر آهن از خاک ندارد. از طرفی نیز آهکی و قلیایی بودن خاک سبب کاهش جذب آهن مورد نیاز برای رشد گیاه شده، بروز کم‌سبزیگی را تشدید نموده و در نهایت منجر به کاهش کمیت و کیفیت محصول به ویژه در مناطق مرکزی ایران می‌گردد (۳۱).

امروزه باغبانی مدرن با دو هدف متناقض روبه‌رو می‌باشد که شامل تولید مواد غذایی در سطح وسیع برای جمعیت رو به رشد جهان و در عین حال به کمینه رساندن آسیب به محیط زیست است. به تازگی چندین نوآوری به منظور افزایش پایداری سیستم‌های تولید از راه کاهش قابل توجه در استفاده از مواد شیمیایی ارائه شده است. یکی از ابزارهای امیدوارکننده و مؤثر در این زمینه استفاده از محرک‌های زیستی^۱ است (۳۳). محرک‌های زیستی به گروهی از ریزاندامواره‌های مفید خاک از جمله قارچ‌ریشه‌ها بیان می‌شوند که به منظور بهبود حاصل‌خیزی خاک، عرضه مناسب عنصرهای غذایی مورد نیاز گیاه در یک سیستم کشاورزی پایدار و کاهش استفاده از کودهای شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۳). یکی از نشانه‌های تغذیه ناکافی آهن در برخی از گیاهان عالی از جمله پایه‌های به توقف رشد ریشه و یا ناتوانی در تشکیل ریشه می‌باشد. این امر می‌تواند به تغذیه معدنی گیاه آسیب رسانده و موجب بروز حساسیت بیش‌تر به آهک موجود در خاک گردد (۲۴). در مقابل، اثبات شده است که قارچ‌ریشه‌ها در شرایط تنش‌های زیستی و غیرزیستی به واسطه‌ی تغییرهای مورفولوژیکی مانند افزایش طول و تعداد ریشه‌های جانبی و نیز افزایش طول ریشه اصلی در گیاه میزبان سبب افزایش سطح جذب و کارایی مصرف آب و مواد غذایی از خاک می‌گردند (۳۳). همچنین، عنوان شده است قارچ‌ریشه‌ها اثرهای نامطلوب پی‌اچ بر عملکرد گیاه کدو را به واسطه‌ی حفظ محتوای کلروفیل، نرخ فتوسنتز و نیز بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه (غلظت بالاتر فسفر، پتاسیم، منگنز، روی و به‌ویژه غلظت آهن در بافت برگ) کاهش دادند (۵). اثبات شده است ترکیب‌های فنولی به دلیل دارا بودن ویژگی کلات‌کنندگی آهن، توانایی آزادسازی آهن متصل شده به دیواره یاخته‌ای و نیز احیاء آن را دارا هستند. بنابراین، در شرایط کمبود آهن افزایش غلظت ترکیب‌های فنولی در ریشه منجر به استفاده مجدد از آهن آپوپلاستی و توزیع بیش‌تر آهن به بخش‌های هوایی گیاه می‌شود (۳۲). در مطالعه‌ای روی دانهال‌های نارنج سه برگ افزایش قابل توجهی در زیست‌ساخت ترکیب‌های فنولی و به دنبال آن بهبود جذب آهن در دانهال‌های مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه *Glomus versiforme* گزارش شد (۱۸). یکی از رایج‌ترین سازوکارهای استفاده شده توسط قارچ‌ریشه‌ها در جذب آهن، کلات‌سازی آن به واسطه تولید و ترشح سیدروفورها^۲ است. کمپلکس آهن-سیدروفور توسط ناقل‌های اختصاصی برای قارچ‌ریشه و نیز گیاه میزبان قابل جذب می‌باشد (۱۲). قارچ‌ریشه‌ها همچنین می‌توانند مشابه با گیاهان، آهن غیرقابل جذب را توسط احیاء‌کننده‌های قارچی به آهن قابل جذب تبدیل نمایند (۲۵). افزون بر این، قارچ‌ریشه‌ها در شرایط کمبود آهن می‌توانند آنزیم‌های مرتبط با احیاء آهن مانند آنزیم فریک کلات ردوکتاز در ریشه‌های گیاهان میزبان را فعال نمایند. همان‌گونه که تیمار دانهال‌های مرکبات با قارچ‌ریشه‌ها به واسطه افزایش فعالیت فریک کلات ردوکتاز ریشه در شرایط کمبود آهن منجر به افزایش غلظت آهن ریشه و برگ این گیاهان شد (۳۲).

مطالعه‌های متعددی در زمینه حساسیت پایه‌های به بی‌کربنات و پی‌اچ بالا در دسترس می‌باشد، اما تاکنون پژوهشی در زمینه نقش قارچ‌ریشه‌ها در بهبود تحمل این پایه‌ها به تنش کمبود آهن صورت نگرفته است. با توجه به نقش مثبت قارچ‌ریشه‌ها بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان زیر تنش کمبود آهن، پژوهش حاضر به منظور بررسی نقش قارچ‌ریشه‌ها در افزایش تحمل پایه‌ی بذری به رقم اصفهان به کمبود آهن ناشی از تنش بی‌کربنات انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل (۴×۴) در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی در ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۲ گیاه در گلخانه آموزشی- پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال‌های ۹۶-۹۷ انجام شد. فاکتور اول شامل تیمارهای قارچ‌ریشه *Rhizophagus intraradices*، *Funneliformis mosseae*، ترکیب هر دو گونه قارچ و تیمار شاهد (بدون حضور قارچ‌ریشه) و فاکتور دوم نیز شامل تیمار سدیم بی‌کربنات در چهار سطح صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار بود.

به منظور تهیه دانهال‌های به *Cydonia oblonga* رقم اصفهان، بذرها پس از رفع نیاز سرمایی (قراردهی بذرها به مدت ۸۰ روز در دمای چهار درجه سلسیوس) در کیسه‌های پلاستیکی چهار لیتری حاوی شن و پرلیت (به نسبت حجمی ۱ به ۱) سترون کشت شدند. در بستر سترون هر گلدان، ۱۴۰ گرم مایه تلقیح قارچ (هر گرم حاوی ۱۲-۸ اسپور، تهیه شده از بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز) (۲۶) در فاصله‌ی ۲-۳ سانتی‌متری زیر بذرها قرار داده شد و سپس سطح بذرها توسط دو سانتی‌متر از محیط کشت سترون پوشانده شد. پس از کاشت بذرها، تمامی گلدان‌ها ۲ مرتبه در هفته و به مدت ۳۰ روز با ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول غذایی یک چهارم هوگلند (pH ۶±۰/۱) تغذیه شدند. طی ۳۰ روز بعدی غلظت محلول غذایی به یک دوم افزایش یافت. پس از گذشت این مدت، دانهال‌ها تا پایان آزمایش با محلول غذایی هوگلند کامل آبیاری شدند. محلول غذایی هوگلند کامل مورد استفاده برای تغذیه دانهال‌ها حاوی ۵ میلی‌مولار $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ، ۲ میلی‌مولار MgSO_4 ، ۱ میلی‌مولار KNO_3 ، ۱ میلی‌مولار KH_2PO_4 ، ۴۶/۲۵ میکرومولار H_3BO_3 ، ۹/۱۴ میکرومولار MnCl_2 ، ۰/۸۷ میکرومولار ZnSO_4 ، ۰/۳۲ میکرومولار CuSO_4 ، ۰/۱۱ میکرومولار H_2MoO_4 و ۵۰ میکرومولار Fe-EDDHA بود. همچنین، به منظور اعمال تیمارهای سدیم بی‌کربنات چهار ماه پس از مایه‌زنی دانهال‌ها با قارچ‌ریشه‌ها (در مرحله ۱۶ برگی)، گیاهان با محلول غذایی هوگلند کامل که حاوی چهار سطح سدیم بی‌کربنات (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) به همراه ۰/۵ گرم بر لیتر CaCO_3 که به ترتیب دارای پی‌اچ ۵/۵، ۶/۵، ۷/۵ و ۷/۸ بود هفته‌ای دو مرتبه تیمار شدند. طی مدت آزمایش گیاهان در شرایط نور طبیعی ($2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)، دمای روزانه ۲۵-۲۸ درجه‌ی سلسیوس، دمای شبانه ۱۹-۲۱ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۵-۷۰ درصد رشد یافتند. در نهایت چهار ماه پس از اعمال تیمارهای سدیم بی‌کربنات و زمانی که نشانه‌های کم‌سبزی‌نگی در گیاهان شاهد (عدم حضور قارچ‌ریشه) تیمار شده با غلظت‌های بیش‌تر سدیم بی‌کربنات مشاهده شد، آزمایش خاتمه یافت و پارامترهای زیر اندازه‌گیری شد.

ویژگی‌های مورد بررسی و شیوه اندازه‌گیری

درصد آلودگی ریشه با قارچ‌ریشه‌ها

برای بررسی درصد آلودگی ریشه تعدادی از ریشه‌ها در محلول ۱۰ درصد پتاسیم هیدروکسید به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شدند. سپس ریشه‌ها با آب مقطر شست و شو داده شدند و به مدت ۳۰ دقیقه درون محلول اسید کلریدریک ۱ درصد قرار گرفتند. در ادامه، ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول ۰/۰۵ درصد تریپان بلو در لاکتوگلیسرول (لاکتیک اسید، گلیسرول، آب: به ترتیب ۱، ۱، ۸) در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. در نهایت پس از چندین نوبت شستن ریشه‌ها با آب مقطر درصد آلودگی با استفاده از بینوکولر (Olympus مدل CKX31 ساخت کشور ژاپن) با بزرگنمایی ۴۵ و روش تقاطع شبکه خطوط متقاطع از رابطه زیر تعیین گردید (۱۴).

$$\text{درصد آلودگی} = \frac{\text{تعداد قطعه‌های آلوده به میکوریزا}}{\text{مجموع قطعه‌های مشاهده شده}} \times 100$$

ویژگی‌های مورفولوژیک

ارتفاع گیاه با استفاده از متر با دقت یک میلی‌متر از محل پاهنگ تا مریستم انتهایی اندازه‌گیری شد. تعداد برگ‌های کامل توسعه یافته هر گیاه نیز شمارش گردید. حجم ریشه از اختلاف حجم ایجاد شده پس از قرارگیری ریشه در حجم مشخصی از آب بر حسب سانتی‌متر مکعب محاسبه شد (۲). جهت اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه، نمونه‌های گیاهی در دمای ۶۵ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت (به مدت ۷۲ ساعت) خشک شده و با ترازوی دقیق توزین شدند.

شاخص سبزی‌نگی برگ

شاخص سبزی‌نگی برگ‌های جوان توسعه یافته توسط دستگاه کلروفیل‌سنج (CL-01, Hansatech instruments Ltd) سنجیده شد. بدین ترتیب که از هر گیاه چهار برگ جوان توسعه یافته انتخاب و در هر برگ دو خوانش توسط دستگاه صورت گرفت و سپس میانگین آن‌ها محاسبه شد (۱۷).

ترکیب‌های فنولی کل

به منظور تهیه عصاره متانولی ابتدا ۱۰۰ میلی گرم ریشه در نیتروژن مایع پودر شد و پس از افزودن ۱۰ میلی لیتر متانول ۹۵ درصد به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای محیط قرار داده شد. در ادامه، آمیخته حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت $3000 \times g$ سانتریفیوژ شد. ارزیابی ترکیب‌های فنولی براساس واکنش گر فولین-سیوکالتو انجام شد. به این منظور نخست ۱۵۰ میکرولیتر معرف فولین (۱:۱۰ رقیق شده با آب مقطر) به ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی بالا اضافه شد و پس از گذشت مدت زمان پنج دقیقه میزان یک میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن افزوده شد. در نهایت پس از یک ساعت قرارگیری در تاریکی، جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده شد و غلظت فنل کل بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن تازه محاسبه گردید (۲۷).

ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل

ابتدا ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی برگ (به روش بیان شده در تهیه عصاره متانولی ریشه در قسمت ترکیب‌های فنولی کل) به ۱۹۵۰ میکرولیتر محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH افزوده شد و پس از ۳۰ دقیقه قرارگیری در تاریکی جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) خوانده شد. نمونه شاهد شامل ۵۰ میکرولیتر متانول و ۱۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH بود. درصد بازدارندگی DPPH از رابطه ریز محاسبه گردید (۱۱).

$$\text{DPPH} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب نمونه}} \times 100 = \text{درصد بازدارندگی DPPH}$$

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز

جهت تعیین فعالیت این آنزیم ابتدا ۲۰۰ میلی گرم بافت تازه ریشه‌های جانبی در حضور بافر Tris-HCl (pH ۸/۸) حاوی ۱۰ میلی مولار بتامرکاپتواتانول، ۰/۵ میلی مولار اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و ۲/۵ درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون^۲ یکدست گردید. آمیخته حاصل با سرعت $1000 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد و روشن‌ترین برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. آمیخته واکنش شامل بافر Tris-HCl ۵۰ میلی مولار (pH ۸/۸)، فنیل آلانین ۲۰ میلی مولار و عصاره آنزیمی استخراج شده بود که پس از قرار دادن در دمای ۳۷ درجه سلسیوس واکنش به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. سپس با افزودن ۵۰ میکرولیتر HCl چهار مولار به نمونه‌ها واکنش پایان یافت و میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) اندازه‌گیری شد. از سینامیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و فعالیت آنزیم براساس میکرومول سینامیک اسید بر گرم وزن تازه محاسبه گردید (۳۶).

آهن ریشه و برگ

اندازه‌گیری غلظت آهن ریشه و برگ به روش خاکسترگیری خشک انجام شد. در این روش ۰/۵ گرم از نمونه‌های خشک برگ و ریشه به مدت چهار ساعت در حرارت ۵۵۰ درجه سلسیوس در کوره خاکستر شد. در ادامه، نمونه‌ها با پنج میلی لیتر اسید کلریدریک دو نرمال عصاره‌گیری شده و پس از عبور از کاغذ صافی با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. غلظت آهن ریشه و برگ با دستگاه جذب اتمی (Perkin Elmer, Model 3030, US) اندازه‌گیری شد و نتیجه‌ها بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک محاسبه گردید (۲۸).

واکاوی آماری

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به هر ویژگی به کمک نرم افزار آماری SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. نمودارها و جدول‌ها با نرم افزار Excel-2019 رسم شدند.

نتایج

درصد آلودگی ریشه با قارچ ریشه‌ها

نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تیمارهای مایه‌زنی با قارچ ریشه‌ها و غلظت‌های مختلف سدیم بی‌کربنات در محلول غذایی و نیز برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر درصد آلودگی ریشه دانهال‌های به‌داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین برهمکنش نشان داد بیش‌ترین درصد آلودگی ریشه در غلظت‌های صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات مربوط به گونه *R. intraradices* بود. این در حالی بود که در بالاترین سطح سدیم بی‌کربنات (۱۵ میلی‌مولار) تفاوت معنی‌داری در میزان این شاخص بین تیمارهای مختلف قارچ ریشه مشاهده نشد (جدول ۱). نتیجه‌ها همچنین نشان داد در غلظت ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات درصد آلودگی در همه حالت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت. در همه سطوح سدیم بی‌کربنات هیچ نوع اندام قارچی در تیمار شاهد (بدون مایه‌زنی) مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱- برهمکنش سدیم بی‌کربنات و قارچ ریشه‌ها بر درصد آلودگی ریشه و ویژگی‌های مورفولوژیکی دانهال‌های به‌داشت.
Table 1. Interaction of sodium bicarbonate and arbuscular mycorrhizal fungi on root colonization and morphological characteristics of quince seedlings.

NaHCO ₃ (mM)	Arbuscular Mycorrhizal	آلودگی ریشه (درصد) Colonization (%)	ارتفاع دانهال (سانتی‌متر) Seedling height (cm)	حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب) Root volume (cm ³)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)
0	nAM †	-	84 ^{bc}	8.83 ^{ef}	2.09 ^{de}
	<i>R.intraradices</i>	75.72 ^{a ††}	106 ^a	13.5 ^d	3.35 ^b
	<i>F.mosseae</i>	59.14 ^{bc}	100 ^a	13.83 ^{cd}	3.25 ^b
	<i>R.intraradices</i> × <i>F.mosseae</i>	62.94 ^b	84 ^{bc}	9.66 ^e	2.28 ^{cd}
5	nAM	-	70 ^d	5.83 ^{gh}	1.05 ^f
	<i>R.intraradices</i>	80.03 ^a	90 ^b	17.5 ^{ab}	4.57 ^a
	<i>F.mosseae</i>	55.47 ^{bc}	77 ^c	17.0 ^{abc}	4.61 ^a
	<i>R.intraradices</i> × <i>F.mosseae</i>	51.24 ^{cd}	80 ^c	10.83 ^{de}	2.83 ^{bcd}
10	nAM	-	53 ^f	3.83 ^{hi}	0.86 ^f
	<i>R.intraradices</i>	43.67 ^{de}	78 ^c	18 ^a	3.17 ^{bc}
	<i>F.mosseae</i>	33.54 ^f	64 ^{de}	14.16 ^{bcd}	2.87 ^{bcd}
	<i>R.intraradices</i> × <i>F.mosseae</i>	35.64 ^{ef}	63 ^{de}	7.5 ^{efg}	1.26 ^{ef}
15	nAM	-	52 ^f	2.0 ⁱ	0.68 ^f
	<i>R.intraradices</i>	39.09 ^{ef}	64 ^{de}	9.83 ^e	1.25 ^{ef}
	<i>F.mosseae</i>	31.41 ^f	61 ^e	9.66 ^e	1.14 ^f
	<i>R.intraradices</i> × <i>F.mosseae</i>	32.45 ^f	60 ^e	5.0 ^{ghi}	0.8 ^f
Significance					
Arbuscular Mycorrhizal		***	***	***	***
NaHCO ₃		***	***	***	***
Arbuscular Mycorrhizal × NaHCO ₃		*	**	*	**

† nAM: control, †† The same letters within each column indicate no significant difference among treatments according to LSD test at 5% level of probability.

††حرف‌های مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

ویژگی‌های مورفولوژیک

نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اگرچه تیمارهای مایه‌زنی با قارچ ریشه‌ها و غلظت‌های مختلف سدیم بی‌کربنات محلول غذایی و نیز برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع، وزن خشک ریشه و حجم ریشه دانهال‌های به‌داشت (جدول ۱)، اما برای ویژگی‌های تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی تنها زیر تأثیر اثرهای اصلی (تیمارهای مایه‌زنی با قارچ ریشه‌ها و

غلظت‌های مختلف سدیم بی‌کربنات) قرار گرفت و برهمکنش تیمارها معنی‌دار نبود (داده‌ها ارایه نشده است). افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات محلول غذایی سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع دانهال‌ها شد. در تمامی سطوح سدیم بی‌کربنات محلول غذایی دانهال‌های مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد (بدون مایه‌زنی قارچ‌ریشه) ارتفاع بیش‌تری داشتند. در بین تیمارهای مختلف بیش‌ترین ارتفاع دانهال‌ها مربوط به تیمار قارچ‌ریشه گونه *R. intraradices* بود (جدول ۱). نتیجه‌ها همچنین نشان داد در تیمارهای شاهد حجم ریشه با افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات کاهش یافت. تیمارهای قارچ‌ریشه در همه غلظت‌های سدیم بی‌کربنات محلول غذایی سبب افزایش حجم ریشه دانهال‌های به شدند (جدول ۱). در بین تیمارهای مختلف قارچ‌ریشه، بیش‌ترین افزایش حجم ریشه مربوط به کاربرد گونه *R. intraradices* در غلظت ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات بود که سبب افزایش ۴/۷ برابری حجم ریشه در مقایسه با شاهد مربوط به خود شد (جدول ۱). در تیمارهای شاهد، وزن خشک ریشه در حضور سدیم بی‌کربنات در محلول غذایی کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۱). نتیجه‌ها همچنین نشان داد به استثناء تیمار ۱۵ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات، در سایر تیمارها کاربرد مجزای هر دو قارچ‌ریشه سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه نسبت به گیاهان شاهد مربوط به خود شد (جدول ۱). با افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۱ الف و ب). کاربرد مجزای قارچ‌ریشه‌ها سبب افزایش معنی‌دار تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی دانهال‌های به نسبت به تیمار شاهد شدند (شکل ۱ الف و ب). در مجموع بیش‌ترین تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی به ترتیب با ۲۴/۲۹ و ۴۸/۷۴ درصد افزایش در مقایسه با شاهد مربوط به کاربرد قارچ‌ریشه *R. intraradices* بود (شکل ۱ الف و ب).

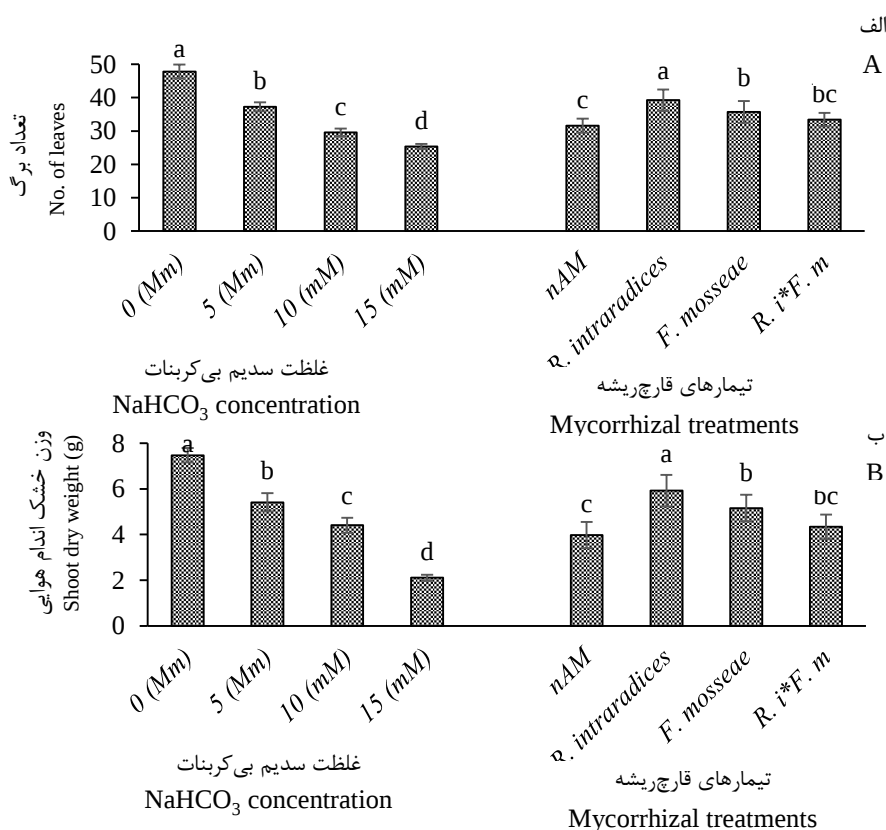


Fig. 1. Effect of sodium bicarbonate levels and mycorrhizal treatments on leaf number (A) and shoot dry weight (B) in quince seedlings. Similar letters indicate no significant difference among treatments according to LSD test at 5% level of probability. †nAM: control, *R. i*F. m*: co-inoculation treatments of *R. intraradices* and *F. mosseae*

شکل ۱- اثر سطوح مختلف سدیم بی‌کربنات و تیمارهای قارچ‌ریشه بر تعداد برگ (الف) و وزن خشک اندام هوایی (ب) دانهال‌های به. حرف‌های مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشند. †nAM: شاهد، *R. i*F. m*: تیمار ترکیبی *R. intraradices* و *F. mosseae*

شاخص سبزی‌نگی برگ

نتیجه‌ها نشان داد افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات محلول غذایی سبب کاهش شاخص سبزی‌نگی برگ‌ها شد (شکل ۲). در شرایط عدم حضور سدیم بی‌کربنات و همچنین در بیش‌ترین غلظت سدیم بی‌کربنات (۱۵ میلی‌مولار) محلول غذایی، کاربرد تیمارهای مختلف قارچ‌ریشه اثری بر شاخص سبزی‌نگی برگ نداشت (شکل ۲). این در حالی است که در غلظت ۵ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات کاربرد مجزای هر دو قارچ‌ریشه و در غلظت ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات محلول غذایی تنها تیمار قارچ‌ریشه *R. intraradices* سبب افزایش معنی‌دار شاخص سبزی‌نگی برگ نسبت به شاهد شد (شکل ۲).

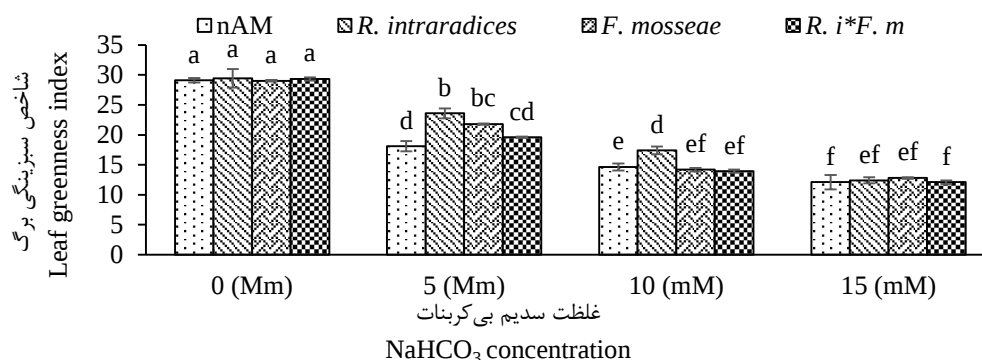


Fig. 2. Interaction of sodium bicarbonate and mycorrhizal on leaf greenness index of quince seedlings. Similar letters indicate no significant difference among treatments according to LSD test at 5% level of probability.

†nAM: control, *R. i*F. m*: co-inoculation treatments of *R. intraradices* and *F. mosseae*

شکل ۲- اثر سطوح مختلف سدیم بی‌کربنات و تیمارهای قارچ‌ریشه بر شاخص سبزی‌نگی برگ دانه‌های به. میانگین‌ها با یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشد. †nAM: شاهد، *R. i*F. m*: تیمار ترکیبی

F. mosseae و *R. intraradices*

ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل

در بین تیمارهای مختلف غلظت سدیم بی‌کربنات محلول غذایی، تنها غلظت‌های بالاتر (۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) سبب کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ نسبت به شرایط عدم حضور بی‌کربنات شدند (شکل ۳). نتیجه‌ها همچنین نشان داد در تیمارهای عدم حضور سدیم بی‌کربنات و در بیش‌ترین غلظت سدیم بی‌کربنات (۱۵ میلی‌مولار) محلول غذایی، کاربرد تیمارهای مختلف قارچ‌ریشه اثری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ نداشت (شکل ۳). در مقابل، در تیمار ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات، کاربرد مجزای هر دو قارچ‌ریشه بدون تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر باعث افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ نسبت به سایر تیمارها شدند (شکل ۳). در غلظت ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات نیز کاربرد قارچ‌ریشه *R. intraradices* سبب افزایش معنی‌دار ۳۲/۵۸ درصدی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ نسبت به تیمار شاهد (بدون مایه‌زنی قارچ) شد (شکل ۳).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز و ترکیب‌های فنولی کل

نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد هر چند تیمارهای مایه‌زنی با قارچ‌ریشه‌ها و غلظت‌های مختلف سدیم بی‌کربنات در محلول غذایی اثر معنی‌دار بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز ریشه داشت، اما برهمکنش آن‌ها معنی‌دار نبود (داده‌ها ارایه نشده است). مقایسه میانگین‌ها نشان داد حضور همه غلظت‌های سدیم بی‌کربنات در محلول غذایی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز ریشه دانه‌های به شدند (شکل ۴ الف). در بین غلظت‌های مختلف سدیم بی‌کربنات بیش‌ترین افزایش فعالیت آنزیم مربوط به غلظت ۵ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات بود که سبب افزایش ۵۱/۵۸ درصدی در فعالیت آنزیم نسبت به شرایط بدون حضور بی‌کربنات گردید (شکل ۴ الف). نتیجه‌ها همچنین نشان داد بالاترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به مایه‌زنی مجزای دانه‌ها با قارچ‌ریشه *R. intraradices* و *F. mosseae* بود که به ترتیب سبب افزایش ۱۸/۳۱ و ۱۵/۰۹ درصدی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز ریشه در مقایسه با شاهد شدند (شکل ۴ الف).

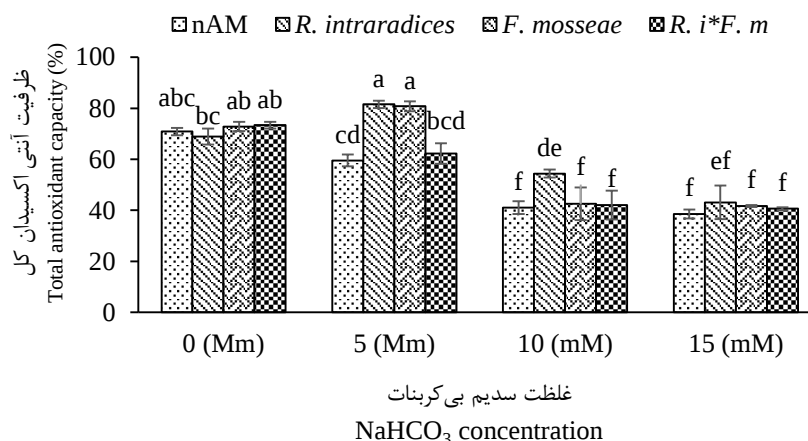


Fig 3. Interaction of sodium bicarbonate and mycorrhizal on leaf total antioxidant capacity of quince seedlings. Similar letters indicate no significant difference among treatments according to LSD test at 5% level of probability.

†nAM: control, *R. i*F. m*: co-inoculation treatments of *R. intraradices* and *F. mosseae*.

شکل ۳- اثر سطوح مختلف سدیم بی کربنات و تیمارهای قارچ ریشه بر ظرفیت آنتی اکسیدان کل برگ دانهال‌های به. میانگین‌ها با یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشد. †nAM: شاهد، *R. i*F. m*: تیمار ترکیبی *F. mosseae* و *R. intraradices*

نتیجه‌ها حاکی از این بود که در شرایط بدون حضور سدیم بی کربنات و همچنین در بیش‌ترین غلظت سدیم بی کربنات (۱۵ میلی‌مولار) محلول غذایی، کاربرد تیمارهای مختلف قارچ ریشه اثری بر میزان ترکیب‌های فنولی کل ریشه نداشتند (شکل ۴ ب). در مقابل در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی کربنات کاربرد مجزای هر دو قارچ ریشه سبب افزایش معنی‌دار میزان ترکیب‌های فنولی کل ریشه در مقایسه با سایر تیمارها شدند (شکل ۴ ب). در مجموع، در هر دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی کربنات بیش‌ترین میزان ترکیب‌های فنولی کل ریشه مربوط به کاربرد قارچ ریشه *R. intraradices* بود که به ترتیب سبب افزایش ۶۸/۳۷ درصدی و ۲/۳ برابری ترکیب‌های فنولی در مقایسه با تیمار بدون مایه‌زنی قارچ ریشه گردید (شکل ۴ ب).

آهن ریشه و برگ

نتیجه‌ها نشان داد همه غلظت‌های سدیم بی کربنات در محلول غذایی سبب کاهش معنی‌دار آهن ریشه و برگ دانهال‌های به نسبت به تیمار بدون حضور بی کربنات شدند (شکل ۵). در شرایط بدون حضور سدیم بی کربنات و همچنین در بیش‌ترین غلظت سدیم بی کربنات (۱۵ میلی‌مولار) محلول غذایی، کاربرد تیمارهای مختلف قارچ ریشه اثری بر میزان آهن ریشه نداشت (شکل ۵ الف). این در حالی است که در غلظت ۵ میلی‌مولار سدیم بی کربنات کاربرد مجزا و همزمان هر دو قارچ ریشه و در غلظت ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی کربنات محلول غذایی تنها تیمار قارچ ریشه *R. intraradices* سبب افزایش معنی‌دار آهن ریشه نسبت به شاهد شد (شکل ۵ الف).

برهمکنش غلظت‌های مختلف سدیم بی کربنات و تیمارهای قارچ ریشه نشان داد تنها در غلظت ۱۵ میلی‌مولار سدیم بی کربنات محلول غذایی، کاربرد تیمارهای مختلف قارچ ریشه اثر معنی‌داری بر میزان آهن برگ دانهال‌های به نداشت (شکل ۵ الف). در مقابل در تیمارهای بدون حضور سدیم بی کربنات و غلظت ۱۰ میلی‌مولار تنها کاربرد قارچ ریشه *R. intraradices* و در غلظت ۵ میلی‌مولار کاربرد مجزای هر دو قارچ ریشه باعث افزایش معنی‌دار غلظت آهن برگ نسبت به تیمار بدون قارچ ریشه شدند (شکل ۵ ب).

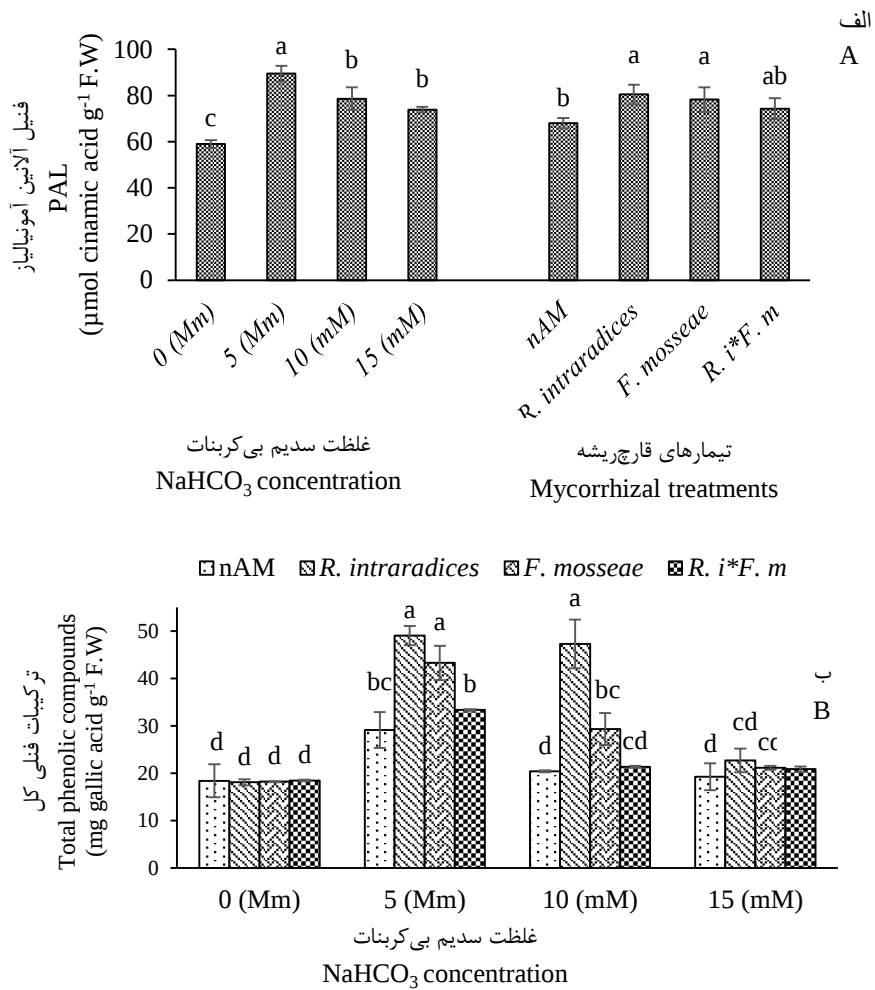


Fig. 4. Interaction of sodium bicarbonate and mycorrhizal on root phenylalanine ammonia-lyase (A) and total phenolic compounds (B) of quince seedlings. Similar letters indicate no significant difference among treatments according to LSD test at 5% level of probability. †nAM: control, *R. i*F. m*: co-inoculation treatments of *R. intraradices* and *F. mosseae*.

شکل ۴- اثر سطوح مختلف سدیم بی‌کربنات و تیمارهای قارچ‌ریشه بر فنیل آلانین آمونیاز (الف) و ترکیب‌های فنولی کل (ب) ریشه دانه‌های به. میانگین‌ها با یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشد. †nAM: شاهد، *R. i*F. m*: تیمار ترکیبی *R. intraradices* و *F. mosseae*

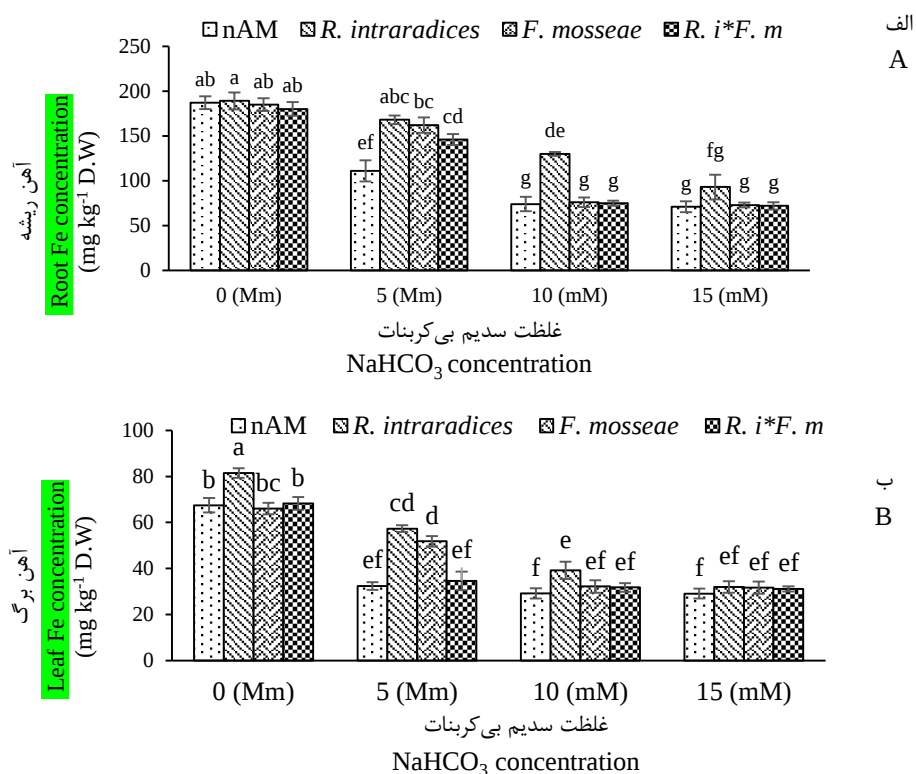


Fig. 5. Interaction of sodium bicarbonate and mycorrhizal on root (A) and leaf (B) Fe concentration of quince seedlings. Similar letters indicate no significant difference among treatments according to LSD test at 5% level of probability. †nAM: control, *R. i*F. m*: co-inoculation treatments of *R. intraradices* and *F. mosseae*.

شکل ۵- اثر سطوح مختلف سدیم بی کربنات و تیمارهای قارچ ریشه بر آهن ریشه (الف) و برگ (ب) دانهال‌های به. میانگین‌ها با یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشد. †nAM: شاهد، *R. i*F. m*: تیمار ترکیبی *R. intraradices* و *F. mosseae*

واکاوی مؤلفه‌های اصلی

به منظور بررسی روابط متقابل بین تیمارها و ویژگی‌های اندازه‌گیری شده واکاوی مؤلفه‌های اصلی انجام شد. نتیجه‌ها نشان داد که مجموع مؤلفه اول و دوم بیش از ۹۳ درصد از واریانس کل بین ویژگی‌ها را توجیه کردند. مؤلفه اول ۸۷ درصد از تغییرها را دارا بود و مؤلفه دوم بیش از ۶ درصد از تغییرها را به خود اختصاص داد. نتیجه‌ها همچنین بیان گر این بود که بین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده و تیمارهای قارچ ریشه به‌ویژه *R. intraradices* در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی کربنات همبستگی‌های بالایی وجود داشت (شکل ۶).

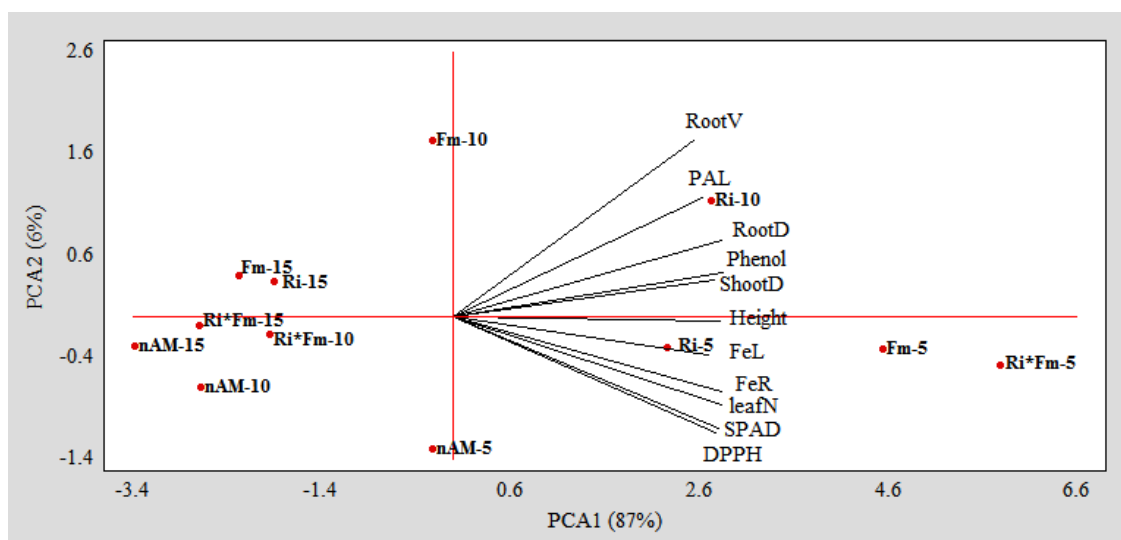


Fig 6. Principal components analysis (PCA) of some morphological and physiological responses of quince seedlings treated with arbuscular mycorrhizal fungi under bicarbonate stress. nAM: control, Ri: *R. intraradices*, Fm: *F. mosseae*, Ri*Fm: co-inoculation treatments of *R. intraradices* and *F. mosseae*, 5: 5 mM NaHCO₃, 10: 10 mM NaHCO₃, 15: 15 mM NaHCO₃. RootV: Root volume, PAL: Phenylalanine ammonia-lyase, RootD: Root dry weight, Phenol: Phenolic compounds, ShootD: Shoot dry weight, FeL: Leaf Fe concentration, FeR: Root Fe concentration, LeafN: No. of leaves, SPAD: Relative leaf chlorophyll content, DPPH: Total antioxidant capacity.

شکل ۶- آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) برخی از پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دانه‌های به تیمار شده با قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار در شرایط تنش بی‌کربنات. nAM: شاهد، Ri: *R. intraradices*، Fm: *F. mosseae*، Ri*Fm: تیمار ترکیبی *R. intraradices* و *F. mosseae*، 5: 5 mM NaHCO₃، 10: 10 mM NaHCO₃، 15: 15 mM NaHCO₃. RootV: حجم ریشه، PAL: فنیل آلانین آمونیالایز، RootD: وزن خشک ریشه، Phenol: ترکیب‌های فنولی کل، ShootD: وزن خشک اندام هوایی، FeL: غلظت آهن برگ، FeR: غلظت آهن ریشه، LeafN: تعداد برگ، SPAD: کلروفیل نسبی برگ، DPPH: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل.

بحث

نتیجه‌های مطالعه حاضر بیانگر کاهش آلودگی ریشه با افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات و پی‌اچ محلول غذایی بود. هم‌راستا با نتیجه‌های پژوهش حاضر گزارش‌ها نشان داده‌اند یکی از عوامل مهم و اثرگذار بر رشد گیاه و قارچ‌ریشه‌ها پی‌اچ خاک می‌باشد و در این رابطه همبستگی منفی بین پی‌اچ خاک و تنژیدن هاگ قارچ، رشد ریشه و میزان آلودگی ریشه نیز گزارش شده است (۱، ۷). همچنین، اشاره شده است که پی‌اچ خاک یکی از مهم‌ترین عامل‌هایی است که هاگ‌زایی قارچ‌ریشه، آلودگی ریشه و تشکیل پوشش (شبکه) ریشه‌ای قارچ خارج از ریشه را زیر تأثیر قرار می‌دهد (۱۲، ۱۶). در پژوهش حاضر، همچنین پاسخ دانه‌های به به آلودگی توسط دو گونه قارچ‌ریشه متفاوت بود. پیشنهاد شده است میزان آلودگی ریشه به میزان زیادی به گیاه میزبان و گونه قارچ‌ریشه بستگی دارد (۳۲).

نتیجه‌ها نشان داد ارتفاع گیاه، تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی دانه‌های به با افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات محلول غذایی کاهش یافت. کاهش رشد گیاهان در غلظت‌های بالای بی‌کربنات به اختلال در فتوسنتز نسبت داده شده است، زیرا یون‌های بی‌کربنات با غیرقابل حل ساختن آهن در محیط کشت و یا با ایجاد اختلال در انتقال آهن درون گیاه سبب آسیب به ساخت کلروفیل، عملکرد فتوسنتزی و رشد گیاه می‌شوند (۳، ۳۱). نتیجه‌های پژوهش حاضر همچنین نشان داد مایه‌زنی دانه‌های به با قارچ‌ریشه‌ها سبب کاهش اثرهای مخرب سدیم بی‌کربنات بر شاخص‌های رشدی می‌شود. در این راستا، گزارش شده است پایه‌های انگور و گیاهان خیار میکوریزایی زیر شرایط آهکی با بهبود جذب و انتقال عنصرهای غذایی وضعیت رشدی (وزن خشک ریشه و اندام هوایی) بهتری در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزایی داشتند (۸، ۲۳). از طرف دیگر وجود گزارش‌هایی که نشان می‌دهند حتی در سطوح و مقادیر کافی عنصرهای غذایی، مایه‌زنی گیاهان با عوامل زیستی موجب افزایش رشد و نمو گیاهان شده است، دال بر این نکته است که افزون بر بهبود جذب و انتقال عنصرهای غذایی، وجود سازوکارهای دیگری از جمله افزایش مواد تنظیم‌کننده رشد مانند اکسین در گیاهان مایه‌زنی شده باعث افزایش رشد بوده است (۱۵). مطالعه‌های بسیاری نیز نشان

داده‌اند که قارچ‌ریشه‌ها با گسترش ریشه‌های خود در محیط ریشه‌گاه و افزایش رشد سیستم ریشه‌ای (افزایش طول ریشه و انشعاب‌های آن) منجر به افزایش سطح ریشه، بهبود جذب آب و عنصرهای غذایی، کاهش تنش اکسیداتیو به وسیله تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه و در نتیجه افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی در شرایط تنش و غیرتنش می‌گردند (۴، ۹، ۳۴). در پژوهش حاضر تیمارهای قارچ‌ریشه به‌ویژه در غلظت‌های کمتر سدیم بی‌کربنات نقش مؤثری در افزایش وزن خشک و حجم ریشه داشتند. افزایش رشد سیستم ریشه‌ای به عنوان یک سازوکار جهت افزایش سطح جذب و سازگاری گیاه به شرایط تنش می‌باشد که در بهبود دسترسی گیاه به عنصرهای غذایی و رویارویی با محدودیت شرایط تنش نقش دارد. ممانعت از رشد ریشه در غلظت‌های بالای بی‌کربنات به افزایش نشت یون‌های پتاسیم مرتبط است که نشان دهنده اثر سوء بی‌کربنات بر یکپارچگی غشای پلاسمایی ریشه می‌باشد (۲۰). نتیجه مطالعه حاضر نشان داد در غلظت‌های بالای سدیم بی‌کربنات کاربرد ترکیبی دو گونه قارچ در مقایسه با کاربرد مجزای آن‌ها اثر کم‌تری بر بهبود شاخص‌های رشدی گیاه داشت. علت این امر به تخصیص بخش قابل توجهی از کربن فتوسنتزی به وسیله ریشه جهت حفظ سوخت و ساز قارچ بیان شده است. افزون بر این، اثر مخرب پی‌اچ بالا بر چرخه زندگی قارچ‌ریشه و به دنبال آن اثر بر فعالیت فتوسنتزی و تأمین انرژی لازم برای فعالیت‌های رشد و نمو گیاه نیز می‌تواند دلیل احتمالی دیگر برای این امر باشد (۱۶).

در پژوهش حاضر کاربرد قارچ‌ریشه‌ها به‌ویژه *R. intraradices* در مقایسه با شاهد سبب افزایش شاخص سبزیگی برگ در حضور بی‌کربنات محلول غذایی شدند. آهن در مسیر ساخت کلروفیل نقش کلیدی دارد و از آن جایی که نقش اصلی همزیستی قارچ‌ریشه افزایش حلالیت و بهبود جذب عنصرهای معدنی از جمله آهن به واسطه آزادسازی سیدروفورها و ترکیب‌های فنولی (عوامل آسان‌کننده جذب آهن) می‌باشد (۲۳، ۳۰)، بنابراین، کاهش آلودگی ریشه با قارچ‌ریشه در شرایط تنش بی‌کربنات می‌تواند اثر منفی بر تغذیه معدنی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه داشته باشد (۱۶). از این رو، تفاوت مشاهده شده در میزان شاخص سبزیگی برگ بین گونه‌های قارچ‌ریشه در پژوهش حاضر می‌تواند به میزان آلودگی ریشه توسط قارچ‌ریشه‌ها مرتبط باشد. اثر بازدارندگی بی‌کربنات بر فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله چندین نژادگان به زیر تنش بی‌کربنات گزارش شده است (۲۱). در یک پژوهش، دانه‌های خیار مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه *R. intraradices* در مقایسه با گیاهان شاهد در شرایط آهکی وضعیت بهتری در میزان شاخص سبزیگی نشان دادند. این رفتار با میزان آهن شاخه همبستگی مثبتی داشته به طوری که گیاهان مایه‌زنی شده افزایش ۲۰ درصدی در میزان آهن شاخه نشان دادند (۲۳). در مطالعه حاضر نیز بر اساس نتیجه‌های حاصل از واکاوی مؤلفه‌های اصلی (شکل ۶) همبستگی بالایی بین میزان آهن برگ و شاخص سبزیگی برگ دانه‌های مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه‌ها در غلظت‌های پایین سدیم بی‌کربنات وجود داشت.

فنیل آلانین آمونیل‌یاز اولین آنزیم در مسیر زیست‌ساختی ترکیب‌های فنولی می‌باشد که نقش مهمی در آمین‌زدایی فنیل آلانین و زیست‌ساخت ترکیب‌های ثانویه گیاهی از جمله فنل‌ها دارد. مطالعه‌های پیشین افزایش غلظت ترکیب‌های فنولی در گیاهان را همسو با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیل‌یاز در شرایط کمبود آهن گزارش داده‌اند که تأییدکننده نتیجه مطالعه حاضر می‌باشد (۳۵). استقرار قارچ‌ریشه‌ها در ریشه گیاهان میزبان نیز سبب انگیزه‌شدن فرایندهای یاخته‌ای و مولکولی مانند فعال‌سازی مسیرهای متابولیکی آنتی‌اکسیدان، فنیل پروپانویید و کاروتنوئیدها در گیاه میزبان می‌شود و این امر به عنوان یکی از سازوکارهای دفاعی این ریزندامواره‌ها در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی تلقی شده است که منجر به افزایش تحمل گیاهان می‌شود (۳). مطالعه‌های اندکی در زمینه مشارکت قارچ‌ریشه‌ها در ساخت ترکیب‌های فنولی و آنزیم‌های مرتبط در شرایط کمبود آهن در دسترس می‌باشد. در این رابطه گزارش شده است دانه‌های نارنج سه برگ مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه *Glomus versiforme* افزایش قابل توجهی در ساخت فنل‌ها در تنش کمبود آهن نشان دادند. نتیجه‌های این مطالعه همچنین نشان داد فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیل‌یاز در ریشه گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه افزایش یافته است که در نهایت منجر به ساخت بیش‌تر فنل‌های ریشه شد. این ترکیب‌ها به واسطه ویژگی‌های کلات‌کنندگی و احیاء‌کنندگی خود در جذب آهن از ذخیره‌های غیرقابل دسترس نقش مؤثری ایفا می‌کنند (۲۹). فنیل آلانین آمونیل‌یاز همچنین در ساخت فلاونوئیدها نقش دارد. فلاونوئیدها ترکیب‌هایی با ویژگی آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که در تنش‌ها محیطی مانند تنش بی‌کربنات با کمک به حذف گونه‌های اکسیژن فعال در حفظ سلامت غشاء یاخته‌ای گیاه نقش مهمی ایفا می‌نمایند (۶).

آهن نقش مهمی در تغذیه گیاه دارد به‌طوری‌که کمبود آن با اختلال در فعالیت‌های آنزیمی سبب تولید گونه‌های اکسیژن فعال و تنش اکسیداتیو می‌گردد. چنانچه گونه‌های اکسیژن فعال توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه خنثی نگردند منجر به آسیب به اجزای یاخته‌ای خواهند شد (۲۹). نتیجه‌های پژوهش حاضر مبنی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر تیمارهای قارچ‌ریشه در شرایط سدیم بی‌کربنات در مقایسه با تیمار شاهد با نتیجه‌های پژوهش صورت گرفته روی گیاه *Catharanthus roseus* در یک راستا می‌باشد. در این مطالعه پیشنهاد شده است که تیمارهای میکوریزایی با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود تحمل گیاهان به تنش ناشی از بی‌کربنات شدند. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر این گیاهان در نتیجه مایه‌زنی با قارچ‌ریشه به تعادل جذب عنصرهای غذایی از جمله آهن عنوان شده است که جهت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ضروری می‌باشند (۶). در مطالعه حاضر نیز نتیجه‌های واکاوی مؤلفه‌های اصلی (شکل ۶) حاکی از وجود همبستگی بالا بین میزان آهن برگ با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای قارچ‌ریشه به‌ویژه *R. intraradices* در شرایط تنش بی‌کربنات بود.

پی‌اچ بالا با کاهش دسترسی به آهن و یا کاهش جذب آن موجب بروز کمبود آهن در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌گردد. در مقابل، قارچ‌ریشه‌ها با بهبود جذب آهن به‌وسیله تحرک آهن در ریشه‌گاه و یا جذب مستقیم آن از راه ریشه‌های برون یاخته‌ای سبب کاهش تنش کمبود آهن می‌شود. در این راستا، کاهش ۳۹ درصدی در غلظت آهن برگ گیاهان خیار با افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات از صفر به ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد؛ در صورتی‌که گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه *R. intraradices* به طور متوسط ۱۴ درصد آهن بیش‌تری داشتند (۲۳). همچنین، میزان آهن دانه‌های نارنج سه برگ در شرایط تنش بی‌کربنات به واسطه‌ی کاربرد قارچ‌ریشه *G. versiforme* در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (۳۲). نتیجه‌های پژوهش حاضر مبنی بر غلظت بیش‌تر آهن در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ‌ریشه‌ها با یافته‌های بالا همسو می‌باشد. از آنجایی‌که نقش اصلی همزیستی قارچ‌ریشه بهبود جذب عنصرهای معدنی می‌باشد و کاهش آلودگی قارچ‌ریشه می‌تواند اثر منفی بر تغذیه معدنی و رشد گیاه داشته باشد، بنابراین یکی از دلایل احتمالی تفاوت بین گونه‌های قارچ‌ریشه در جذب آهن در مطالعه حاضر می‌تواند به میزان آلودگی ریشه نیز مرتبط باشد. افزون بر این، افزایش دسترسی به آهن در گیاهان میکوریزایی می‌تواند با زیر تأثیر قرار دادن حلالیت آهن به واسطه افزایش میزان ترکیب‌های آسان‌کننده جذب آهن مانند فنل‌ها و یا سیدروفورها نیز مرتبط باشد (۲۳). در پژوهش حاضر نیز با توجه به نتیجه‌های واکاوی مؤلفه‌های اصلی (شکل ۶) همبستگی بالایی بین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز و کاربرد قارچ‌ریشه *R. intraradices* در سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات مشاهده شد. همچنین، بین میزان فعالیت این آنزیم با ترکیب‌های فنولی و آهن برگ و ریشه نیز رابطه نزدیکی وجود داشت. بنابراین، می‌توان پیشنهاد داد که به احتمال قارچ‌ریشه‌ها به واسطه اثر بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز و تحریک تولید ترکیب‌های فنولی در حضور سدیم بی‌کربنات سبب جذب بیش‌تر آهن توسط دانه‌های به شدند. در مجموع مطالعه‌ها نشان داده‌اند که بهبود جذب آهن توسط قارچ‌ریشه‌ها به دلایلی از جمله جذب مستقیم آهن توسط ریشه‌های برون یاخته‌ای قارچ‌ریشه (۶)، کاهش پی‌اچ ریشه‌گاه با افزایش فعالیت پمپ $H^+-ATPase$ (۱۳)، احیاء آهن از راه افزایش فعالیت آنزیم فریک کلات ردوکتاز (۳۲)، کلات‌سازی آهن به‌واسطه ساخت ترکیب‌های فنولی (۱۸) و ترشح سیدروفورها (۲۵) و نیز اثر بر بیان ژن‌های فریک ردوکتاز اکسیداز (۳۲) و فنیل آلانین آمونیالیز (۱۸) ریشه مرتبط می‌باشد.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های پژوهش حاضر به‌طور کلی می‌توان عنوان نمود که در مقابل اثر منفی تیمار سدیم بی‌کربنات بر ویژگی‌های رشدی، شاخص سبزی‌نگی برگ و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در دانه‌های به، مایه‌زنی با قارچ‌ریشه‌ها به‌ویژه گونه *R. intraradices* به‌واسطه افزایش ساخت ترکیب‌های فنولی سبب کاهش اثرهای مخرب یون‌های بی‌کربنات بر این شاخص‌ها شد. افزایش ترکیب‌های فنولی ریشه ناشی از افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در ریشه دانه‌های به در نتیجه کاربرد قارچ‌ریشه‌ها در شرایط سدیم بی‌کربنات می‌تواند یکی از سازوکارهای احتمالی در بهبود جذب و انتقال آهن در دانه‌های به در این شرایط باشد.

References

- Aditya, K., M. Chhavi, A. Ashok and P. Vipin. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungal dynamics in the

منابع

- rhizospheric soil of five medicinal plant species. Middle East J. Sci. Res. 6: 281–288.
2. Akhavan, S., M. Shabanpour and M. Esfahani. 2012. Soil compaction and texture effects on the growth of roots and shoots of wheat. J. Water Soil 26: 727-735. (In Persian)
 3. Baslam, M., I. Garmendia and N. Goicoechea. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved growth and nutritional quality of greenhouse-grown Lettuce. J. Agric. Food Chem. 59: 5504–5515.
 4. Begum, N., C. Qin, M. A. Ahanger, S. Raza, M. I. Khan, M. Ashraf, N. Ahmed and L. Zhang. 2019. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: Implications in abiotic stress tolerance. Front. Plant Sci. 10.
 5. Cardarelli, M., Y. Rouphael, E. Rea and G. Colla. 2010. Mitigation of alkaline stress by arbuscular mycorrhiza in zucchini plants grown under mineral and organic fertilization. J. Plant Nutr. Soil Sci. 173: 778–787.
 6. Cartmill, A.D., A. Alarcón and L.A. Valdez-Aguilar. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of *Rosa multiflora* cv. burr to bicarbonate in irrigation water. J. Plant Nutr. 30: 1517–1540.
 7. Cartmill, A.D., L.A. Valdez-Aguilar, D.L. Bryan and A. Alarcón. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of vinca to high alkalinity in irrigation water. Sci. Hortic. 115: 275–284.
 8. Cattolica, U., S. Cuore, V. Emilia, L. Bavaresco and C. Fogher. 1996. Lime-induced chlorosis of grapevine as affected by rootstock and root infection with. Vitis 35: 119–123.
 9. Diagne, N., M. Ngom, P. I. Djighaly, D. Fall, V. Hocher and S. Svistoonoff. 2020. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and performance: importance in biotic and abiotic stressed regulation. Diversity 12: 1–25.
 10. Donnini, S., A. Castagna, A. Ranieri and G. Zocchi. 2009. Differential responses in pear and quince genotypes induced by Fe deficiency and bicarbonate. J. Plant Physiol. 166: 1181–1193.
 11. Ebrahimzadeh, A., S. Hosseini-mehr, A. Hamidinia and M. Jafari. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. Pharmacologyonline 1: 7–14.
 12. Fortin, J. A., G. Bécard, S. Declerck, Y. Dalpé, M. St-Arnaud, A. P. Coughlan and Y. Piché. 2002. Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. Can. J. Bot. 80: 1–20.
 13. Gianinazzi-Pearson, V., C. Arnould, M. Oufattole, M. Arango and S. Gianinazzi. 2000. Differential activation of H⁺-ATPase genes by an arbuscular mycorrhizal fungus in root cells of transgenic tobacco. Planta 211: 609–613.
 14. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84: 489–500.
 15. Klironomos, J.N. 2003. Variation in plant response to native and exotic. Ecology 84: 2292–2301.
 16. Labidi, S., M. Calonne, F. Ben Jeddi, D. Debiane, S. Rezgui, F. Laruelle, B. Tisserant, A. Grandmougin-Ferjani and A. Louns-Hadj Sahraoui. 2011. Calcareous impact on arbuscular mycorrhizal fungus development and on lipid peroxidation in monoxenic roots. Phytochemistry 72: 2335–2341.
 17. Li, G. Y., D. P. Aubrey and H. Z. Sun. 2017. Predictive capability of a leaf optical meter for determining leaf pigment status during senescence. Photosynthetica, 55: 543–552.
 18. Li, J.F., X.H. He, H. Li, W.J. Zheng, J.F. Liu, and M.Y. Wang. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi increase growth and phenolics synthesis in *Poncirus trifoliata* under iron deficiency. Sci. Hort. 183: 87–92.

19. Lindsay, W. 1995. Chemical reactions in soils that affect iron availability to plants. A quantitative approach, in: Abadia, J. (Ed.), Iron Nutrition in Soils and Plants. Kluwer Academic, Holland, pp. 7–14.
20. Marschner, P., D. Crowley and Z. Rengel. 2011. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis-model and research methods. *Soil Biol. Biochem.* 43: 883–894.
21. Mohammadi, S., B. Baninasab, A. H. Khoshgoftarmanesh and A. Ghasemi. Response of *Cydonia oblonga*, pear and hawthorn rootstocks to iron deficiency. 2015. *J. Sci. Technol. Greenhouse Culture* 5: 127-133. (In Persian)
22. Reinboth, C., S. Bartsch, L. Eggink, J. Hooper, J. Brusslan, R. Andrade-Paz, J. Monnet, and S. Reinbothe. 2006. A role for chlorophyllide a oxygenase in the regulated import and stabilization of light-harvesting chlorophyll a/b proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 4777–4782.
23. Rouphael, Y., M. Cardarelli, E. Di Mattia, M. Tullio, E. Rea and G. Colla. 2010. Enhancement of alkalinity tolerance in two cucumber genotypes inoculated with an arbuscular mycorrhizal biofertilizer containing *Glomus intraradices*. *Biol. Fertil. Soils* 46: 499–509.
24. Rout, G.R. and S. Sahoo. 2015. Role of iron in plant growth and metabolism. *Rev. Agric. Sci.* 3: 1–24.
25. Saha, R., N. Saha, R. S. Donofrio and L. L. Bestervelt. 2013. Microbial siderophores: A mini review. *J. Basic Microbiol.* 53: 303–317.
26. Shahsavari A. R., T. Moghadam, M. Zarei and E. Aslmoshtaghi. 2018. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and iron sources on growth parameters and nutrients uptake of Mexican lime. *J. Water Soil Sci.* 28: 83-94. (In Persian)
27. Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods. Enzym.* 299: 152–178.
28. Takkar, P.N. and N.P. Kaur. 1984. HCl method for Fe^{2+} estimation to resolve iron chlorosis in plants. *J. Plant Nutr.* 7: 81–90.
29. Tewari, R.K., Kumar, P., Neetu and P.N. Sharma. 2005. Signs of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants. *Plant Sci.* 169: 1037–1045.
30. Trouvelot, S., L. Bonneau, D. Redecker, D. van Tuinen, M. Adrian and D. Wipf. 2015. Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 35: 1449–1467.
31. Valipour, M., B. Baninasab, A.H. Khoshgoftarmanesh and M. Gholami. 2020. Oxidative stress and antioxidant responses to direct and bicarbonate-induced iron deficiency in two quince rootstocks. *Sci. Hortic.* 261: 108933.
32. Wang, M., P. Christie, Z. Xiao, C. Qin, P. Wang, J. Liu, Y. Xie and R. Xia. 2008. Arbuscular mycorrhizal enhancement of iron concentration by *Poncirus trifoliata* L. Raf and *Citrus reticulata* Blanco grown on sand medium under different pH. *Biol. Fertil. Soils* 45: 65–72.
33. Wu, T., H.T. Zhang, Y. Wang, W.S. Jia, X.F. Xu, X.Z. Zhang and Z.H. Han. 2012. Induction of root $Fe(III)$ reductase activity and proton extrusion by iron deficiency is mediated by auxin-based systemic signalling in *Malus xiaojinensis*. *J. Exp. Bot.* 63: 859–870.
34. Wu, Q. S., Y. N. Zou and R. X. Xia. 2006. Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive

- oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. Eur. J. Soil Biol. 42: 166–172.
35. Yang, H.Y., T. Dong, J.F. Li and M.Y. Wang. 2016. Molecular cloning, expression, and subcellular localization of a *PAL* gene from *Citrus reticulata* under iron deficiency. Biol. Plant. 60: 482–488.
36. Zimmermann, A. and K. Hahlbrock. 1975. Light-induced changes of enzyme activities in parsley cell suspension cultures: Purification and some properties of phenylalanine ammonia-lyase (E.C. 4.3.1.5). Arch. Biochem. Biophys. 166: 54–62.

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Some Morphological and Physiological Characteristics of Quince Seedlings under Bicarbonate Stress Condition

S. Rahimi, B. Baninasab*, M. Talebi, M. Gholami and M. Zarei¹

In order to evaluate the response of quince cv. Isfahan seedlings to sodium bicarbonate stress in the presence of mycorrhizal, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design in the presence of four levels of soil sodium bicarbonate (0, 5, 10, and 15 mM) and four levels of mycorrhizal (*Rhizophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae*, the combination of two species and no inoculation (control)) with three replications. The results showed a significant decrease in root colonization, seedling height, leaf number, shoot dry weight, relative leaf chlorophyll content, and total leaf antioxidant capacity with increasing sodium bicarbonate concentration in the nutrient solution. In contrast, seedlings inoculated with mycorrhizal, especially *R. intraradices*, increased these indices compared to the control treatment. Although a significant decrease in the roots and leaves iron concentration of quince seedlings was observed with increasing the concentration of sodium bicarbonate, the use of *R. intraradices* significantly improved the iron content, especially at concentrations of 5 and 10 mM sodium bicarbonate. A significant increase in the concentration of phenolic compounds and the phenylalanine ammonia-lyase enzyme activity was observed in concentrations of 5 and 10 mM sodium bicarbonate by mycorrhizal treatments. In general, it can be suggested that mycorrhizal, especially *R. intraradices*, probably facilitates the iron uptake and increases iron content in roots and leaves of quince seedlings in the presence of different concentrations of sodium bicarbonate by affecting the synthesis of phenolic compounds.

Keywords: *Funneliformis mosseae*, Iron deficiency, Phenolic compounds, *Rhizophagus intraradices*, Sodium bicarbonate.

1.Ph.D. Student and Professor, Department of Horticulture, Associate Professor, Department of Biotechnology, Associate Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, and Associate Professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (bbanin@iut.ac.ir).