Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
Phycological Society of Iran

Examining of symbiotic effects of Mycorrhiza (*Glomus mosseae*) with bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Under drought stress conditions

Farzaneh Etemadi[1], Sara Saadatmand[2*], Rahim Ahmadvand[3], Iraj Mehregan[4], Amin Azadi[5]

[1] Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: etemadi.farzaneh@yahoo.com
[2] Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: s_saadatmand@srbiau.ac.ir
[3] Seed and Plant Breeding Research Institute, Mahdasht Street, Karaj, Iran. Email: ahmadvandra@gmail.com
[4]Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: imehregan@srbiau.ac.ir
[5] Department of Plant Breeding, Islamic Azad University, Yadegar Imam Khomeini (RA) Branch, Shahr-e Ray, Tehran, Iran. Email: azadi.amin@gmail.com

Article type:
Research article

Article history
Received: 25.2.2024
Revised:06.06.2024
Accepted:22.06.2024
Published:22.09.2024

Keywords
Antioxidant enzymes
Drought stress
soluble carbohydrates
Bread wheat
Mycorrhiza

Abstract

In order to investigate the effect of the symbiosis of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on the growth, yield, chlorophyll content and morphophysiological characteristics of Chamran wheat seedlings *(Triticum aestivum L.)*, a research in the form of a factorial experiment in the form of a randomized complete block design and in four replications in 2016 It was carried out in the research laboratory of Islamic Azad University, Science and Research Unit, Tehran. The experimental factors included two levels of drought stress (agricultural capacity and 50% of agricultural capacity) and two levels of mycorrhizal inoculation (inoculation and no mycorrhizal inoculation). The evaluated traits included chlorophyll, carotenoid, flavonoid, anthocyanin, proline, soluble carbohydrate, membrane lipid peroxidation, phenol, total protein, catalase, and superoxide dismutase and ascorbate peroxidase enzymes. The results of variance analysis of the data showed a significant decrease in drought stress of photosynthetic pigments, flavonoids, anthocyanins and soluble sugars at the level of 1% and a significant increase in phenol, proline and total protein and a decrease in the content of malondialdehyde in wheat plants. Also, the studies revealed that the activities of catalase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase enzymes increased under drought stress. In general, the application of mycorrhizal treatment increased and improved the growth and promoted the activity of antioxidant enzymes. The result is that in water shortage conditions, the use of mycorrhizal fungi by creating changes in physiological processes and activating the antioxidant defense system and biochemical changes, gives the plant the possibility of better adaptation under dry conditions and the effective role of this fungus in increasing growth and resistance to stress. It means bread in the wheat plant.

Cite this article as: Etemadi, Saadatmand, S., Ahmadvand, R., Mehregan, I., Azadi, A. (2024). Examining of symbiotic effects of Mycorrhiza (*Glomus mosseae*) with bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Under drought stress conditions. Journal of Plant Environmental Physiology, 19(3): 147-165.

©The autor (s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: https://doi.org/10.71890/iper.2024.984479

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

بررسی اثرات همزیستی قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae*) با گندم نان (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش خشکی

فرزانه اعتمادی[۱]، سارا سعادتمند[۲]*، رحیم احمدوند[۳]، ایرج مهرگان[۴]، امین آزادی[۵]

[۱] گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران ، ایران، رایانامه:etemadi.farzaneh@yahoo.com
[۲] گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات ، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، رایانامه: s_saadatmand@srbiau.ac.ir
[۳] موسسه تحقیقات اصلاح بذر و گیاهان، خیابان ماهدشت، کرج، ایران، رایانامه:ahmadvandra@gmail.com
[۴]گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات ، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، رایانامه:imehregan@srbiau.ac.ir
[۵] گروه اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، تهران، ایران، رایانامه:azadi.amin@gmail.com

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۰۲
تاریخ چاپ:۱۴۰۳/۰۷/۰۱

چکیده

به منظور بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های آرباسکولار میکوریز و تنش خشکی بر رشد، عملکرد، محتوای کلروفیل و خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه گندم رقم چمران (*Triticum aestivum* L.)، پژوهشی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در چهار تکرار در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل ۲ سطح تنش خشکی(ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و دو سطح تلقیح میکوریزی (تلقیح و عدم تلقیح میکوریزی) بودند. صفات مورد ارزیابی شامل سنجش کلروفیل، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین، پرولین، کربوهیدرات محلول، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، فنل‌ها ، پروتئین کل، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز بود. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان دهنده کاهش معنی‌دار تنش خشکی بررنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و قندهای محلول در سطح یک درصد و افزایش معنی‌دار فنل، پرولین و پروتئین کل و کاهش محتوای مالون دی آلدئید گیاه گندم بود. همچنین بررسی‌ها مشخص نمود که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز وآسکوربات پراکسیدازتحت تنش خشکی افزایش یافتند. بطور کلی به کارگیری تیمار میکوریزی موجب افزایش و بهبود رشد و ارتقا فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گردید. نتیجه اینکه در شرایط کم‌آبی، استفاده ازقارچ‌های میکوریز با ایجاد تغییرات در فرآیندهای فیزیولوژیکی و فعال شدن سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و تغییرات بیوشیمیایی، به گیاه امکان سازگاری بهتر تحت شرایط خشکی را می دهد و بر نقش موثر این قارچ در افزایش رشد و مقاومت به تنش در گیاه گندم نان دلالت دارد.

واژه‌های کلیدی:
آنزیم‌های آنتی اکسیدان
تنش خشکی
کربوهیدرات محلول
گندم نان
میکوریز

استناد: اعتمادی، فرزانه؛ سعادتمند، سارا؛ احمدوند، رحیم؛ مهرگان، ایرج؛ آزادی، امین. (۱۴۰۳). بررسی اثرات همزیستی قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae*) با گندم نان (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش خشکی. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۱۹(۳)، ۱۶۵-۱۴۷.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
Doi: https://doi.org/10.71890/iper.2024.984479
© نویسندگان.

مقدمه

خشکی در حال حاضر به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی شناخته شده است که باعث کاهش رشد و تولید محصولات می‌گردد (Moucheshi et al.,2012). همچنین باعث بسته شدن روزنه‌ها و به موازات آن کاهش فتوسنتز خالص و کاهش کارایی مصرف آب می‌شود که در نهایت منجر به کاهش رشد و توسعه گیاه خواهند شد (Li et al., 2019). علاوه بر این، خشکی می تواند منجر به کاهش پتانسیل آب سلول‌هاو کاهش درصد رشد و بهره وری گیاهان شود (Gholamhoseini et al., 2013). گیاهان برای محافظت و کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر رشد خود، برخی واکنش‌های سریع را از طریق تغییر در خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان می دهند (Bettaieb Rebey et al., 2012). بر اساس نتایج تحقیقات انجام شده، از جمله اثرات متداول تنش خشکی بر گیاهان، ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو است (Farooq et al., 2009) که با تولید گونه‌های اکسیژن فعال یا ROS (Reactive Oxygen Species) منجر به پراکسیداسیون لیپیدها (Honglin et al., 2019)، تخریب پروتئین‌ها (Oliviera- Neto et al., 2009) وآسیب‌های اسید نوکلئیک می‌شود (Hagar et al.,1996) برای جلوگیری یا کاهش آسیب‌های ناشی از ROS، گیاهان سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی بصورت آنزیمی و غیر آنزیمی دارند(Fazeli et al., 2007) که شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و پلی‌فنل اکسیداز (PPO) و ترکیبات غیر آنزیمی مانند پرولین، آسکوربات، گلوتاتیون، توکوفرول، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها می‌باشند (sairam et al., 2005). به‌طورکلی، استراتژی‌های متابولیکی گیاهان با تغییر در سطح مولکولی و بیوشیمیایی باعث شده است که گیاه با تقویت مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی دفاعی به تنش خشکی پاسخ دهد (Tattini et al., 2004)، بطوریکه افزایش فعالیت آنزیم‌های APX، CAT، GR و SOD در گیاه، باعث کاهش آسیب‌های ناشی از تنش خشکی می‌گردد (Khalil et al., 2006). حقیقات نشان داده است که تنش خشکی سبب تغییرات متفاوت فیزیولوژیکی در گیاه می‌شود، که از آن جمله می توان به افزایش میزان اسید آمینه پرولین (Hatamvand et al., 2014)، کاهش آب نسبی برگ (Hamed et al., 2014)، افزایش میزان قندهای محلول (Ma et al., 2006)، افزایش مقاومت روزنه‌ها (Kusvuran et al., 2011) و افزایش میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی اشاره نمود. لازم به ذکر است، میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای ضروری در حفظ ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد و نتایج مطالعه اخیر نشان داده است که تنش خشکی، یک عامل محدود کننده در رشد گیاه بوده و باعث کاهش میزان کلروفیل a و b و کلروفیل کل می‌گردد (Mazarie et al., 2019). همچنین تولید فلاونوئیدها را تحت تاثیر قرار داده و باعث افزایش میزان تولید آن می‌گردد (Asadi kavan et al., 2010). در رابطه با قندهای محلول نیز گزارشی دال بر افزایش این دسته ازترکیبات در پاسخ به تنش‌های محیطی در گیاهان وجود دارد (Tajmmlian et al., 2012).

گندم اصلی ترین ماده غذایی و مهمترین محصول برای تأمین مواد غذایی جهان است وکاهش نرخ رشدی آن، به عنوان یک چالش قابل پیش بینی در جهان می‌باشد (Panhwar et al., 2019). از جمله گیاهان قابل توجهی که خشکی تأثیر بسزائی بر روند رشد آن می‌گذارد، گندم نان می‌باشد (Brenchley et al., 2012). گندم اصلی‌ترین ماده غذایی و مهمترین محصول برای تولید غذا در سطح جهان است

(Panhwar et al., 2019) و کاهش نرخ تولید آن به عنوان یک چالش قابل پیش بینی در سراسر جهان، به ویژه برای تأمین نیاز کشورهای پرجمعیت تا سال ۲۰۵۰ است. قارچ‌های آرباسکولار میکوریزایی از جمله قارچ‌های با ارزشی هستند که زیستگاه آن‌ها خاک بوده و به عنوان همزیست با ریشه گیاهان از طریق شبکه وسیعی از هیف‌ها در خاک و ریزوسفر اطراف، می توانند فسفر و نیتروژن را جذب و این عناصر را به گیاه میزبان منتقل نمایند (Mathu et al., 2019; Alvarez et al., 2009). همچنین، باعث افزایش جذب آب و کاهش اثرات منفی آلودگی محیط‌زیست می‌گردند (Santander et al., 2017). در سال‌های اخیر، بسیاری از مطالعات نشان داده اند که رشد گیاهان می‌تواند توسط قارچ‌های میکوریزا بهبود یابد (Baum, -Tohamy, and Gruda, 2015; Bowles et al., 2018). این قارچ‌ها می‌توانند مواد مغذی و آب را در اختیار سایر گیاهان قرار داده و خطر تنش‌های غیر زنده مانند خشکی را با افزایش تولید آنتی اکسیدان‌ها و بیان ژن‌های مرتبط با خشکی کاهش داده و سبب مقاومت به خشکی گردند. با توجه به وسعت مناطق خشک در ایران، افزایش مقاومت گیاه به خشکی می تواند به کشاورزی پایدار کمک شایانی نموده و این مسئله اهمیت تحقیقات مرتبط با تنش خشکی در این گیاه استراتژیک را گوشزد نماید. از این رو، این مطالعه با هدف ارزیابی میزان همزیستی قارچ میکوریزا با گندم نان و بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و دفاعی آنتی اکسیدانی آن در برابر این همزیستی تحت شرایط تنش خشکی، انجام گردید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه گندم نان (*Triticum aestivum* L.) واریته چمران در همزیستی با قارچ میکوریزا به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های تصادفی با چهار تکرار، در آزمایشگاه گیاهشناسی بخش بیولوژی واحد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام گردید. خاک مورد استفاده ترکیبی از خاک مزرعه، ماسه و پرلیت به نسبت ۱:۱:۲ بود و قبل از شروع آزمایش برای جلوگیری از اثرات ناخواسته سایرمیکروارگانیسم‌های موجود ،خاک مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو تمام اتوماتیک استریل گردید. بذر گندم و اسپورهای *G. mosseae* به‌ترتیب از موسسه اصلاح بذر و نهال کرج و بانک بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد رفسنجان تهیه گردید. در ابتدا، بذور گندم نان غربال شده و بذور سالم پس از ضدعفونی و شستشو در تاریکی جهت جوانه زنی در پتری دیش ۱۲ سانتی متری قرارگرفته و در نهایت کشت شدند. فاکتورهای آزمایش شامل ۲ سطح تنش خشکی (ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و دو سطح تیمار با قارچ (تلقیح با اسپور و عدم تلقیح با اسپور) بود. برای هر گلدان حاوی میکوریز با حجم یک لیتر۱۲/۵ گرم اسپور وزن شد و با خاک مخلوط گردید و در هرگلدان ۲۰ عدد بذر جوانه زده گندم با فواصل منظم در عمق ۵ سانتی متری خاک قرار داده شد و پس از گذشت ۷ هفته از اعمال تنش نمونه برداری از اندام‌های گیاهی (برگ و ریشه) انجام گرفت. گیاهچه‌ها در دستگاه ژرمیناتور ۷۲۰ لیتری (KBWF BINDER, 720) با سیکل روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و ۸ ساعت تاریکی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷ هفته متوالی رشد نمودند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ و کاروتنوئیدها از روش (Lichtenthaler,1987) استفاده شد. ۰/۰۵ گرم برگ

جوان انتخاب شد و پس از تکه تکه شدن با ۸۰ درصد استون درهاون چینی، یکدست شد و سپس با کاغذ صافی Whatman No.2 صاف شد. برای محاسبه میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها، جذب محلول در طول موج‌های ٦٦٣/٢ نانومتر (کلروفیل a)، ٦٤٦/٨ نانومتر (کلروفیل b) و ٤٧٠ نانومتر (کاروتنوئیدها) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS تک پرتوی Jenway قرائت و برای کالیبره نمودن دستگاه، از استون ۸۰ درصد به‌عنوان شاهد استفاده شد و در نهایت میزان این رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$Chla= (12.25\ A_{663.2}-2.79\ A_{646.8})$
$Chlb= (21.21\ A_{646.8}-5.1\ A_{663.2})$
$ChlT= chla+chlb$
$Car= [1000\ A470-1.8\ chla-85.02\ chlb]\ /198$

سنجش فلاونوئیدها: برای اندازه‌گیری فلاونوئیدها از روش Krizek (1998) استفاده گردید. ابتدا ۰/۱ گرم نمونه گیاه تازه با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (الکل اتیل و اسید استیک سرد به نسبت حجم ۹۹ : ۱) و بعد از سانتریفیوژ عصاره (به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۸۰۰۰ گرم، در حمام آبگرم به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و شدت جذب در ۳۳۰ نانومتر خوانده شد و در نهایت نتایج بر اساس درصد جذب گزارش شد (Krizek, 1998).

سنجش آنتوسیانین‌ها: به‌منظور اندازه‌گیری آنتوسیانین برگ از روش Rabino و Mancinelli (1986) استفاده شد. آزمایش به گونه‌ای بود که، ابتدا ۰/۱گرم نمونه برگ تازه گیاه، بدون رگبرگ‌های اصلی، در ۵ میلی‌لیتر مخلوط متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول و ۳ میلی‌لیتر اسید کلریدریک صاف و یکدست شد، سپس رسوب حاصل مجدداً با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی شسته و جذب در ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و مقدار آنتوسیانین بر حسب میکرومول بر گرم گزارش شد (Rabino and Mancinelli, 1986).

سنجش پرولین: استخراج پرولین وارزیابی آن با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. برای تهیه مخلوط واکنش، ۱/۲۵ گرم نین هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک روی حرارت ملایم حل شد. پس از آن، ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار اضافه شد و کاملاً هم زده شد. در ادامه ۰/۵ گرم از بافت گیاه را برداشته و در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد (یا اسید سولفوریک ۳ درصد) به‌مدت ۳ دقیقه خرد و یکدست شد. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ واتمن صاف و حجم آن ثبت شد و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک با ۲ میلی‌لیتر عصاره صاف شده، مخلوط شدند. سپس با قرار دادن لوله‌های آزمایش در یخ واکنش کامل شد و پس از آن ، به محتویات هر لوله، ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و به مدت ۱۵ ثانیه با شدت هم زده شد. مایع رویی از فاز آبی جدا شد و جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتردر ۵۲۰ نانومتر تعیین شد (Bates et al.,1973).

سنجش کربوهیدرات‌های محلول: جهت سنجش کربوهیدرات‌ها از روش Sumogi و Nelson(1952) استفاده شد. ۰/۱ گرم از وزن خشک یا مرطوب گیاه (ریشه یا برگ) را با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر بر روی حرارت قرار داده و پس از جوشاندن محلول، محتوای آن صاف گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر سولفات مس را به ۲ میلی‌لیتر از محلول فوق در یک لوله آزمایش اضافه شده و لوله‌های آزمایش به مدت ۸ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از خنک شدن لوله‌ها، ۲ میلی‌لیتر از محلول اسید فسفومولیبدیک را اضافه کرده و لوله‌ها را به شدت تکان داده تا محلول آبی شد و در نهایت جذب نمونه‌ها را در ٦٠٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و محاسبه شد (Sumogi and Nelson, 1952).

سنجش مالون دی آلدئید: برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپید غشایی توسط آزمایش اسید تیوباربیتوریک (TBAT) با مالون دی آلدئید (MDA) استفاده شد. برای تعیین میزان مالون دی آلدئید از روش Heath و Packer's (1968) استفاده شد. ۰/۲ گرم بافت ریشه تازه در ۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک ۰/۱ درصد (TCA) آسیاب شد و عصاره در ۱۰۰۰ گرم به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر مایع رویی سانتریفیوژ شده، ٤ میلی‌لیتر TCA، ۰/۲ درصد حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب داغ و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد گرم شد و بلافاصله در یخ قرار گرفت و مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب مایع رویی در ۵۳۲ نانومترتوسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان جذب سایر رنگدانه‌های غیر اختصاصی در طول موج ٦۰۰ نانومتر تعیین شد و از این مقدار کسرگردید (Heath and Packer's, 1968).

سنجش فنل کل: فنل کل، طبق پروتکل ابراهیم‌زاده و همکاران (۲۰۰۸) اندازه‌گیری شد. ۰/۵ سی‌سی عصاره بدست آمده با ۵ سی سی فولین سیوکالتو که به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده را مخلوط کرده و ٤ سی سی کربنات سدیم یک مولار اضافه کردیم. محلول حاصل ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و در طول موج ۷٦۵ نانومتر در اسپکتروفتومتر خوانده شد و از طریق منحنی استاندارد اسیدگالیک محاسبه و بر حسب اکی والان گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک گزارش گردید.

سنجش پروتئین کل: در این مطالعه، برای اندازه‌گیری پروتئین کل از روش بردفورد (Bradford,1976) استفاده شد. بطوریکه به ۰/۵ گرم بافت گیاه (ریشه یا برگ) در حمام یخ بافر استخراج، اضافه شد و همگن سازی به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (نسبت بافر استخراج به نمونه گیاهی ۵ میلی‌لیتر به ۰/۵ گرم است). سپس عصاره‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ گرم در ٤ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. از مایع رویی شفاف برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. این محلول تا زمان آزمایش در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. به ۵ میلی‌لیتر معرف بردفورد ، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استخراج شده اضافه شد. پس از ۲۵ دقیقه، جذب هر لوله در ۵۹۵ نانومتر در مقابل شاهد اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (1984) استفاده شد. بدین منظور، مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (با اسیدیته ۷) که محتوی ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود و فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهشی در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲٤۰ نانومتر محاسبه شد (cm^{-1} M^{-1} m ۰/۰٤۳٦= ضریب خاموشی).

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز: برای سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز از روش Beyer و همکاران (۱۹۸۷) استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش در لوله‌های کوچک قرار داده شد. علاوه بر این، دو لوله دیگر حاوی مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی، یکی به عنوان یک خالی برای دستگاه صفر کردن و دیگری برای کنترل استفاده شد. لوله‌های خالی بلافاصله به یک اتاق تاریک منتقل شدند و لوله‌های دیگر با فویل پیچیده شد، تا نوربالا نور بتابد و سپس آنها به ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شدند. تابش به لوله‌ها با فاصله ۳۰ سانتی متر از لامپ به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد، سپس لوله‌ها به تاریکی منتقل شده و جذب آنها در طول موج ٥٦۰ نانومتر خوانده شد و میزان فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب در دقیقه در هر

میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید (Beyer et al.,1987).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز: برای بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با پیگیری میزان پراکسیداسیون آسکوربات در ۲۹۰ نانومتر از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) استفاده شد. واکنش با افزودن مقادیر مناسب عصاره آنزیمی (۰/۱ میلی‌لیتر) در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر مخلوط واکنش آغاز گردید و میزان فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

تحلیل آماری: تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ورژن ۹/۱ انجام گردید و مقایسات میانگین نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد انجام گردید.

نتایج

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۱) که تاثیر ساده خشکی بر محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و باعث کاهش محتوای کلروفیلی گردید. تلقیح میکوریز اثر افزایشی معنی‌دار در سطح یک درصد داشت، اما اثرات متقابل خشکی و قارچ معنی‌دار نبود. تلقیح قارچ باعث افزایش این رنگیزه‌ها گردید که نشان دهنده تاثیر مثبت قارچ بر میزان کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی در گیاه میزبان است. در مقایسه میانگین داده‌ها (جدول۲) تغییرات میزان رنگیزه‌های کلروفیلی بین تیمارهای مختلف مشاهده گردید که بیشترین مقدار کلروفیل در تلقیح با میکوریز، کلروفیل a، کلروفیلb و کلروفیل کل به‌ترتیب (٦/٤٨، ۲/۲۲ و ۸/۷۰ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین میزان در تیمار خشکی به ترتیب (٤/٤٨، ۰/۷۵ و ۵/۲۳ میلی‌گرم برگرم) بود. در ضمن، افزایش محتوای کاروتنوئیدها نشان داد که تاثیر خشکی وخشکی به همراه میکوریز اختلاف معنی‌داری را ندارند و تنها در شرایطی که تلقیح با میکوریز صورت گرفت افزایش معنی‌دار در سطح پنج درصد داشته است. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نیز نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئیدها در تیمار خشکی به همراه میکوریز (١/٤٤ میلی‌گرم برگرم) و کمترین میزان در تیمار میکوریز (۱/۱۵ میلی‌گرم بر گرم) بود.

فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و قندهای محلول: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول۱) که خشکی بر تمام فاکتورها (فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های اندام‌های هوایی و قندهای محلول ریشه و اندام هوایی) در سطح یک درصد اثر معنی‌دار داشت، اما تلقیح میکوریز در این صفات بی معنی بود. در ضمن در راستای اثرات متقابل خشکی و قارچ در میزان فلاونوئیدها اندام‌های هوایی و قندهای محلول ریشه و اندام هوایی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در حالیکه در محتوای آنتوسیانینی اثر معنی‌دار در سطح یک درصد مشاهده گردید. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نیز تغییرات فلاونوئیدها را اینگونه نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئیدها در تیمار میکوریزی به میزان (۷۲/۷۵ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین میزان آن (۵۲/۷۵ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار خشکی بود. بیشترین مقدار آنتوسیانین‌ها به ترتیب در تیمار با میکوریز و کمترین آن در تیمارخشکی به میزان (۷/۰٤۵ و ٤/۸۲ میلی‌گرم بر گرم) بود. مقایسه میانگین داده‌ها نیز در مورد قندهای محلول ریشه و اندام‌های هوایی بیشترین میزان قند محلول ریشه و اندام هوایی را به‌ترتیب در تیمارخشکی در ریشه (٦/۰۸۵ و ۳/۷۲ میلی‌گرم برگرم) و در اندام هوایی در تیمار میکوریز (٤/۵۷ و ۲/۹۱ میلی‌گرم بر گرم) بود.

پرولین و فنل کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول۱) که اثر ساده خشکی و قارچ بر میزان پرولین و

فنل کل گیاه گندم نـان در سـطح یـک درصـد معنـی‌دار است. تنش خشکی باعث افزایش میزان پـرولین گردیـده است که این افزایش در تنش‌های غیر زیستی مورد انتظار اسـت. مقایسـه میـانگین داده‌هـا (جـدول ۲) نشـان داد، بیشترین میزان افزایش پرولین در ریشه و اندام هوایی بـه ترتیب در تنش خشکی (۳٦/۷۰ و ۲٦/۲۰ میلـی‌گـرم بـر گرم) و کمترین میزان پرولین در ریشه و اندام هـوایی در تیمار میکوریزی (۱۷/۷٤ و۱٤/٥٦ میلی‌گرم بر گرم) بـود. در مورد فنل کل نتایج مقایسه میانگین‌ها(جدول ۲) نشـان داد که تلقیح گیاه با قارچ، سبب افـزایش فنـل در شـرایط خشکی گردید ، اما این افزایش از نظـر آمـاری معنـی‌دار نبود و بیشترین مقدار فنل در تیمار خشکی و میکوریز بـه میزان (٦۳/۱۳ میلی‌گـرم بـر گـرم) و کمتـرین میـزان در تلقیح میکوریز به میزان (٤۲/۳٥ میلی‌گرم بر گرم) بود.

مالون دی آلدئید: نتایج تجزیه واریانس داده‌هـا نشـان داد (جـدول ۱)، درمیـزان مـالون دی آلدئیـد در گیـاه تحت تـنش کـه اخـتلاف معنـی‌داری بـین تیمارهـای مختلف دیده نشده و همانگونه که در جدول مشـاهده می‌گردد، خشـکی در محـیط باعـث کـاهش محتـوای مالون دی آلدئید گردید.

پروتئین کل: نتایج تجزیه واریانس در مـورد پـروتئین کل ریشه و اندام هوایی (جدول ۱) نشان داد که اثرات ساده خشکی و میکوریز بر میزان پروتئین کل معنی‌دار بود، در حالیکه اثر متقابل خشـکی و قـارچ فاقـد اثـر معنی‌دار بود. مقایسه میـانگین داده‌هـای پـروتئین کـل ریشه و برگ (جدول ۲) نشان داد که بیشـترین میـزان افزایش در ریشـه و بـرگ گیـاه بـه ترتیـب در تیمـار خشکی و تلقیح میکـوریز بـه میـزان (۳۰/۷۹ و۳۸/٦۰ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین میزان آن به‌ترتیب در تنش خشکی (۲۳/۷۹ و ۳۰/۲۷ میلی‌گرم بر گرم) بود.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ریشه و انـدام‌هـای هـوایی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در مورد آنزیم‌هـای آنتـی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسـکوربات پراکسیداز ریشه و اندام‌های هـوایی حـاکی از آن بـود (جدول ۱)که اثرات ساده خشکی و قارچ میکـوریز در همه موارد در سطح یـک درصـد معنـی‌دار بـوده و در مواردی اثر متقابل خشکی و قارچ تفـاوت معنـی‌داری نداشت. مقایسه میـانگین داده‌هـا (جـدول ۲) نیـز بـه وضوح نشان دهنده بیشترین و کمتـرن میـزان فعالیـت آنزیم‌ها ضمن تیمارهای مختلف بود.

جدول ۱: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر خشکی و تلقیح میکوریزایی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنـزیم‌هـای آنتی اکسیدانی گندم

منابع تغییرات	درجه آزادی	آنتوسیانین	فلاونوئیدها	کاروتنوئیدها	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	پرولین برگ	پرولین ریشه
خشکی	۱	۹/۰۰ **	۸۷۰/۲٥**	۰/۳۲^{ns}	۲۱/٥٤**	٦/۰٦**	٤/۷٥**	۲۰۰/۲۲***	۳۲۳/۲۸**
میکوریز	۱	۲/۰۷^{ns}	۱۱۰/۲٥^{ns}	۰/۰۲٦*	٥/۳۰**	۰/۲۳^{ns}	۳/۳۰**	۸۳/۱۷**	۳۹۷/۸۰**
خشکی + میکوریز	۱	۰/۰۰۸**	۰/۲٥^{ns}	۰/۰۰۰۰۱^{ns}	۰/۳۰^{ns}	۰/۰۰۰۰٤^{ns}	۰/۲۹^{ns}	۱۲/۱۱*	۳۸/٤٤**
خطا	۱۲	۰/٤۸	۳۹/۷٥	۰/۰٥	۰/۱۸	۰/۳۲	۰/۱٤	۱/٦۳	٤/٤٤
ضریب تغییرات		۱۱/۷۰	۱۰/۰۲	۱۹/۱۰	٦/۲٥	۳۸/۱۲	۷/۰۱	٦/٥۲	۸/۲۱

منابع تغییرات	درجه آزادی	کربوهیدرات برگ	کربوهیدرات ریشه	فنل‌ها برگ	پروتئین کل برگ	پروتئین کل ریشه	مالون دی آلدئید
خشکی	۱	۲/۵۰**	۱۷/۲۶**	۱۴۶/۹۳**	۱۵۵/۹۷**	۱۳۱/۰۸**	۰/۰۲ns
میکوریز	۱	۰/۷۲ns	۱/۴۲ns	۵۱۷/۵۶**	۵۴/۱۱**	۲۷/۳۷*	۰/۰۰۸ns
خشکی + میکوریز	۱	۰/۰۰۱ns	۰/۱۶ns	۱۱/۱۱ns	۱۷/۳۹*	۶/۵۲ns	۰/۱۱ns
خطا	۱۲	۰/۱۷	۱/۱۰	۵۴/۸۹	۱/۹۵	۳/۰۵	۰/۰۳
ضریب تغییرات		۱۳/۵۱	۲۰/۱۲	۱۵/۷۴	۴/۲۸	۶/۷۲	۷/۵۳

جدول۲: مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گندم نان تحت تاثیر تیمار خشکی و قارچ میکوریز

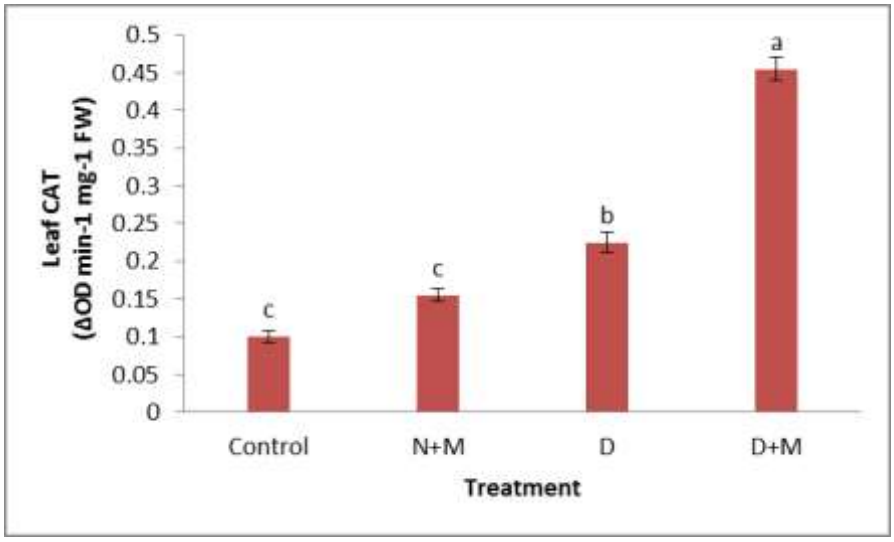
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالازبرگ	کاتالاز ریشه	سوپراکسید دیسموتاز برگ	سوپراکسید دیسموتاز ریشه	آسکوربات پراکسیداز برگ	آسکوربات پراکسیداز ریشه
خشکی	۱	۰/۱۸**	۲/۱۰**	۰/۱۳**	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۲**	۰/۰۱**
میکوریز	۱	۰/۰۸۱**	۰/۵۰**	۰/۰۴۹*	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۰۶**	۰/۰۰۲**
خشکی + میکوریز	۱	۰/۰۳۰**	۰/۵۴**	۰/۰۰۰۷ns	۰/۰۰۰۰۵ns	۰/۰۰۰۳*	۰/۰۰۰۰۹ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۰۵	۰/۰۳۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات		۹/۹۵	۱۹/۶۲	۹/۵۱	۱۷/۶۹	۴۰/۷۵	۲۲/۴۰

**و* به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد می باشد.

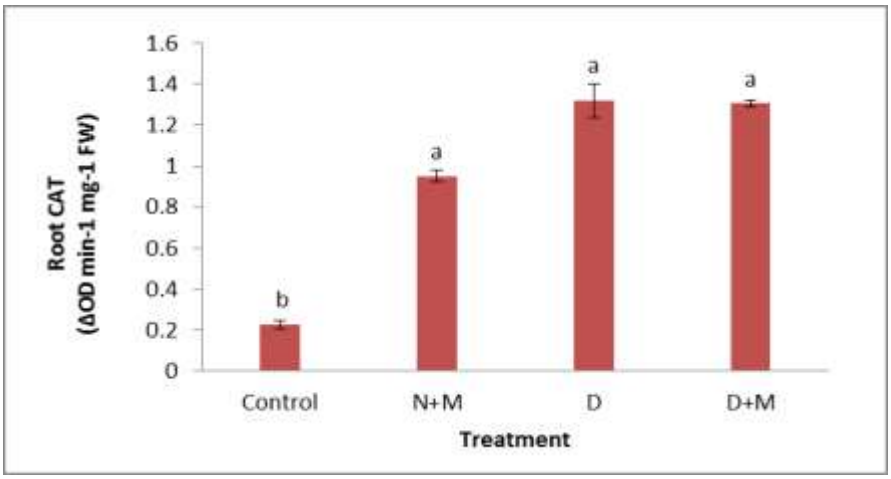
تیمارها	فنل‌های برگ(میلی‌گرم بر گرم اسید گالیک)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	پروتئین کل ریشه (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پروتئین کل برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاتالاز ریشه (فعالیت آنزیم در دقیقه)	کاتالاز برگ (فعالیت آنزیم در دقیقه)	سوپراکسید دیسموتاز ریشه (فعالیت آنزیم در دقیقه)	سوپراکسید دیسموتاز برگ (فعالیت آنزیم در دقیقه)	آسکوربات پراکسیداز ریشه (فعالیت آنزیم در دقیقه)	آسکوربات پراکسیداز برگ (فعالیت آنزیم در دقیقه)
شاهد	۳۲/۶۴c	۲/۴۵a	۲۲/۴۵ c	۲۸/۶۸c	۰/۲۵b	۰/۱c	۰/۰۴c	۰/۱۴d	۰/۰۸۷ab	۰/۰۴۲a
میکوریز	۴۲/۳۵bc	۲/۶۷a	۲۳/۷۹ bc	۳۰/۲۷ bc	۰/۹۵a	۰/۱۵۵c	۰/۰۵۵c	۰/۲۳۷c	۰/۰۶b	۰/۰۲a
تنش خشکی	۵۰/۰۸ab	۲/۵۵a	۲۶/۹۰b	۳۲/۸۴ b	۱/۳۲a	۰/۲۲۵b	۰/۰۸۲b	۰/۳۱۲b	۰/۰۳a	۰/۰۰۷a
خشکی× میکوریز	۶۳/۱۳a	۲/۴۲a	۳۰/۷۹a	۳۸/۶۰a	۱/۳۰a	۰/۴۵۵a	۰/۱۰۵a	۰/۴۳۷a	۰/۰۱۲b	۰/۰۰۴a

*در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند، دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

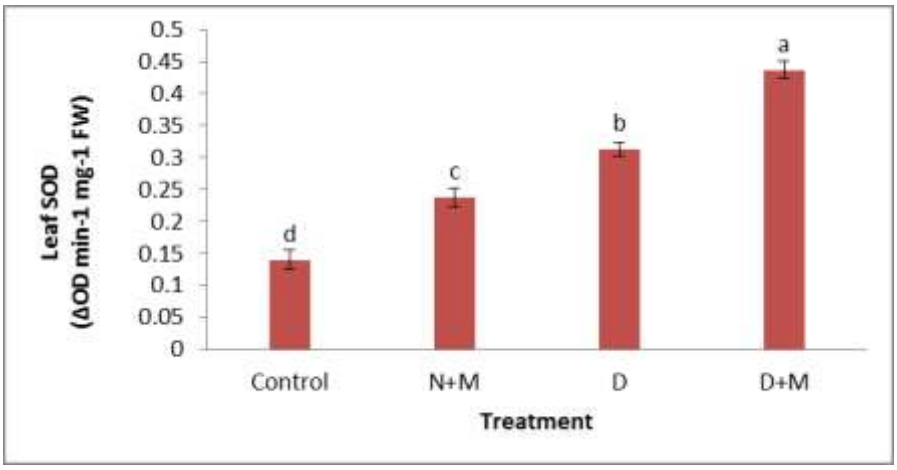
تیمارها	کلروفیل a(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئیدها(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	فلاونوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کربوهیدرات ریشه (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کربوهیدرات برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پرولین ریشه(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پرولین برگ(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
شاهد	۵/۲۹b	۱/۹۸ab	۷/۲۸b	۱/۰۷b	۶۷/۷۵ab	۶/۳۷a	۳/۷۴b	۲/۵۰b	۲۴/۶۱b	۱۷/۳۸b
میکوریز	۶/۴۸a	۲/۲۲a	۸/۷۱a	۱/۱۵a	۷۲/۷۵a	۷/۰۴۵a	۴/۵۷ab	۲/۹۱ab	۱۷/۷۴c	۱۴/۵۶c
تنش خشکی	۴/۴۸c	۰/۷۵c	۵/۲۳c	۱/۳۶c	۵۲/۷۵c	۴/۸۲b	۶/۰۸۵a	۳/۷۲ab	۳۶/۷۰a	۲۶/۲۰a
خشکی× میکوریز	۵/۱۱bc	۰/۹۹bc	۶/۱۱c	۱/۴۴c	۵۸/۲۵bc	۵/۵۹ab	۶/۴۵a	۳/۲۷a	۲۳/۶۳b	۱۹/۹۰b



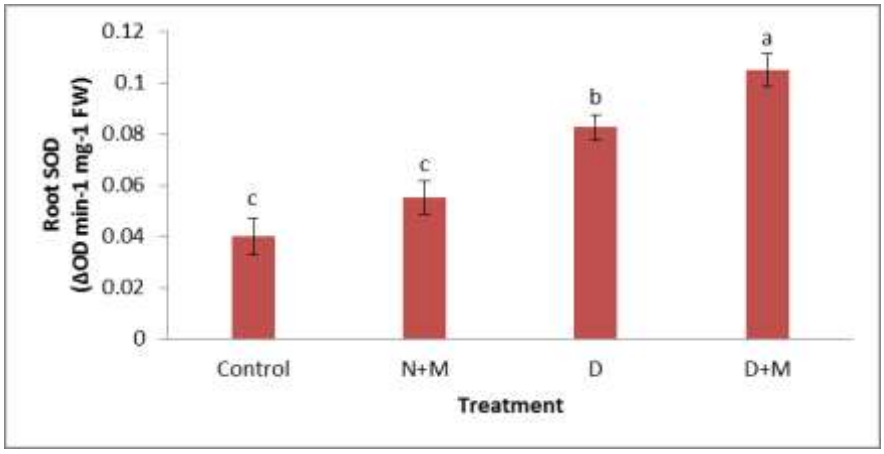
نمودار ۱: تاثیر خشکی و میکوریز بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (ΔODmin-1m g-1 FW) در گندم



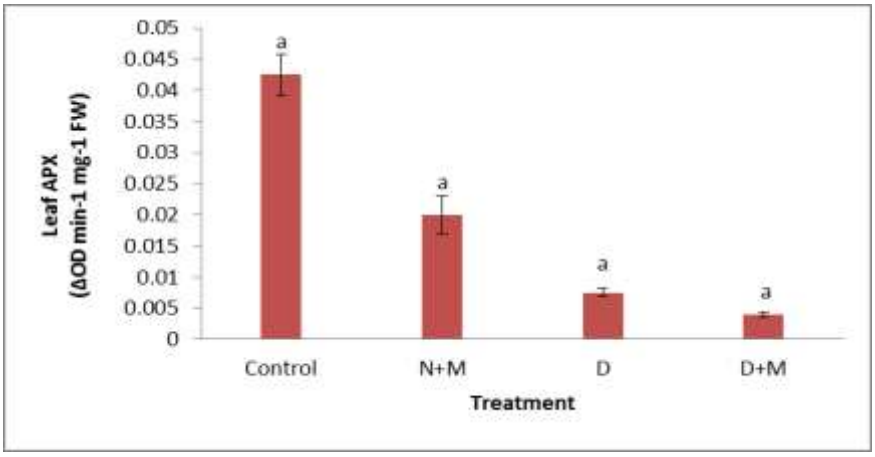
نمودار ۲: تاثیر خشکی و میکوریز بر فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه (ΔODmin-1m g-1 FW) در گندم



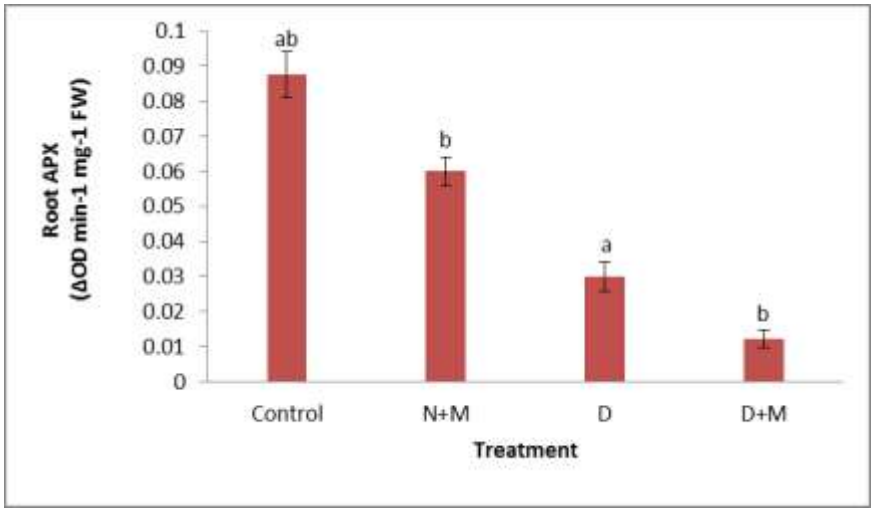
نمودار ۳: تاثیر خشکی و میکوریز برفعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ (ΔODmin-1m g-1 FW) در گندم



نمودار ٤: تاثیر خشکی و میکوریز برفعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ریشه (ΔODmin-1m g-1 FW) در گندم



نمودار ٥: تاثیر خشکی و میکوریز برفعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ (ΔODmin-1m g-1 FW) در گندم



نمودار ٦- تاثیر خشکی و میکوریز برفعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه (ΔODmin-1m g-1 FW) در گندم

بحث

از مهمترین اثرات خشکی در گیاهان عالی، تغییر در ترکیب رنگدانه‌های برگ‌هاست که در این میان تاثیر خشکی بر تجمع کلروفیل بسیار قابل توجه است. میزان کلروفیل یک ویژگی مهم برای فهم چگونگی پاسخ گیاه به محیطی است که در آن به سر می‌برد (Jiang and Huang,2001). در واقع دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است (Ouzounidou and Ilias, 2005). مشابه نتایج این تحقیق، گزارش‌ها نشان داده است که تنش خشکی باعث کاهش مقدار کلروفیل درگیاه بادرنجبویه گردیده است (Abbaszadeh et al., 2008) و مهار مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل توسط تنش خشکی یکی از دلایل اصلی کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تنش است (Manankina et al., 2003 ؛ Stearns et al., 2005). از دیگر آسیب‌های مشاهده شده، تورم تیلاکوئیدها و تجمع استرومای کلروپلاست است که منجر به آسیب به ساختار کلروپلاست شده و فعالیت انتقال الکترون را در فوتوسیستم‌های I و II مختل می کند. در مورد کاهش محتوای کلروفیل، باید به اثر تنش خشکی بر تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر اشاره شود که به نوبه خود باعث تجزیه و در نتیجه کاهش رنگدانه‌ها می‌شود و پس از آن فتوسنتز مختل می‌شود (Alam et al., 2003). همچنین گزارشاتی مبنی بر افزایش قابل توجه میزان کلروفیلa و کلروفیلb در گیاهان تلقیح شده با G. mosseae در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح با میکوریز بوده و اثرات مثبت میکوریز را، بهبود جذب عناصر اساسی به ویژه فسفر توسط قارچ‌های میکوریز اعلام داشته اند (Rokni and Goltapeh, 2011 ؛Demir, 2005). طبق نتایج، بر خلاف رنگدانه‌های کلروفیل، محتوای کاروتنوئیدهای برگ تحت تنش خشکی و همزیستی میکوریز افزایش یافته است. گزارش‌های محققین بر روی گیاهان مختلف حاکی از افزایش محتوای کاروتنوئیدها در گیاهان تلقیح شده است (Kapoor et al., 2004). تحقیقات نشان داده گونه‌هایی که می توانند محتوای کاروتنوئیدهای بالاتری داشته باشند، دفاع موفق تری در برابر گونه‌های فعال اکسیژن دارند و در برابر شرایط تنش آبی تحمل بیشتری دارند. کاروتنوئیدها، آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی با وزن مولکولی کم در کلروپلاست‌ها هستند که علاوه بر نقش ساختاری و جذب نور، می‌توانند طول موج‌های کوتاه انرژی را گرفته و با تبدیل آن از طریق خنثی سازی رادیکال‌های اکسیژن تولید شده و فرآیند اکسیداسیون را متوقف کرده و نقش مهمی در تعدیل اثرات سو تنش در برگ‌ها را دارند (Penuelas, 2003). در این مطالعه، کاهش قابل توجهی در محتوای فلاونوئیدها و آنتوسیانین برگ گندم در تنش خشکی مشاهده شد و طبق نظر پژوهشگران، فلاونوئیدهاو آنتوسیانین‌ها در واکوئل سلول‌های اپیدرمی برگ، بخش مهمی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده که نقش مهمی را درپاسخ‌های گیاهی به شرایط محیطی بخصوص استرس‌های زیستی و غیر زیستی ایفا می نمایند و باحذف رادیکال‌های آزاد باعث حفاظت سلولی می شوند (Kheria et al., 2015 ; Quideau et al., 2011) با افزایش محتوای فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در تیمارهای میکوریز، قدرت آنتی اکسیدانی گیاه افزایش می یابد، زیرا این ترکیبات می‌توانند مستقیماً انواع مولکول‌های اکسیژن واکنش پذیر مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل را خنثی کنند (Bors, 1996؛ Oniki and Takahama , 1997). در مطالعه حاضر، افزایش قابل توجهی در قندهای محلول ریشه و اندام های هوایی گیاه در معرض تنش مشاهده شد. نتایج این تحقیق با یافته‌های محققین بسیاری مبنی بر

افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول در شرایط تنش خشکی، مطابقت و همخوانی (Arazmjo et al., 2010) داشت. تنظیم اسمزی یکی از مکانیسم‌های است که گیاه برای حفظ سلول در معرض خشکی استفاده می‌کند (Ahangar et al., 2013). در طی این پدیده فیزیولوژیکی، به دلیل تجمع مجموعه‌ای از ترکیبات اسمزی مانند قندهای محلول در سلول‌ها، پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش کاهش می یابد و با ادامه جذب آب، فشار اسمزی سلول‌ها در گیاه حفظ می‌شود (Khaled, 2006). خشکی با از بین بردن محتوای رنگدانه‌های اصلی و ثانویه در فتوسنتز با ایجاد اختلال در هر دو فتوسیستم و با ایجاد اختلال در غشای تیلاکوئید، بر مهار فتوسنتز تأثیر می‌گذارد که در نهایت باعث کاهش تثبیت کربن، رشد و بقا و تولید محصولات کربنی می‌شود (Jones et al.,1980). افزودن میکوریز اثرات جبرانی بر محتوای قند محلول در اندام‌های هوایی و ریشه‌ها در تیمارهای مختلف نشان داده است و به عنوان یک تقویت کننده احتمالی فتوسنتز در نظر گرفته می‌شود (Ouzounidou and Ilias, 2005). در بین اسمولیت‌های آلی، پرولین احتمالاً فراوانترین و عمومی ترین مادهٔ حل شده سازگار است که تجمع می‌یابد که علاوه بر تنظیم اسمزی به عنوان محافظ در برابر تنش‌های اکسیداتیو عمل می‌کند و با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل داشته و سبب حفظ شکل و ساختار آن‌ها در زمان تنش می‌شود (Koc et al., 2010). مطالعات نشان می‌دهد که در طول همزیستی با قارچ‌های میکوریز، محتوای پرولین تحت شرایط استرس افزایش می‌یابد. تاثیر قارچ بر محتوای پرولین گیاهان تلقیح شده توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است. (Ghabooli, 2014; Shahabivand et al., 2017) افزایش ترکیبات فنلی ناشی از تنش خشکی می‌تواند به دلیل عملکرد محافظتی این ترکیبات در برابر تنش و جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن باشد. این ترکیبات در شرایط تنش آنتی اکسیدان‌های قوی در بافت‌های گیاهی هستند و این خاصیت به دلیل ساختار اسکلتی و گروه فنلی این متابولیت‌ها است. گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه معطر با جاروب کردن رادیکال‌ها و کلاته کردن فلز به وسیله باند شدن یون‌های سمی، آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش می‌دهند، و به این ترتیب ساختارهای سیتوپلاسمی و کلروپلاستی را از تاثیرات منفی خشکی محافظت می‌کنند و همچنین با عمل لیپواکسیژناز از اکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کنند (Ghabooli et al., 2013) گزارش‌های مشابهی مبنی بر افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی تحت شرایط تنش ارائه گردیده است (Sakihama et al., 2002). در مطالعه حاضر، تلقیح میکوریزا به طور قابل توجهی محتوای فنل کل را افزایش داد. پیش ماده اصلی برای سنتز فنل در بافت‌های گیاهی، کربوهیدرات‌های محلول هستند که منجر به تشکیل مواد ضروری مورد نیاز برای سنتز پلی فنل‌ها می‌شوند (Jung, 2004). پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی یکی از اثرات تنش خشکی بر غشای سلول می باشد که منجر به کاهش رشد گیاه می گردد. اسیدهای چرب اشباع نشده در غشای سلول مستعد آسیب اکسیداتیو ناشی از تشکیل محصولات تجزیه مانند مالون دی آلدئید هستند. در مطالعه حاضر، گیاهان میکوریزی و دارای تنش مقدار کمی مالون دی آلدئید تولید کردند که تخریب حاصله از رادیکال‌های آزاد بوسیله یکسری مکانیسم‌های میکوریزایی مستقیم و غیرمستقیم از قبیل دخالت در مسیرهای آنزیمی و یا عمل سمیت زدایی کاروتنوئیدها، بهبود می‌یابد، بنابراین احتمال می‌رود که در این ارتباط تلقیح میکوریزایی نقش مهمی در تحمل خشکی درگیاه گندم ایفا می‌کند (Mithofer et al., 2004).یکی از مهم‌ترین راه‌های کاهش اثر

استرس، اتصال فلزات به اسیدهای آمینه، پلی پپتیدها و پروتئین‌های داخل سلول است. در اندام‌های تنش دیده گیاه، فعالیت آنزیم‌های دخیل در تولید پروتئین های خاص (مانند پروتئینهای شوک گرمایی) افزایش می‌یابد که از پروتئین‌های دیگر تحت استرس محافظت می‌نماید. این پروتئین‌ها نه تنها در هسته و سیتوپلاسم بلکه برروی غشاپلاسمایی نیز مشاهده شده اند و درحفاظت غشا در مقابل آسیب‌های تنشی و مکانیسم‌های ترمیمی پس از آن نیز نقش دارند (Nalimova et al., 2005؛ Lewis and Tingey, 1999). با اعمال همزمان تیمارهای خشکی و میکوریز در گیاه در محتوای پروتئین کل نسبت به تیمارهای هم پایه فاقد میکوریز افزایش دیده می‌شود که این افزایش از دو جنبه دارای اهمیت است، از یک طرف با افزایش پروتئین‌های ویژه مقابله با تنش مثل متالوتیونین‌ها وفیتوکلاتین‌ها سبب تشکیل کمپلکس می‌شود که این کمپلکس سمیت کمتری برای متابولیسم در سلول گیاهی نسبت به یون‌های آزاد دارد و از سوی دیگر با تولید پروتئین بیشتر در محیط، گیاه از خود برد باری بیشتری نشان می‌دهد (Nalimova et al., 2005). یافته‌های مختلفی در سطح پروتئین، تاثیر قارچ بر بهبود عملکرد سلولی را به اثبات رسانده است (Prasad & Hagemeyer, 1999). یکی از علائم استرس اکسیداتیو در گیاهان تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان است (Miller et al.,2010). میزان حساسیت به استرس اکسیداتیو به نسبت عوامل ایجادکننده گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر و تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی در گیاه بستگی دارد (Mittler, 2002). کاتالاز یکی از مهم‌ترین جاروب کننده‌های آب اکسیژنه محسوب می‌شود. افزایش فعالیت کاتالاز در گیاهان از ویژگی‌های سازگاری است و با کاهش مقدار پراکسید هیدروژن حاصل از متابولیسم سلولی از آسیب بافت جلوگیری می‌کند (Dixit et al., 2001). در مطالعه حاضر، خشکی باعث افزایش فعالیت کاتالاز در ریشه و برگ گیاه گندم گردید. کاتالاز ازجاروب گرهای مهم H_2O_2 و تنظیم کننده سطح H_2O_2 در سلول است و افزایش فعالیت کاتالاز یکی از ضروریات تحمل به شرایط استرس است (Prasad and Zeeshan, 2005 ؛ Shyam, 2001). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، یکی از علائم بارز تولید فزاینده گونه‌های فعال اکسیژن می باشد. این آنزیم سبب دیسموتاسیون رادیکال‌های سوپراکسید به آب اکسیژنه می‌شود وبه طور مستقیم میزان گونه‌های فعال اکسیژن را تحت تاثیر قرار می دهد (Azevedo et al., 2001). پراکسیدازها با خنثی سازی رادیکال‌های پراکسید مسئول کاهش آسیب اکسیداتیو به غشاهای پلاسمایی هستند. اولین آنزیم در چرخه گلوتاتیون- آسکوربات آنزیم آسکوربیک پراکسیداز است که از اسیدآسکوربیک به شکل کاهش یافته استفاده می‌کند و یکی از مهم‌ترین مواد پاک کننده آب اکسیژنه در سلول‌های گیاهی است (Cho & Pandey & Sharma, 2002 ؛Park, 2000). یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش شدید فعالیت آسکوربات پراکسیداز در گیاهان در معرض استرس مربوط به اثر مهاری خشکی بر مسیر بیوسنتز این پروتئین آنزیمی است که باعث کاهش فعالیت آن می‌شود. مهار فعالیت این آنزیم‌ها به انسداد گروه‌های اساسی عملکردی مانند گروه‌هایSH در ساختار پروتئین آنزیم یا جایگزینی عناصر دیگر به جای کوفاکتورهای اصلی این آنزیم‌ها نسبت داده می‌شود (Baier et al.,1973 ؛ Fecht et al.,2003). نتایج فوق توسط محققین بسیاری در گذشته مورد تایید قرار گرفته است (Jahromi et al.,2008; Terzi et al., 2006; Zhane et al.,2004). در مطالعه حاضر ، افزودن میکوریز اثرات قابل توجهی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان داشت. میکوریز با تأثیر مثبت بر جذب مواد معدنی

مـی توانـد نقـش اساسـی در تـأمین کوفاکتورهـای ضروری آنزیم‌های آنتـی اکسـیدان داشـته و در نتیجـه فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسـیدان را افـزایش دهـد. بـه طور کلی، به دلیل نقش محافظتی میکوریز، اسـتفاده از آن در محـیط کشـت مـی‌توانـد آسـیب اکسـیداتیو گونـه‌هـای اکسـیژن واکـنش پـذیر بـه آنـزیم‌هـای سیستم‌های دفاع گیاه را کاهش دهد.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج تحقیق انجام شده مـی‌تـوان چنـین نتیجه گرفت که گیاه گندم در هنگام تنش خشـکی بـا ایجـاد تغییـر در برخـی صـفات فیزیولوژیـک و بیوشیمیایی خود به تـنش پاسـخ داد کـه مـی‌تـوان بـه افـزایش محتـوای فنلـی، فلاونوئیـدها، آنتوسـیانینی، کاروتنوئیدهای و قندهای محلول در گیاه اشاره نمـود. کـاربرد میکـوریز در شـرایط تـنش خشـکی توانسـت برخی صفات را بهبود بخشد و موجب کاهش شـدت و اثر زیان بار تنش در گیاه گندم نان و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گردد. مثلا اثر قارچ بـر میـزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a ,b) قابل توجه بـود، همچنین اثر قارچ بر میزان پرولین گیاه گندم بصـورت معنی‌دار بود که نشاندهنده مقاومت بیشتر گندم نان بـه تنش خشکی بعد از تلقیح قارچ می‌باشد. بر این اساس به نظر می‌رسد می توان با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این تحقیق با افزودن میکوریز به خاک به عنوان یک راهکار ارزان و در دسترس از اثرات منفی کمبـود آب و تنش خشکی بر تولید گیاه استراتژیک گندم کاست.

References

Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M.H., Naderi Hajibagher kandi, M. and Moghadami, F. (2008). The Effect Of Drought Stress On Proline Contents, Soluble Sugars, Chlorophyll And Relative Water Contents Of Balm (*Melissa Officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants and Research. 23 (38):504-513.

Ghabooli, M., Khatabi, B., Ahmadi, F.S., Sepehri, M., Mirzaei, M., Amirkhani, A., Jorrín-Novo, J.V. and Salekdeh, G.H. (2013). Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. Journal of Proteomics. 94: 289-301.

Aebi, H. (1984). Catalase in Vitro. Methods Enzymology, 105, 121-126. http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3.

Ahanger, M., Tyagi, S., Wani, M. and Ahmad, P. (2013). Drought tolerance: role of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants under Changing Environment, 11: 25-55.

Alam, Sh., Kamei, Sh. and Kawai, Sh. (2003). Amelioration of Manganese Toxicity in Young Rice Seedlings with Potassium. Journal of Plant Nutrition. 26(6):1301–1314. https://doi/abs/10.1081/PLN-120020372.

Alvarez M, Gieseke A, Godoy R.H. and Artel, S. (2006). Surface-bound phosphatase activity in ectomycorrhizal fungi: a comparative study between a colorimetric and a microscope-based method. Biology and Fertility of Soils. 42: 561–568.

Arazmjo A., Heidari M.and Ghanbari A.(2010). The Effect Of Water Stress And Three Sources Of Fertilizers On Flower Yield, Physiological Parameters And Nutrient Uptake In Chamomile (*Matricaria Chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants and Research. 25(4):482 - 494.

Asadi Kavan, Z.h., Ghorbanli, M. and Sateei, A. (2010). The effect of drought stress and exogenous ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenol compounds and lipid peroxidation in *Pimpinella anisum* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants and Research. 25(4): 456-69.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973). Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. Plant and Soil .39 (1): 205–7. https://doi.org/10.1007/BF00018060.

Baum, C.W., Tohamy, E. and Gruda, N. (2015). Increasing the Productivity and Product Quality of Vegetable Crops Using Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A Review. Scientia Horticulturae. 187:131–41. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.002.

Beyer., F. and Fridovich, I. (1987). Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions. Analytical Biochemistry. 161(2):559–566. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1.

Bors, W. (1996). Flavonoids and Polyphenols: Chemistry and Biology. Handbook of Antioxidants 409.

Bowles, T.M., Jackson, L.E. and Cavagnaro, T.R. (2018). Mycorrhizal Fungi Enhance Plant Nutrient Acquisition and Modulate Nitrogen Loss with Variable Water Regimes. Global Change Biology. 24(1): e171–82. https://doi.org/10.1111/gcb.13884.

Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry. 72:248–54. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999.

Brenchley, R., Spannag M., Pfeifer, M., Barker, G., D'Amore, R., Allen, A.M. and McKenzie, N . (2012). "Analysis of the Bread Wheat Genome Using Whole-Genome Shotgun Sequencing. Nature. 491 (7426): 705–10. https://doi.org/10.1038/nature11650.

Brundrett, M. C. and Tedersoo, L. (2018). Evolutionary History of Mycorrhizal Symbioses and Global Host Plant Diversity. New Phytologist. 220(4):1108–15. https://doi.org/10.1111/nph.14976.

Cho, U.H. and Park, G.O. (2000). Mercury-Induced Oxidative Stress in Tomato Seedlings. Plant Science.156 (1): 1–9. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111553

Demir, S. (2005). Influence of Arbuscular Mycorrhiza on Some Physiological Growth Parameters of Pepper. Turkish Journal of Biology .28 (2–4): 85–90.

Dixit, V., Pandey,V. and Shyam,R. (2001). Differential Antioxidative Responses to Cadmium in Roots and Leaves of Pea (Pisum Sativum L. Cv. Azad). Journal of Experimental Botany. 52(358):1101–1109. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.358.1101.

Ebrahimzadeh, M.A, Hosseinimehr, S.J. and Hamidinia,A. (2008). Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Feijoa Sallowiana Fruits Peel and Leaves.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N.,Fujita, D. and Basra, S. M. A. (2009b) .Plant drought stress: mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development. 29: 185–212.

Fazeli, F., Ghorbanli,M. and Niknam, A. (2007). Effect of Drought on Biomass, Protein Content, Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Two Sesame Cultivars. Biologia Plantarum. 51(1):98–103. https://doi.org/10.1007/s10535-007-0020-1.

Fecht, C., Marion, M., Maier, P. and Horst, W.J. (2003). Apoplastic Peroxidases and Ascorbate Are Involved in Manganese Toxicity and Tolerance of Vigna Unguiculata. Physiologia Plantarum. 117 (2): 237–44. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00022.x

Ghabooli, M. (2014). Effect of *Piriformospora indica* inoculation on some physiological traits of barley (*Hordeum vulgare*) under salt stress. Chemistry of Natural Compounds, 50(6): 1082-1087.

Gholamhoseini, M.A ., Dolatabadian, A., Jamshidi, E. and Khodaei-Joghan., A. (2013). Effects of Arbuscular Mycorrhizal Inoculation on Growth, Yield, Nutrient Uptake and Irrigation Water Productivity of Sunflowers Grown under Drought Stress. Agricultural Water Management. 117:106–14. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.11.007.

Hagar, H., Ueda, N. and Shah, S.V. (1996). Role of Reactive Oxygen Metabolites in DNA Damage and Cell Death in Chemical Hypoxic Injury to LLC-PK1 Cells. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 271 (1): F209–15. http://dx.doi.org/10.1152/ajprenal.1996.271.1.F209.

Hamed, A., Akbari, Gh.A., Khoshkholgh Sima, N. A., Shirani Rad, A.H., Jabbari, H. and Tabatabaee, S.M. (2014). Evaluation of the agronomic characteristics and some physiological traits of canola varieties under drought stress. Environmental Stresses in Crop Sciences. 7(2): 155-171.

Hatamvand, M., Hasanloo, T., Dehghan Nayeri, F., Shiranirad, A.H., Tabatabaei, S.A. and Hosseini, S.M. (2014). Evaluation of some physiological and biochemical indices of canola cultivars in response to drought stress. Environmental Stresses in Crop Sciences. 7 (2): 173-185.

Heath, R.L. and Pacher, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometery of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125 (1): 189-198.

Huang ,H., Ullah , F., Zhou ,D.Z., Yi, M . and Zhao,Y.(2019). Mechanisms of ROS Regulation of Plant Development and Stress Responses. Front. Plant Science. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800.

Jahromi, F., Aroca, R. Porcel, R.and Ruiz-Lozano, J.M. (2008). Influence of salinity on the in vitro development of Glomus intraradices and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. Microbial Ecology. 55: 45–53.

Jiang, M. and Zhang, J. (2001). Effect of Abscisic Acid on Active Oxygen Species, Antioxidative Defence System and Oxidative Damage in Leaves of Maize Seedlings. Plant and Cell Physiology. 42 (11): 1265–73.

Jones, M.M., Osmond, C.B. and Turner, N.C. (1980). Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water stress. Australian Journal of Plant Physiology. 7: 193-205.

Jung, S. (2004). Variation in Antioxidant Metabolism of Young and Mature Leaves of Arabidopsis Thaliana Subjected to Drought. Plant Science. 166 (2): 459–66.

Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G. (2004). Improved growth and essential oil yield and quality in (*foeniculum vulgare* Mill.) on mycorrhizal inoculation supplemented with P fertilizer. Journal of Biotechnology. 93: 307-311.

Khalid, Kh.A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (Ocimum sp.). Agrophysics. 20:289-296.

Khalil, N., Fekry, M., Bishr, M., Zalabani, S. and Salama, O.(2018). Foliar Spraying of Salicylic Acid Induced Accumulation of Phenolics, Increased Radical Scavenging Activity and Modified the Composition of the Essential Oil of Water Stressed *Thymus Vulgaris* L. Plant Physiology and Biochemistry. 123: 65–74. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.007.

Kheira, K., Benchaben, H., Adiba, B.D, Nadira, A. and Abbassia, A. (2015). Seasonal variations of ballotahirsutabenth flavonoids of tessala mount of the prefecture of SidiBel-Abbes (Western Algeria). Biochemistry and Molecular Biology Letters. 1(1): 001-006.

Koc, E., İslek, C. and Üstün, A.S. (2010). Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University Journal of Science. 23(1): 1-6.

Koochaki, A., Nassiri mahalati, M. and azizi, G. (2005). The effects of water stress and defoliation on some of quantitative traits of *Zataria multiflora*, *Ziziphora clinopodioides*, *Thymus vulgaris* and *Teucrium polium*. Iranian Journal of Field Crops Research. 1(2):89-105.

Krizek, D. T., Britz. J.S. and Mirecki,R.M. (1998). Inhibitory Effects of Ambient Levels of Solar UV-A and UV-B Radiation on Growth of Cv. New Red Fire Lettuce. Physiologia Plantarum. 103(1):1–7. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030101.x.

Kusvuran, S. (2011). Effects of drought and salt stresses on growth, stomatal conductance, leaf water and osmotic potentials of melon genotypes (*Cucumis melo* L.). African Journal of Agricultural Research. 7 (5): 775-781.

Lewis, J.D., Olszyk, D. and Tingey, D.T. (1999). Seasonal Patterns of Photosynthetic Light Response in Douglas-Fir Seedlings Subjected to Elevated Atmospheric CO2 and Temperature. Tree Physiology. 19 (4–5): 243–52.

Li, J., Meng, B.O., Chai, H., Yang, X., Song, W., Li, S., Lu, AO., Zhang,T. and Sun,W.(2019). "Arbuscular Mycorrhizal Fungi Alleviate Drought Stress in C3 (Leymus Chinensis) and C4 (Hemarthria Altissima) Grasses via Altering Antioxidant Enzyme Activities and

Photosynthesis." *Frontiers in Plant Science* 10 (April): 1–12. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00499

Lichtenthaler., H. K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. Methods in Enzymology. 148:350–82. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Ma, Q., Niknam, S.R. and Turner, D.W. (2006). Responses of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *B.juncea* to soil water deficit at different growth stages. Australia Journal of Agricultural Research. 57(2): 221-226.

Manankina, E. E., SMel'nikov, S.S., Budakova, E.A. and Shalygo, E.A. (2003). Effect of Ni 2+ on Early Stages of Chlorophyll Biosynthesis and Pheophytinization in Euglena Gracilis." Russian Journal of Plant Physiology. 50 (3): 390–94

Mathur., S.R. and Jajoo,A. (2019). Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Protects Photosynthetic Apparatus of Wheat under Drought Stress. Photosynthesis Research. 139(1–3):227–38. https://link.springer.com/article/10.1007/s11120-018-0538-4

Mazarie, A., Mousavi-nik, S. M., Ghanbari, A. and Fahmideh, L. (2019). Effect of titanium dioxide spraying on physiological characteristics of sage (*Salvia officinalis* L.) under water stress. Environmental Stresses in Crop Sciences. 12(2): 539-553.

Miller, G., Suzuki, N. and Ciftci Yilmaz, S. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. Journal of Plant Cell and Environment, 33: 453-467.

Mittler, R. (2002). Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. Trends in Plant Science. 7 (9): 405–10. https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9.

Moucheshi, A., Heidari, B. and Assad, M.T.(2012). Alleviation of Drought Stress Effects on Wheat Using Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. International Journal of Agriculture Science. 2 (1): 35–47.

Nakano,Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. Plant and Cell Physiology. 22 (5): 867–80.

Nalimova, A.A., Popova, V.V., Tsoglin, L. A. and Pronina, N.A . (2005). The Effects of Copper and Zinc on Spirulina Platensis Growth and Heavy Metal Accumulation in Its Cells. Russian Journal of Plant Physiology 52 (2): 229–34.

Ouzounidou, G. and Ilias, I. (2005). Hormone-Induced Protection of Sunflower Photosynthetic Apparatus against Copper Toxicity. Biologia Plantarum. 49 (2): 223.

Pandey, N. and Sharma, C.P. (2002). Effect of Heavy Metals Co2+, Ni2+ and Cd2+ on Growth and Metabolism of Cabbage. Plant Science. 163 (4): 753–58.

Panhwar, Q.A., Amanat, A., Naher, U.A. and Memon, M.Y. (2019). Chapter 2 - Fertilizer Management Strategies for Enhancing Nutrient Use Efficiency and Sustainable Wheat Production." In , edited by Sarath Chandran, M R Unni, and Sabu B T - Organic Farming Thomas, 17–39. Woodhead Publishing. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813272-2.00002-1.

Prasad, S.M. and Zeeshan, M. (2005). UV-B Radiation and Cadmium Induced Changes in Growth, Photosynthesis, and Antioxidant Enzymes of Cyanobacterium Plectonema Boryanum. Biologia Plantarum. 49(2): 229.

Rabino, I. and Mancinelli, A.L. (1986). Light, Temperature, and Anthocyanin Production. Plant Physiology .81 (3): 922–24. https://doi.org/10.1104/pp.81.3.922

Rokni, N. and Mohammadi Goltapeh, E. (2011). Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with Common Sugarcane Varieties in Iran. Journal of Agricultural Science and Technology. 7: 1017–22.

Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C. and Yamasaki, H. (2002). Plant Phenolic Antioxidant and Prooxidant Activities: Phenolics-Induced Oxidative Damage Mediated by Metals in Plants. Toxicology. 177 (1): 67–80.

Sntander, C., Aroca , R., Manuel Ruiz-Lozano, J., Olave,J., Cartes, P., Borie, F. and Cornejo, P. (2017) . Arbuscular Mycorrhiza Effects on Plant Performance under Osmotic Stress. Mycorrhiza. 27 (7): 639–57.

Sahabivand, S., Parvaneh, A. and Aliloo, A.A. (2017). Root endophytic fungus *Piriformospora indica* affected growth, cadmium partitioning and chlorophyll fluorescence of sunflower under cadmium toxicity. Ecotoxicology and Environmental Safety. 145: 496-502.

omogyi and Michael. (1952). Notes on Sugar Determination. Journal of Biological Chemistry. 195: 19–23.

Stearns, J. C., Shah, S., Greenberg, B. M., Dixon, D. G. and Glick, B. R. (2005). Tolerance of Transgenic Canola Expressing 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Deaminase to Growth Inhibition by Nickel. Plant Physiology and Biochemistry. 43 (7): 701–8.

Tajmmlian, M., Iran Nejad parazi, M.D., Malekinejad, H., Rad, M.H. and Sodaie zadeh, H. (2012). Effect of low stress on some physiological parameters of plant (*Fortuynia bungei* Boiss). Journal of Genetics Research and Plant Breeding, 20: 273-283.

Takahama, U. and Oniki, T. (1997). A Peroxidase/Phenolics/Ascorbate System Can Scavenge Hydrogen Peroxide in Plant Cells. Physiologia Plantarum .101 (4): 845–52.

Tattini, M., Galardi, C., Pinelli,P., Massai, R., Remorini, D. and Agati, G. (2004). Differential Accumulation of Flavonoids and Hydroxycinnamates in Leaves of Ligustrum Vulgare under Excess Light and Drought Stress. New Phytologist .163 (3): 547–61.

Xu, C., Yin, Y., Cai, R., Wang, P., Ni, Y., Guo, J., Chen, E., Cai, T., Cui, Z . and Liu,T. (2013). Responses of Photosynthetic Characteristics and Antioxidative Metabolism in Winter Wheat to Post-Anthesis Shading. Photosynthetica. 51 (1): 139–50.