مقاله پژوهشی

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال شانزدهم، شماره ۶۱، بهار ۱۴۰۰ / صفحات: ۹۳-۸۰
Doi: 10.30495/iper.2021.679553 Dor:20.1001.1.76712423.1400.16.61.6.4

پاسخ‌های ریختی، فیزیولوژیکی و آنزیمی نهال‌های توسکا ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey) نسبت به تنش کم‌آبی با تلقیح قارچ میکوریز ریزوفاگوس ایریگولاریس (*Rhizophagus irregularis*)

زهرا بور، قاسم‌علی پاراد*، سیدمحسن حسینی، احسان قنبری

گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۵/۱٤ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۷/۰٤

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی رشد، صفات ریختی، تغییرات فیزیولوژیکی و فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نهال‌های یکساله توسکا ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey) تلقیح یافته با قارچ میکوریزی ریزوفاگوس ایریگولاریس (*Rhizophagus irregularis*) تحت تاثیر تنش کم‌آبی در شرایط گلخانه‌ای طی یک دوره ۷۰ روزه انجام گرفت. آزمایش در دو سطح تلقیحی (شاهد یا عدم تلقیح و قارچ میکوریز *R. irregularis*) و دو سطح آبیاری در حد ظرفیت مزرعه (شاهد) و آبیاری به میزان ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه (کم‌آبی) در طرحی کاملا تصادفی با چهار تیمار و ۱۰ تکرار صورت گرفت. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی به طور معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد سبب کاهش اندازه مشخصه‌های ریختی و فیزیولوژیکی نهال‌های توسکا ییلاقی شد، حال آنکه کلیه فعالیت‌های آنزیمی مورد اندازه‌گیری تحت تنش کم‌آبی افزایش یافت. اگرچه مشخصه‌های ریختی نظیر رویش ارتفاعی و قطری، طول ریشه، سطح برگ و زیتوده برگ، ساقه، ریشه و کل تحت تاثیر تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک نهال‌های توسکا ییلاقی در تیمار شاهد افزایش ۳۵-۲۰ درصدی معنی‌داری نشان داد اما اضافه شدن قارچ میکوریز به خاک تیمار تنش کم‌آبی به ترتیب باعث بهبود ۵۵، ٤۰، ٤٦، ٤۷، ۳۷، ۳۵، ۵۰ و ۳۷ درصدی مشخصه‌های مذکور شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق و پتانسیل آبی برگ تحت تاثیر کم‌آبی به ترتیب ۵۷، ٥٤، ۵۳ و ٦۵ درصد کاهش یافت حال آنکه افزودن قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک سبب بهبود مشخصه‌های مذکور شد. همچنین در سطح کم‌آبی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به نهال‌های ظرفیت مزرعه افزایش معنی‌داری یافت در حالی که افزودن قارچ میکوریز به خاک در شرایط کم‌آبی سبب تعدیل اثرات مخرب کم‌آبی گردید. برآیند نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تلقیح قارچ میکوریز *R. Irregularis* می‌تواند با بهبود مشخصه‌های فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بردباری نهال‌های توسکا ییلاقی را به کم‌آبی در سال اول افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل آبی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، زیتوده کل، ظرفیت مزرعه، نرخ فتوسنتز

*نویسنده مسئول: ghasemali.parad@modares.ac.ir

مقدمه

پدیده خشکی و کم‌آبی از مهم‌ترین فاکتورهای غیرزیستی است که بر رشد و نمو گیاهان تاثیر بسزایی دارد (Bahadur et al., 2019). بر اساس سناریو تغییرات آب و هوایی فعلی، افزایش دما و تغییر در شدت و نحوه پراکنش بارش منجر به افزایش تنش‌های مرتبط با خشکی و تغییرات دمایی می‌شود که سبب کاهش رشد و توسعه گیاهان می‌شود (Fracasso et al., 2020). گیاهان با مکانیسم‌های مختلف در سطوح مختلف مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی قادر به تحمل شرایط کم‌آبی می‌باشند (Volpe et al., 2018; Bahadur et al., 2019). به طور کلی تنش‌های ناشی از کمبود آب سبب بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش جذب دی‌اکسید کربن و به دنبال آن کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه می‌شود (Chitarra et al., 2016; Azimi and Kianian, 2018).

علاوه بر سازگاری‌های مختلف در سطوح موفولوژیکی (مانند افزایش عمق ریشه‌دوانی، کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها برای کاهش هدر رفت آب و همچنین افزایش کرک)، گیاهان با توسعه مکانیسم‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سبب کاهش اثرات مخرب تنش بر اندام‌های مختلف گیاه می‌شوند (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006). تنش کم‌آبی اغلب سبب استرس اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود، که به دلیل تراوش بالاتر الکترون‌ها نسبت به اکسیژن در طول فرآیندهای فتوسنتز و در نتیجه افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال است. در گیاهان، متابولیسم گونه‌های اکسیژن فعال (ROS[1]) از جمله سوپراکسید (O^{2-})، پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل ($^{\cdot}OH$) در وضعیت تعادل حفظ می‌شود. هنگامی که گیاهان تحت تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند، اغلب گونه‌های اکسیژن فعال را تولید می‌کنند (Munne-Bosch and Penuelas, 2003; Sairam et al., 2005). برای حذف ROS، گیاهان تکامل یافته یک سیستم دفاعی آنتی اکسیدان را توسعه می دهند. آنتی اکسیدان‌ها شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گایاکول پراکسیداز (G-POD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، آسکوربات (ASC)، گلوتاتیون (GSH)، دهیدروآسکوربات (DHA) و گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) می‌باشند. در این راستا، Porcel و همکاران (۲۰۰۳) و Jia-Dong و همکاران (۲۰۱۹) پی برده‌اند که قارچ‌های میکوریزی آربسکولار، گیاهان میزبان را در مقابل خسارات اکسیداتیو حمایت می کنند که به دلیل افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. متعاقبا، Alguacil و همکاران (۲۰۰۳) تایید کرده اند که تلقیح *Glomus claroideum* فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی همانند کاتالاز، گلوتاتیون، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز را در گیاه *Retama sphaerocarpa* افزایش داده است.

مطالعات قبلی نشان می‌دهد که گیاهان مقاوم به خشکی در مقایسه با گونه‌های حساس، به طور کلی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ساختاری را تحت شرایط کم‌آبی افزایش می‌دهند. این موضوع در گونه‌های گیاهی از جمله *Pinus densata* (Gao et al.,2009)، *Morus alba* (Guha et al., 2010) و دیگر گونه‌های چوبی تحت تنش خشکی مشاهده شده است (Liu et al., 2011). در مطالعه Monzón و Azcón (۲۰۰۱) بر روی تاثیر گونه‌های میکوریز (*Glomus mosseae* و *G. intraradices*) بر عملکرد سه گونه از جنس توسکا شامل *A. cordata*، *A. incana* و *A. glotinosa* در شرایط ظرفیت مزرعه

1.Reactive Oxygen Species

نشان دادند که مشخصه‌های ریختی نهال‌های مذکور در حضور این قارچ‌ها افزایش یافت. همچنین، Wu (۲۰۰۷) نیز نشان داد زیتوده، مشخصه‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی نهال‌های یکساله *Citrus tangerine* تحت تاثیر قارچ میکوریز در شرایط خشکی بهبود چشمگیری داشت. در همین راستا، Zhang و همکاران (۲۰۱٤)، Yang و همکاران (۲۰۱٤) و Fracasso و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند استفاده از قارچ‌های میکوریزی سبب بهبود مشخصه‌های ریختی، فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی نهال‌های تحت تنش خشکی می‌شود.

گیاهان اغلب به منظور کاستن اثرات مخرب استرس‌های محیطی نظیر خشکی به میکروفلورهای همزیست ریشه اتکا می‌کنند (Parad et al., 2018; Jia-Dong et al., 2019). درمیان این میکروفلورها، قارچ‌های میکوریزی آربسکولار متعلق به راسته گلومرومیکوتا (Glomeromycota) با گیاهان میزبان خود تشکیل روابط همزیستی می‌دهند که از طریق این روابط، قارچ‌های میکوریزی محصولات فتوسنتزی نظیر کربوهیدرات‌ها را از گیاهان میزبان دریافت کرده و در عوض این قارچ‌ها نه تنها سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی برای گیاهان جهت مقابه با شرایط کم آبی می‌شوند بلکه تنظیمات روزنه‌ای گیاه را نیز بهبود می‌بخشند (Bahadur et al., 2019).

در ارتباط با ایجاد رقم‌های مقاوم به شرایط کم آبی و خشکی اغلب از تکنیک‌های پیوندزنی و مهندسی ژنتیک بدون در نظر گرفتن تاثیرات شرایط اکولوژیکی به ویژه در سطح خاک استفاده می‌گردد (Morrissey et al., 2004). در همین راستا و با روند رو به رشد گرم شدن کره زمین، حفاظت از گونه‌های درختی با بکارگیری روش‌های بیولوژیکی اهمیت بسزایی دارد. درک پاسخ‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و آنزیمی گیاهان به تنش خشکی جهت آگاهی جامع از مکانیسم مقاومت به شرایط کمبود آب ضروری است. اگرچه پاسخ‌های گونه‌های گیاهی مختلف به تنش خشکی به خوبی شناخته شده است، اما پاسخ‌های آنها به تنش خشکی در شرایط تلقیح با قارچ‌های میکوریزی مختلف اطلاعات دقیقی در دسترس نیست لذا در این پژوهش به بررسی مکانیسم نهال‌های توسکا ییلاقی با اندازه‌گیری مشخصه‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی برگ در شرایط تلقیح با قارچ میکوریزی *Rhizophagus irregularis* برای مقابله با تنش خشکی مورد مطالعه قرار گرفت. لذا با توجه به مطالب عنوان شده، پژوهش حاضر برای اولین بار به بررسی و اثبات تاثیر قارچ میکوریزی *Rhizophagus irregularis* در بهبود برخی از مشخصه‌های ریختی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نهال‌های یکساله توسکای ییلاقی پرداخت که به نوعی دارای نوآوری است.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق، ابتدا بذور توسکا ییلاقی (*A. subcordata*) از رویشگاه جلگه‌ای در پارک جنگلی نور با ارتفاع از سطح دریا ۲- متر و عرض جغرافیایی ″۵۰ ′۳٤ °۳٦ شمالی و طول جغرافیایی ″۱٤ ′۳ °۵۲ شرقی جمع‌آوری شد. پس از جمع‌آوری، بذور با قارچ‌کش Carboxin Tiram (۲ درصد) ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو شده و پس از آن خشک گردید. تعداد ۳۰۰ عدد بذر به بسترهای کشت حاوی پیت و پرلیت که با نسبت ٤ به ٦ مخلوط شده بودند، انتقال یافت و جوانه‌زنی بذور به روش Schrader و Graves (۲۰۰۰) انجام شد. پس از گذشت تقریبا چهار ماه، ۱۰۰ اصله نهال یکسان و هم اندازه و با شرایط شادابی همگن از بین مجموعه نهالها انتخاب جهت ادامه آزمایش به گلدان‌های جدید انتقال داده شد.

قبل از انتقال نهال‌ها به گلدان‌های جدید (استوانه‌ای به قطر ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ٢٤ سانتیمتر)، ابتدا خاک مورد استفاده به منظور استریل شدن به مدت ٤٥ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. مایه تلقیح قارچ *Rhizophagus irregularis* از دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز (گروه خاک‌شناسی) تهیه و با گیاه ذرت به عنوان میزبان تکثیر شد. جهت تلقیح این قارچ، مقدار ۵۰ گرم از مایه تلقیح قارچ شامل اسپور (۱۰ تا ۱۲ اسپور در هر گرم بستر)، هیف و قطعات کلنیزه شده (۸۰-۸۵ درصد) و کلنیزه نشده ریشه‌ای در عمق ۵ سانتی‌متری از خاک گلدان قرار داده شد و با خاک زیر مخلوط گردید. به منظور حفظ جمعیت میکروبی خاک گلدان‌های شاهد (به جز جمعیت قارچ میکوریز *R. irregularis*) و یکسان شدن وزن آن‌ها، مقدار ۵۰ گرم از بستر گلدان‌های شاهد تلقیح نشده با قارچ که در مرحله کشت تکثیر نگهداری شده بودند به تیمارهای بدون قارچ در کشت اصلی اضافه گردید. نهال‌ها بعد از بازکاشت در فضایی باز در محوطه جنگل جلگه‌ای دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس (واقع در نور) آبیاری و وجین شدند و خاک گلدان‌ها قبل از اعمال تیمار، در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. بعد از گذشت یک دوره رویشی چهار ماهه از بازکاشت نهال‌های تلقیح یافته توسکا ییلاقی در شرایط گلخانه، تعداد ٤٠ اصله از همسان‌ترین نهال‌ها انتخاب و اقدام به اعمال تیمار به مدت ۷۰ روز (۱۵ مرداد تا ۲۵ مهر ۱۳۹۲) بر روی آن‌ها گردید.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار و ۱۰ تکرار انجام شد. تنش کم‌آبی در سطح ۳۰ درصد ظرفیت زراعی با تلقیح و بدون تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک و همچنین تیمار ظرفیت مزرعه با تلقیح و بدون تلقیح قارچ میکوریز انجام شد (Li et al., 2019). همچنین، جهت اندازه-گیری ظرفیت زراعی مزرعه، از روش وزنی Zarik و همکاران، (٢٠١٦) استفاده شد.

اندازه‌گیری مشخصه‌های ریختی و رشد: در این تحقیق در ابتدا و انتهای دوره، مشخصه‌های ریختی از جمله قطر و ارتفاع نهال‌ها اندازه‌گیری شد. قطر، با استفاده از کولیس دیجیتالی و با دقت یک صدم میلی متر و ارتفاع با استفاده از متر نواری تا دقت دسی‌متر اندازه‌گیری شد. از تفاضل قطر و ارتفاع در انتها و ابتدای دوره به ترتیب رویش قطری و رویش ارتفاعی بدست آمد. آنگاه سه برگ کاملا توسعه یافته از بالاترین قسمت هر نهال تهیه و با استفاده از دستگاه Leaf Area Meter سطح هر برگ مشخص شد (Parad et al., 2013a; Parad et al., 2016). همچنین، برای هر تیمار هشت نهال از خاک خارج و پس از شستشوی خاک اطراف ریشه، طول ریشه اندازه‌گیری شد. سپس هر یک از نهال‌ها به سه قسمت ریشه، ساقه و برگ جدا شدند و بعد از قرار گرفتن در آون (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت) با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند. آنگاه زیتوده‌های ریشه، ساقه، برگ و زیتوده کل (مجموع زیتوده ساقه، ریشه و برگ) تعیین گردید (Parad et al., 2013b; Parad et al., 2014).

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژی: پارامترهای فیزیولوژی نهال‌ها از جمله کارایی فتوسنتز خالص (A)، کارایی تعرق (E)، هدایت روزنه‌ای (Gs) و پتانسیل آبی (Ψ) پس از اعمال تیمارها در هوای آزاد، تحت شرایط طبیعی دما، نور و رطوبت نسبی هوا (ساعت ۱۱-۹/۵) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری فتوسنتز، تعرق و هدایت‌روزنه‌ای از دستگاه اندازه‌گیری تبادلات گازی (Model LCpro+, ADC BioScientific Ltd., Hertfordshire, UK) قابل حمل، استفاده شد. برای این منظور از هر تکرار ٦-٣ برگ از بالغ‌ترین و توسعه یافته‌ترین برگ از قسمت‌های بالای نهال انتخاب شد (Ghanbary et al.,

2021). همچنین برای اندازه‌گیری پتانسیل آبی گیاه (Ψ) از دستگاه (Pressure chamber, Skye, SKPM 1400, UK) استفاده شد. بدین منظور از هر نهال ۵ برگ از توسعه یافته‌ترین و بالغ‌ترین برگ‌ها انتخاب گردید (Parad et al., 2014).

اندازه‌گیری مشخصه‌های آنتی‌اکسیدانی: جهت سنجش آنزیم‌ها، ابتدا نیم گرم برگ تازه در ازت مایع منجمد و پس از آن در چهار میلی‌لیتر محلول که حاوی بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7.0)، ۱٪ پلی‌وینیل پیرولیدون و ۰/۲ میلی مولار اسید آسکوربیک سائیده شده و عصاره‌گیری شد. محلول همگن حاصل شده در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای دو تا چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول روئی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Chance و Meahly (۱۹۵۵) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش Polle و همکاران (۱۹۹٤) و همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲٤ انجام شد. نرمال بودن و همگنی واریانس به ترتیب با استفاده از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف و لون بررسی شد. به منظور بررسی معنی‌داری داده‌ها از آزمون تجزیه واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۱٪ استفاده گردید. جهت رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار GraphPad Prism 5 استفاده گردید.

نتایج

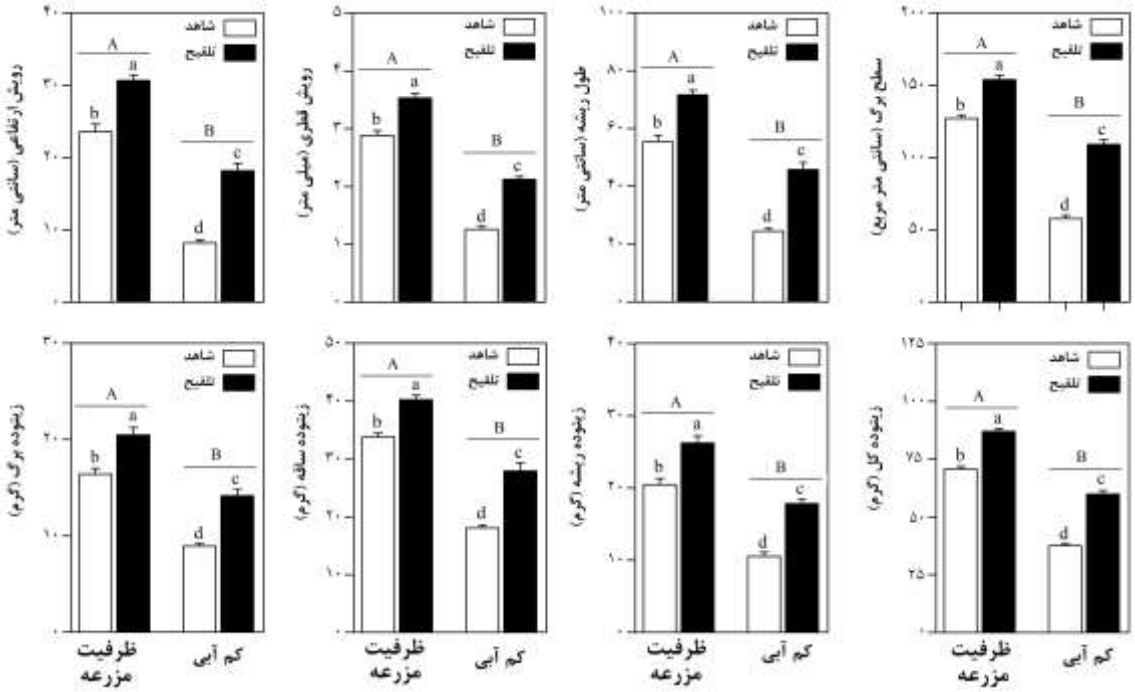
نتایج تجزیه واریانس دو طرفه مشخصه‌های ریختی نهال‌های توسکا ییلاقی نشان داد که اثر کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R.Irregulari* بر خاک نهال‌های توسکا ییلاقی به تنهایی سبب تغییر معنی‌داری در کلیه مشخصه‌های ریختی مورد بررسی در سطح ۹۹ درصد شد (P value<0.001). حال آن که اثر متقابل کم‌آبی در تلقیح تنها در مشخصه‌های سطح برگ و زیتوده کل معنی‌داری شد. علاوه‌براین با توجه به F بالاتر در سطح کم‌آبی، سهم تاثیر کم‌آبی در کلیه مشخصه‌های ریختی بیشتر از تلقیح قارچ میکوریز بود (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس دو طرفه مشخصه‌های ریختی نهال‌های توسکا ییلاقی تحت تاثیر تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis*

صفات	کم‌آبی			تلقیح			کم‌آبی × تلقیح		
	d.f.	*F*- value	*P* - value	d.f.	*F*- value	*P* - value	d.f.	*F*- value	*P* - value
رویش ارتفاعی	۱	۲۵۷/۰۸	** ۰/۰۰۰	۱	۹٦/۹۹	** ۰/۰۰۰	۱	۲/۷۲	ns ۰/۱۰۸
رویش قطری	۱	۵۲۳/۸۱	** ۰/۰۰۰	۱	۱۳۰/۰۹	** ۰/۰۰۰	۱	۲/٦٦	ns ۰/۱۱۱
طول ریشه	۱	۲۱۵/۳۱	** ۰/۰۰۰	۱	۹٤/۳۵	** ۰/۰۰۰	۱	۱/٦٦	ns ۰/۲۰۵
سطح برگ	۱	۳۹٤/۱۳	** ۰/۰۰۰	۱	۱۸۵/٦۵	** ۰/۰۰۰	۱	۱۸/۱۷	** ۰/۰۰۰
زیتوده برگ	۱	۱۳۱/۵۱	** ۰/۰۰۰	۱	۵۹/۸۳	** ۰/۰۰۰	۱	۰/۸۷	ns ۰/۳۵٦
زیتوده ساقه	۱	۲۳٦/۵۳	** ۰/۰۰۰	۱	۷۹/٦۷	** ۰/۰۰۰	۱	۳/۵۵	ns ۰/۰٦۸
زیتوده ریشه	۱	۱٤٤/۰۳	** ۰/۰۰۰	۱	۷۲/۹۸	** ۰/۰۰۰	۱	۱/۰۲	ns ۰/۳۱۸
زیتوده کل	۱	۵٦۲/۳۹	** ۰/۰۰۰	۱	۲۳۱/۷٦	** ۰/۰۰۰	۱	۵/۷۹	* ۰/۰۲۱

**معنی‌داری در سطح ۰/۰۱. *: معنی‌داری در سطح ۰/۰۵. ns: عدم تفاوت معنی‌داری

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کم‌آبی به تنهایی سبب کاهش در اندازه کلیه مشخصه‌های ریختی شد طوری که میزان این کاهش به ترتیب برای مشخصه‌های رویش ارتفاعی، رویش قطری، طول ریشه، سطح برگ و زیتوده برگ، ساقه، ریشه و کل به ترتیب ۵۱، ۴۷، ٤٤، ٤٠، ٣٧، ٣٨، ٣٩ و ٣٨ درصد بود (شکل ۱). تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک نهال‌های توسکا ییلاقی باعث تاثیر مثبتی بر ویژگی‌های ریختی نهال‌های این گونه شد طوری که میزان این بهبود حتی در شرایط ظرفیت مزرعه نیز چشم‌گیر بود. با این وجود و در شرایط تنش کم‌آبی، مشخصه‌های رویش ارتفاعی، رویش قطری، طول ریشه، سطح برگ و زیتوده برگ، ساقه، ریشه و کل تحت تاثیر تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک نهال‌های توسکا ییلاقی به ترتیب ۵۵، ٤٠، ٤٦، ٤٧، ٣٧، ٣٥، ٥٠ و ٣٧ درصد سبب بهبود ویژگی‌های ریختی مورد مطالعه شد (شکل ۱).



شکل ۱: میانگین صفات ریختی اندازه‌گیری شده نهال‌های توسکا ییلاقی تحت تاثیر تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis*

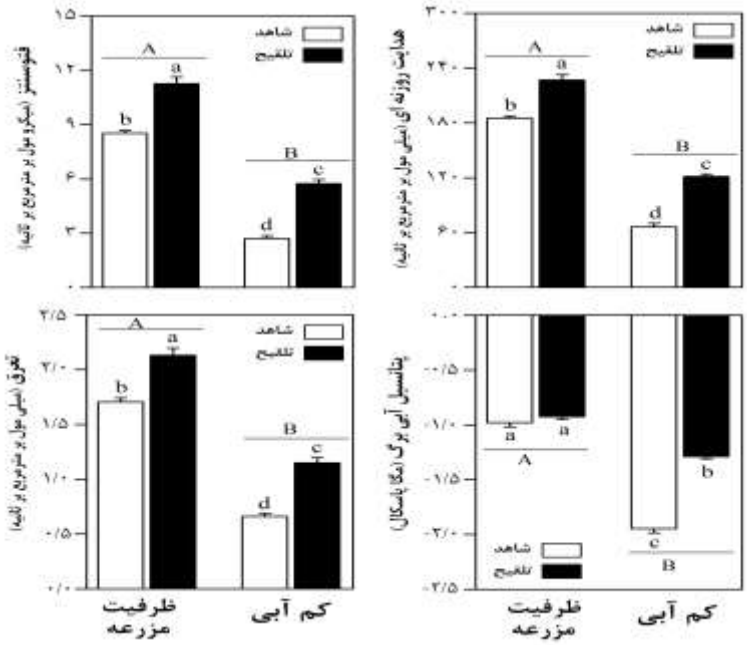
تبادلات گازی نهال‌های یکساله توسکا ییلاقی تحت تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز تغییر کرد طوری که نتایج تجزیه واریانس دو طرفه این مشخصه‌ها نشان داد که اثر کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis* بر خاک نهال‌های توسکا ییلاقی هر کدام به تنهایی باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در مشخصه‌های فیزیولوژیکی مورد مطالعه در سطح ۹۹ درصد شد ($P\ value<0.001$) این در حالیست که اثر متقابل کم‌آبی در تلقیح تنها در مشخصه پتانسیل آبی برگ معنی‌داری شد. در ضمن با توجه به F بالاتر در سطح کم‌آبی، سهم تاثیر کم‌آبی در کلیه مشخصه‌های فیزیولوژیکی بیشتر از تلقیح قارچ میکوریز بود (جدول ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس دو طرفه فعالیت‌های فیزیولوژیکی نهال‌های توسکا ییلاقی تحت تاثیر تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis*

صفات	کم‌آبی				تلقیح				کم‌آبی × تلقیح			
	d.f.	*F*- value	*P* - value		d.f.	*F*- value	*P* - value		d.f.	*F*- value	*P* - value	
فتوسنتز	۱	۵۲٤/۳۹	۰/۰۰۰	**	۱	۱۳٦/۰٦	۰/۰۰۰	**	۱	۰/۳۱	۰/۵۸۳	ns
هدایت روزنه‌ای	۱	۸۱۹/۲٤	۰/۰۰۰	**	۱	۱۵۲/٤۹	۰/۰۰۰	**	۱	۲/۸٦	۰/۱۰۲	ns
تعرق	۱	٤۷٤/٤۸	۰/۰۰۰	**	۱	۹٦/۳۵	۰/۰۰۰	**	۱	۰/٤۵	۰/۵۰۷	ns
پتانسیل آبی برگ	۱	٤۲٦/٦٤۰	۰/۰۰۰	**	۱	۱۲۲/۷۹	۰/۰۰۰	**	۱	۸۸/٤۱	۰/۰۰۰	**

**معنی‌داری در سطح ۰/۰۱. *: معنی‌داری در سطح ۰/۰۵. ns: عدم تفاوت معنی‌داری

بررسی میانگین‌های مشخصه‌های فیزیولوژیکی مختلف گیاه نیز نشان داد که نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق و پتانسیل آبی برگ تحت تاثیر کم‌آبی به ترتیب ۵۷، ٥٤، ۵۳ و ٦۵ درصد کاهش یافت حال آنکه افزودن قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک سبب بهبود مشخصه‌های مذکور شد. نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق و پتانسیل آبی برگ در حضور قارچ میکوریز در شرایط کم‌آبی به ترتیب ۵۳، ٤۵، ٤۲ و ۳۳ درصد احیا شد. همچنین در شرایط ظرفیت مزرعه نیز مشخصه‌های مذکور با اختلاف محسوسی در حضور قارچ میکوریز *R. irregularis* بالاتر از تیمار شاهد بود (شکل ۲).



شکل ۲: میانگین صفات فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده نهال‌های توسکا ییلاقی تحت تاثیر تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis*

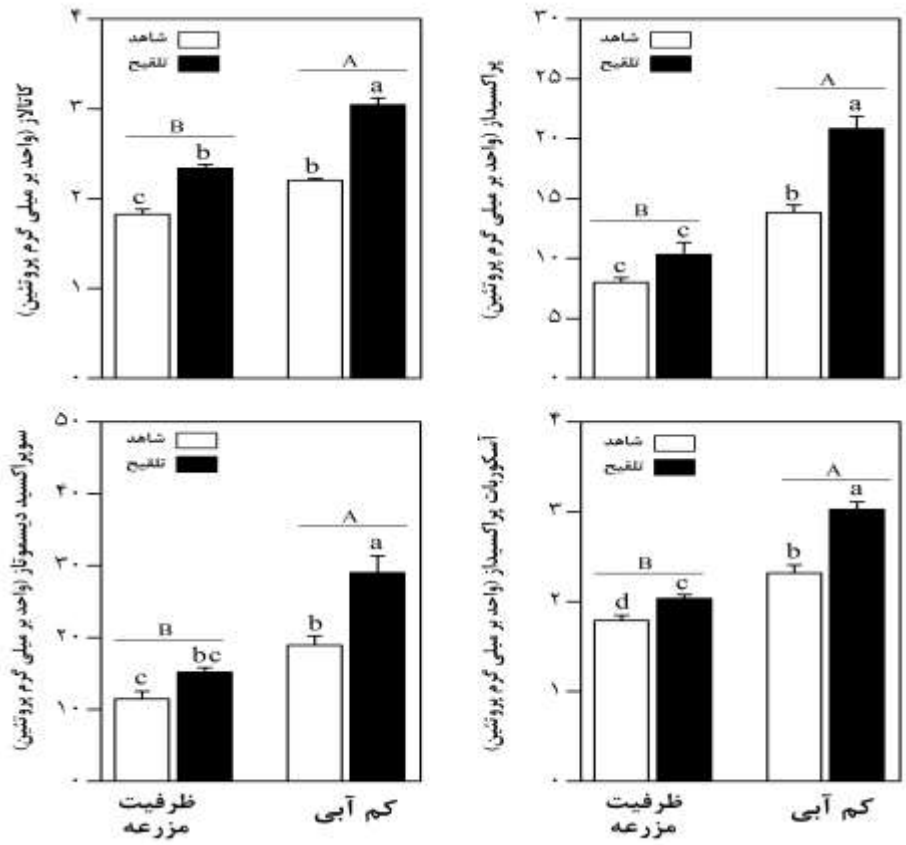
نتایج آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که اثر کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز آربسکولار *R. irregularis* اثر معنی‌داری در سطح آماری یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز داشت و اثر متقابل آن‌ها نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳) و اثر متقابل آن نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. همچنین با توجه به F بالاتر در سطح کم‌آبی، سهم تاثیر کم‌آبی در کلیه فعالیت‌های آنزیمی بیشتر از تلقیح قارچ میکوریز بود (جدول ۳).

جدول ۳: تجزیه واریانس دو طرفه فعالیت‌های آنزیمی نهال‌های توسکا ییلاقی تحت تاثیر تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis*

صفات	کم‌آبی			تلقیح			کم‌آبی × تلقیح			
	d.f.	*F*-value	*P* - value	d.f.	*F*-value	*P* - value	d.f.	*F*-value	*P* - value	
کاتالاز	۱	۹۹/۲۰	۰/۰۰۰**	۱	۱۵٤/۹۹	۰/۰۰۰**	۱	۹/۲٦	۰/۰۱۰	**
پراکسیداز	۱	۱۰۰/٤۷	۰/۰۰۰**	۱	۳۲/۸٦	۰/۰۰۰**	۱	۸/۱۳	۰/۰۱۵	*
سوپراکسیددیسموتاز	۱	۵۱/۵۳	۰/۰۰۰**	۱	۲۱/۵۰	۰/۰۰۰**	۱	٤/۵۳	۰/۰۵۵	ns
آسکوربات پراکسیداز	۱	۱۱۲/٦٦	۰/۰۰۰**	۱	٤٤/۳۹	۰/۰۰۰**	۱	۱۰/٤۷	۰/۰۰۷	**

**معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ *: معنی‌داری در سطح ۰/۰۵. ns: عدم تفاوت معنی‌داری



شکل ۳: میانگین مشخصه‌های آنزیمی اندازه‌گیری شده نهال‌های توسکا ییلاقی تحت تاثیر تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis*

در سطح کم‌آبی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به نهال‌های ظرفیت مزرعه افزایش معنی‌داری نشان داد همچنین تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis* در شرایط کم‌آبی باعث تعدیل اثرات مخرب خشکی گردید حال آن‌که در شرایط مزرعه تنها مشخصه‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۳).

بحث

در تحقیق پیش‌رو، همانند پژوهش Yang و همکاران (۲۰۱٤) بر روی نهال‌های یکساله *Robinia pseudoacacia*، Zhang و همکاران (۲۰۱٤) بر روی نهال‌های *Cyclobalanopsis glauca* و Xia و همکاران (۲۰۱۸) بر روی نهال‌های *Achnatherum inebrians* اگرچه کم‌آبی سبب کاهش مشخصه‌های مورفولوژیکی گیاه (نظیر رویش ارتفاعی و قطری، طول ریشه، سطح برگ، زیتوده برگ، ساقه، ریشه و زیتوده کل) شد اما افزودن قارچ میکوریز آربسکولار به خاک سبب بهبود مشخصه‌های مذکور در سطح کم‌آبی و همچنین ظرفیت مزرعه شد. در این راستا می‌توان علت کاهش در مشخصه‌های مذکور را به کاهش نرخ جذب کربن برگ در اثر تنش کم‌آبی عنوان نمود اما Abbaspour و همکاران (۲۰۱۲) به همراه با Bárzana و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که اضافه شدن میکوریز به خاک سبب کاهش اثرات منفی تنش کم‌آبی و بهبود مشخصه‌های رشد خواهد شد (Li et al., 2019). افزایش رشد در اندام‌های گیاهی در حضور قارچ میکوریز *R. irregularis* می‌تواند به دلیل تغییر در ظرفیت‌های فتوسنتزی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان باشد (Zhang et al., 2018). علاوه بر این قارچ‌های میکوریز با تسهیل در جذب آب و املاح مورد نیاز گیاهان سبب بهبود تبادلات گازی و از این طریق سبب رشد و توسعه اندام‌های گیاهی می‌شود (Gholamhoseini et al., 2013; Yang et al., 2014). قارچ میکوریز *R. irregularis* سبب بهبود مشخصه‌های فیزیولوژی شامل فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق و پتانسیل آبی در هر دو سطح ظرفیت مزرعه و خشکی شد. همانند نتایج این تحقیق Yang و همکاران (۲۰۱٤) نیز نشان دادند که نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق و پتانسیل آبی برگ در نهال‌های *Robinia pseudoacacia* تحت تنش کم‌آبی کاهش یافت این در حالیست که با اضافه شدن قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک، مشخصه‌های مذکور به صورت معنی‌داری در هر دو سطح کم‌آبی و شاهد افزایش یافت. در واقع علت اصلی افزایش مشخصه‌های تبادلات گازی را می‌توان به تاثیر مثبت قارچ میکوریز در جذب آب و مواد غذایی از خاک به واسطه گسترش ریسه‌های خارجی در خاک (Subramanian and Charest, 1997)، تنظیم هدایت روزنه‌ای از طریق سیگنال‌های هورمونی (Aroca et al., 2008)، تنظیم اسمزی (Xia and Wu, 2006) و یا توسعه هدایت هیدرولیکی ریشه نسبت داد (Augé, 2001). افزایش مقاومت به تنش در حضور قارچ‌های میکوریزی اغلب با افزایش محتوای آنتی‌اکسیدانی در گیاهان همراه است که این افزایش اغلب با هدف مقابله با سمیت گونه‌های فعال اکسیژن که به دنبال تنش کم‌آبی در گیاهان تولید می‌شود، صورت می‌گیرد (Ruiz-Sanchez et al., 2011). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز اغلب با تحریک مقاومت گیاهان به تنش خشکی همراه است (Ruiz-Lozano, 2003). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در حذف رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن دخالت دارند. پراکسید هیدروژن برای سلول سمی بوده و

بیشتر توسط کاتالاز و پراکسیداز به آب و اکسیژن سم‌زدایی می‌شود (Borde et al., 2011).

قارچ میکوریزی آربوسکولار در همزیستی ریشه گیاه به وسیله بهبود جذب مواد غذایی، تغییر روابط آبی گیاه، بهبود اثرات سلولی و فیزیولوژیکی و تنظیمات اسمزیک موجب افزایش رشد و زنده‌مانی گیاه تحت شرایط اپتیمم و یا تنش آبی می‌شود (Ruiz-Lozano, 2003; Wu et al., 2007). مکانیسم‌های احتمالی برای بهبود روابط آبی گیاه در تلقیح با قارچ میکوریزی شامل جذب مستقیم آب و انتقال از طریق هیف‌های خارجی (Augé et al., 2003) و اثرات غیر مستقیم مانند بهبود جذب فسفر، ظرفیت بیشتر آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی و تنظیمات اسمزی است (Ruiz-Lozano, 2003; Wu et al., 2007). در تحقیق حاضر تحت تنش کم‌آبی و تلقیح قارچ میکوریزی به تنهایی سبب افزایش چشمگیری در میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز شد. گزارش‌های متعددی از تاثیر قارچ‌های میکوریزی روی القای فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت تحت تنش کم آبی وجود دارد. از جمله اینکه، تلقیح قارچ میکوریزی آربوسکولار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را در گیاه *Lycopersicon esculentum* تحت تنش شوری افزایش داد (Latef and Chaoxing, 2011). همچنین Alguacil و همکاران (۲۰۰۳) طی تحقیقی نشان دادند که تنش کم‌آبی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز را در نهال‌های *Juniperus oxycedrus*. تلقیح یافته با قارچ میکوریزی آربوسکولار را افزایش داد. Wu و همکاران (۲۰۰۷) بیان داشتند که وجود همزیستی میکوریز آربوسکولار، تحمل به خشکی *Citrus sp* را به وسیله توسعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محتوای آنتی اکسیدانتی افزایش می‌دهد. این مشاهدات مطابق با عقیده Bartels (۲۰۰۱) است که اظهار داشتند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان جهت ممانعت از تنش اکسیداتیو و حذف گونه‌های اکسیژن فعال موثرترین راهکارهای استفاده شده توسط گیاه برای مقاومت در مقابل تنش کم‌آبی است. مطابق نتایج تحقیق حاضر، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در *Lactuca sativa* تلقیح یافته با قارچ میکوریزی *Glomus deserticola* تحت هر دو حالت آبدهی خوب و تنش کم آبی افزایش نشان داده بود (Ruiz - Lozano et al., 1996). به طور کلی افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تحقیق حاضر یک اثر مستقیم از همزیستی میکوریز آربوسکولار در پاسخ به تنش خشکی در گیاه میزبان است. به طوری‌که با تلقیح آن فعالیت آنتی اکسیداتیو نظیر آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گیاهان تحت تنش کم‌آبی افزایش می‌یابد (Ruiz-Sunchez et al., 2011). در نتیجه می‌توان بیان داشت که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در نهال‌های تلقیح یافته با قارچ ممکن است مربوط به حفظ بهتر تعادل یونی واکنش‌های فتوشیمیایی در برگ تحت تنش کم‌آبی باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

می‌توان اظهار داشت که تنش کم‌آبی سبب کاهش مشخصه‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه در این تحقیق شد این در حالیست که افزودن قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک نه تنها سبب بهبود مشخصه‌های مورد مطالعه در سطح ظرفیت مزرعه شد بلکه به طور قابل ملاحظه‌ای اثرات مخرب تنش کم‌آبی را نیز کاهش داد. لذا با عنایت به نتایج بدست

آمده می‌توان پیشنهاد نمود که در نهالستان‌های مناطق کم باران به منظور بهبود ویژگی‌های رویشی نهال‌های توسکای تولیدی، از گونه توسکا ییلاقی همراه با تلقیح قارچ میکوریز *R. irregularis* به خاک جهت بهبود مشخصه‌های رشد استفاده نمود.

References

Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H. and Abdel-Wahhab, M. (2012). Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. Journal of Plant Physiology. 169(7): 704-709.

Alguacil, M., Hernández, J.A., Caravaca, F., Portillo, B. and Roldan, A. (2003). Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. Physiologia Plantarum. 118(4): 562-570.

Aroca, R., Vernieri P. and Ruiz-Lozano J.M. (2008). Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. Journal of Experimental Botany. 59(8): 2029-2041.

Augé, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza. 11(1): 3-42.

Augé, R.M., Moore, J.L., Cho, K., Stutz, J.C., Sylvia, D.M., Al-Agely, A.K. and Saxton, A.M. (2003). Relating foliar dehydration tolerance of mycorrhizal *Phaseolus vulgaris* to soil and root colonization by hyphae. Journal of Plant Physiology. 160(10): 1147-1156.

Azimi, R. and Kianian, M.K. (2018). Effects of Drought Stress and Mycorrhiza on Viability and Vegetative Growth Characteristics of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Journal of Rangeland Science. 8(3): 253-263.

Bahadur, A., Batool, A., Nasir, F., Jiang, S., Mingsen, Q., Zhang, Q., Pan, J., Liu, Y. and Feng, H. (2019). Mechanistic insights into arbuscular mycorrhizal fungi-mediated drought stress tolerance in plants. International Journal of Molecular Sciences. 20(17): 4199.

Bartels, D. (2001). Targeting detoxification pathways: an efficient approach to obtain plants with multiple stress tolerance?. Trends in Plant Science. 6(7): 284-286.

Bárzana, G., Aroca, R., Bienert, G.P., Chaumont, F. and Ruiz-Lozano, J.M. (2014). New insights into the regulation of aquaporins by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize plants under drought stress and possible implications for plant performance. Molecular Plant-Microbe Interactions. 27(4): 349-363.

Borde, M., Dudhane, M. and Jite, P. (2011). Growth photosynthetic activity and antioxidant responses of mycorrhizal and non-mycorrhizal bajra (*Pennisetum glaucum*) crop under salinity stress condition. Crop Protection. 30(3): 265-271.

Chance B. and Maehly, A. (1955). [136] Assay of catalases and peroxidases.

Chitarra, W., Pagliarani, C., Maserti, B., Lumini, E., Siciliano, I., Cascone, P., Schubert, A., Gambino, G., Balestrini, R. and Guerrieri, E. (2016). Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. Plant Physiology. 171(2): 1009-1023.

Fracasso, A., Telò, L., Lanfranco, L., Bonfante, P. and Amaducci, S. (2020). Physiological beneficial effect of *Rhizophagus intraradices* inoculation on tomato plant yield under water deficit conditions. Agronomy. 10(1): 71-91.

Gao, D., Gao, Q., Xu, H.-Y., Ma, F., Zhao, C.-M. and Liu, J.-Q. (2009). Physiological responses to gradual drought stress in the diploid hybrid *Pinus densata* and its two parental species. Trees. 23(4): 717-728.

Ghanbary, E., Fathizadeh, O., Pazhouhan, I., Zarafshar, M., Tabari, M., Jafarnia, S., Parad, G.A., Bader,

MK.-F. (2021). Drought and Pathogen Effects on Survival, Leaf Physiology, Oxidative Damage, and Defense in Two Middle Eastern Oak Species. Forests. 12(2): 247.

Gholamhoseini, M., Ghalavand, 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: 106-114.

Guha, A., Rasineni, G.K. and Reddy, A.R. (2010). Drought tolerance in mulberry (*Morus* spp.): a physiological approach with insights into growth dynamics and leaf yield production. Experimental Agriculture. 46 (4): 471-488.

Jia-Dong, H., Tao, D., Hui-Hui, W., Ying-Ning, Z., Qiang-Sheng, W. and Kamil, K. (2019). Mycorrhizas induce diverse responses of root TIP aquaporin gene expression to drought stress in trifoliate orange. Scientia Horticulturae. 243: 64-69.

Latef, A.A.H.A. and Chaoxing, H. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. Scientia Horticulturae. 127(3): 228-233.

Li, J., Meng, B., Chai, H., Yang, X., Song, W., Li, S., Lu, A., 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. 10:499.

Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z. and Liang, Z. (2011). Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Industrial Crops and Products. 33(1): 84-88.

Monzón, A. and Azcón, R. (2001). Growth responses and N and P use efficiency of three *Alnus* species as affected by arbuscular-mycorrhizal colonisation. Plant Growth Regulation. 35(1): 97-104.

Morrissey, J.P., Dow, J.M., Mark, G.L. and O'Gara, F. (2004). Are microbes at the root of a solution to world food production? Rational exploitation of interactions between microbes and plants can help to transform agriculture. EMBO reports. 5(10): 922-926.

Munne-Bosch, S. and Penuelas, J. (2003). Photo-and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field-grown *Phillyrea angustifolia* plants. Planta. 217(5): 758-766.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology. 22(5): 867-880.

Parad, G.A., Ghobad-Nejhad, M., Tabari, M., Yousefzadeh, H., Esmaeilzadeh, O., Tedersoo, L. and Buyck, B. (2018). *Cantharellus alborufescens* and *C. ferruginascens* (Cantharellaceae, Basidiomycota) new to Iran Cryptogamie. Mycologie. 39(3): 299–310.

Parad, G.A., Tabari Kouchaksaraei, M., Striker, G.G., Sadati, S.E. and Nourmohammadi, K. (2016). Growth, morphology and gas exchange responses of two-year-old *Quercus Castaneifolia* seedlings to flooding stress. Scandinavian Journal of Forest Research. 31(5): 458-466.

Parad, G.A., Zarafshar, M., Striker, G.G. and Sattarian, A. (2013a). Some physiological and morphological responses of *Pyrus boissieriana* to flooding. Trees, Structure and Function. 27(5): 1387-1393.

Parad, G.A., Tabari, M., and Sadati, E. (2013b). Survival, Growth and Biomass Allocationin Seedlings of Common ash (*Fraxinus excelsior* L.) as affected by flooding Stress. 26(1): 9-20.

Parad, G.A., Tabari, M., and Sadati, E. (2014). Effect of permanent and periodic flooding treatments on growth, morphological and physiological

characteristics of one-year old potted seedlings of *Quercus castaneifolia* in Noor lowland. Journal of Wood and Forest Science and Technology. 20(4): 167-181.

Polle, A., Otter, T. and Seifert, F. (1994). Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). Plant Physiology. 106(1): 53-60.

Porcel, R., Barea, J.M. and Ruiz-Lozano, J.M. (2003). Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. New Phytologist. 157(1): 135-143.

Ruiz-Lozano, J., Azcón, R. and Palma, J. (1996). Superoxide dismutase activity in arbuscular mycorrhizal *Lactuca sativa* plants subjected to drought stress. New Phytologist. 134(2): 327-333.

Ruiz-Lozano, J.M. (2003). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza. 13(6): 309-317.

Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., de Salamone, I.E. G., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J.M. and Azcón, R. (2011). Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. Journal of Plant Physiology. 168(10): 1031-1037.

Sairam, R.K, Srivastava, G.C, Agarwal, S. and Meena, R.C. (2005). Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum. 49(1): 85–91.

Schrader, J.A. and Graves, W.R. (2000). Seed germination and seedling growth of *Alnus maritima* from its three disjunct populations. Journal of the American society for Horticultural science. 125(1): 128-134**.**

Stewart, R.R. and Bewley, J.D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiology. 65(2): 245-248.

Subramanian, K.S. and Charest, C. (1997). Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. Mycorrhiza. 7(1): 25-32.

Volpe, V., Chitarra, W., Cascone, P., Volpe, M.G., Bartolini, P., Moneti, G., Pieraccini, G., Di Serio, C., Maserti, B. and Guerrieri, E. (2018). The association with two different arbuscular mycorrhizal fungi differently affects water stress tolerance in tomato. Frontiers in plant science. 9:1480.

Wu, Q.-S. and Xia R.-X. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology. 163(4): 417-425.

Wu, Q.-S., Xia, R.-X., Zou, Y.-N. and Wang, G.-Y. (2007). Osmotic solute responses of mycorrhizal citrus (*Poncirus trifoliata*) seedlings to drought stress. Acta Physiologiae Plantarum., 29(6): 543-549.

Wu, Q.-S., Zou, Y.-N., Xia, R.-X. and Wang, M.-Y. (2007). Five Glomus species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. Botanical Studies. 48(2): 147-154.

Xia, C., Christensen, M.J., Zhang, X. and Nan, Z. (2018). Effect of *Epichloë gansuensis* endophyte and transgenerational effects on the water use efficiency, nutrient and biomass accumulation of *Achnatherum inebrians* under soil water deficit. Plant and Soil. 424(1-2): 555-571.

Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2006). Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. Annual Review of Plant Biology. 57: 781–803.

Yang, Y., Tang, M., Sulpice, R., Chen, H., Tian, S. and Ban, Y. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi alter fractal dimension characteristics of *Robinia pseudoacacia* L. seedlings through regulating plant growth, leaf water status, photosynthesis, and

nutrient concentration under drought stress. Journal of Plant Growth Regulation. 33(3): 612-625.

Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouhammou, A., Ouahmane, L. and Boumezzough, A. (2016). Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica G. Comptes Rendus Biologies*. 339(5-6): 185-196.

Zhang, F., Jia-Dong, H., Qiu-Dan, N., Qiang-Sheng, W. and Ying-Ning Z. (2018). Enhancement of drought tolerance in trifoliate orange by mycorrhiza: changes in root sucrose and proline metabolisms. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 46(1): 270-276.

Zhang, Z., Zhang, J. and Huang, Y. (2014). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the drought tolerance of *Cyclo balanopsis glauca* seedlings under greenhouse conditions. New Forests. 45(4): 545-556.

Journal of Plant Environmental Physiology, Serial 61, 16th year, Number 1, Spring 2021

Morphological, physiological, and enzymatic responses of Caucasian alder (*Alnus subcordata* C. A. Mey) seedlings to water deficit conditions by inoculation of *Rhizophagus irregularis*

Boor, Z., Parad, G.A.*, Hosseini, S.H., Ghanbary, E.

Deoartmaent of Forestry, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modarres University, Noor, Iran

Received date: 2020/08/04 Accepted date: 2020/09/23

Abstract

This study was conducted in greenhouse condition to investigate the growth, morphological and physiological changes and some antioxidant enzyme activities of one-year-old seedlings of *Alnus subcordata* C. A. Mey. inoculated with *Rhizophagus irregularis* mycorrhizal fungi under water deficit stress in a period of 70 days. The experiment was carried out at two inoculation levels (control or non-inoculated seedlings and inoculated with *R. irregularis* mycorrhizal fungi) and with two levels of irrigation including irrigation at field capacity (control treatment) and irrigation at 30% of field capacity (water deficit treatment) in a completely randomized design with four treatments and 10 replications. Results revealed that morphological and physiological characteristics of *A. subcordata* seedlings significantly decreased under water deficit stress at 99% level while all enzymatic activities significantly increased. Although the morphological characteristics such as height and diameter growth, root length, leaf area, and leaf, stem, root, and total biomass significantly increased by 20-30% in *R. irregularis* mycorrhiza treatment of the irrigation control plants, these features increased by 55, 40, 46, 47, 37, 35, 50 and 37%, respectively when the plants under water deficit treatment were added *R. irregularis* mycorrhiza compared to non-mycorrhiza water deficit treatment. The mean comparison results indicated that the photosynthesis rate, stomatal conductance, transpiration, and leaf water potential reduced by 57, 54, 53, and 65%, respectively under water deficit regime whereas addition of *R. irregularis* mycorrhizal fungi in soil alleviated the effects of water deficit. Also, under water deficit condition, activities of catalase, peroxidase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase significantly increased in comparison with field capacity irrigated seedlings while treatment of soil with mycorrhiza mitigated the destructive effects of water deficit. In general, the present study showed that inoculation of *R. irregularis* mycorrhizal fungi can alleviate physiological indexes and antioxidant enzyme and consequently leading to an increased tolerance of *A. subcordata* seedlings during the first year.

Keywords: Antioxidant activities, Field capacity, Photosynthetic rate, Total biomass, Water potential.

*Corresponding author; ghasemali.parad@modares.ac.ir