نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی
سال نهم / شماره چهارم / زمستان ۱۳۹۸

بررسی نقش سه گونه قارچ‌های ریشه‌ای آربسکولار بر رشد، فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز و ترکیبات فنلی گیاه آهار در شرایط تنش خشکی

واحد باقری[۱]، محمد حسین شمشیری[۲*]، حسین علایی[۳] و حسن صالحی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۵)

چکیده

این آزمایش به‌منظور بررسی اثر سه ایزوله شناسایی شده از قارچ‌های ریشه‌ای آربسکولار بر رشد، فعالیت اسید فسفاتاز و ترکیبات فنلی (فنل، فلاونوئیدها و آنتوسیانین) گیاه آهار در شرایط تنش خشکی انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل (دو فاکتور) بر اساس طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار در سال ۱۳۹۶ و در گلخانه دانشگاه ولی عصر(عج) رفسنجان، طراحی شد. فاکتورها شامل پنج سطح قارچ ریشه آربسکولار (بدون مایکوریزا به‌عنوان شاهد، *Rhizophagus irregularis*، *Rhizophagus intraradisces*، *Funneliformis mosseae* و ترکیب سه ایزوله) و چهار سطح تنش خشکی (آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه به‌عنوان شاهد، ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه) بود. دانهال‌ها در مرحله چهار برگی به گلدان‌های پلاستیکی ۱/۲ کیلوگرمی انتقال داده شدند و بلافاصله با گونه‌های مایکوریزا تلقیح شدند. گیاهان به‌مدت ۵۰ روز با آب مقطر آبیاری شدند و پس از اطمینان از میزان آلودگی، چهار سطح تنش خشکی به‌مدت چهار هفته دریافت کردند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، ویژگی‌های رویشی (تعداد برگ، قطر دمگل، طول گلبرگ، وزن خشک شاخساره و ریشه) با افزایش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین تنش خشکی موجب کاهش شاخص سبزینگی و ترکیبات فنلی شد. کاربرد مایکوریزا به‌طور چشمگیری رشد رویشی، فعالیت اسید فسفاتاز، شاخص سبزینگی و ترکیبات فنلی را در تنش خشکی بهبود بخشید به‌طوری که ایزوله‌های *R. irregularis*، *R. intraradisces*، *F. mosseae* و ترکیب آنها فعالیت اسید فسفاتاز ریشه را در سطح ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه به‌ترتیب ۵۸، ۵۲، ۶۱، ۵۳ درصد نسبت به گیاهان فاقد مایکوریزا افزایش داد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تلقیح گیاه آهار با قارچ‌های مایکوریزا سبب افزایش مقاومت به خشکی در آنها می‌شود که حداقل بخشی از آن به افزایش در جذب برخی از یون‌های معدنی کم‌تحرک مانند فسفر مربوط است.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، مایکوریزا، آنزیم، فسفر

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر(عج) رفسنجان
۳. دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر(عج) رفسنجان
۴. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: shamshiri88@gmail.com

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

مقدمه

خشکسالی، مشکلات متعددی را در زمینه‌های مختلف اجتماعی، اقتصادی و زیست‌محیطی به‌وجود آورده است که مهم‌ترین آنها در بخش کشاورزی، کاهش میزان عملکرد گیاهان است. کشور ایران با متوسط بارندگی سالانه حدود ۲۵۰ میلی‌متر جزء مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود (۴۳). در مناطق خشک و نیمه‌خشک، آب مهم‌ترین عامل محدودکننده رشدونمو گیاهان است. تنش خشکی موجب کاهش ماده خشک گیاهان می‌شود که علت آن را می‌توان به کاهش جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی در هر مرحله از رشد گیاه مرتبط دانست. از آنجایی که آب حلال بسیاری از مواد از جمله نمک‌های معدنی، قندها و یون‌های آلی است، بنابراین برای انتقال عناصر غذایی بین سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های گیاه ضروری است (۲۰).

در سال‌های اخیر یکی از راه‌کارهایی که به‌منظور افزایش مقاومت در برابر تنش خشکی در بسیاری از گیاهان استفاده قرار شده، کاربرد قارچ‌های همزیست ریشه (مایکوریزا آربسکولار، AM) است (۴۱). بر اساس مطالعات بوم‌شناسی و فیزیولوژیکی، همزیستی مایکوریزایی باعث جذب بهتر آب از خاک می‌شود. اکنون این واقعیت که همزیستی مایکوریزایی باعث افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش خشکی می‌شود، پذیرفته شده که در نتیجه برهم‌کنش اثرات فیزیکی، تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی این قارچ با گیاه میزبان است. قارچ‌های مایکوریز، باعث افزایش سطح جذب ریشه می‌شوند که به گیاه میزبان کمک می‌کند تا میزان آب بیشتری از خاک جذب کند (۴). یکی از عمده‌ترین مواردی که بیش از سایر موارد در فیزیولوژی گیاهان تلقیح شده با قارچ AM مطالعه شده، مقدار عناصر غذایی جذب شده در این گیاهان همراه با اندازه‌گیری وزن خشک آنها است. افزایش رشد عموماً با افزایش غلظت بعضی عناصر معدنی در بافت همراه است. در حال حاضر مشخص شده است که ریشه گیاهان مایکوریزایی در مقایسه با ریشه گیاهان غیرمایکوریزایی، فسفر و بعضی دیگر از عناصر را به مقدار بیشتری دریافت می‌کنند. جیمز و همکاران (۲۴) گزارش کردند که بهبود جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر توسط گیاهان مایکوریزایی در تنش خشکی مهم‌ترین عامل تأثیرگذار در رشد رویشی است. دلایل این امر را می‌توان پیوند شدید یون‌های فسفات غیرآلی با کلوئیدهای خاک و تثبیت آن به فرم فسفات آهن و یا فسفات آلومینیوم که در هر حال موجب عدم تحرک این عنصر می‌شود، دانست. علاوه‌بر آن مقدار زیادی از عنصر فسفات غیرآلی به‌صورت طبیعی در حالت غیرمحلول است، از این‌رو در عمل برای گیاهان قابل استفاده نیست. تولید و ترشح آنزیم فسفاتاز توسط ریسه‌های مایکوریزا باعث می‌شود که فسفات غیرمحلول و تثبیت شده در خاک به فرم محلول در آمده و برای ریشه قابل جذب شود (۲۳). آنزیم فسفاتاز به‌طور معمول توسط ریشه گیاهان و میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر ترشح می‌شود و با توجه به اینکه فرم‌های معدنی فسفر قابل استفاده هستند آنزیم‌های فسفاتار که هیدرولیز گروه‌های استری فسفر آلی را کاتالیز می‌کنند، نقش مهمی در جذب و انتقال فسفر در گیاه دارند (۲۸). گزارشاتی مبنی بر نقش قارچ‌های AM بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز وجود دارد. به‌طور مثال، در آزمایشی، تلقیح گیاه یونجه (*Medicago sativa*) با مایکوریزا در شرایط تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز مایکوریزا شد (۱۹).

ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فنل‌ها جزء متابولیت‌های ثانویه هستند که در بافت‌های گیاهی به‌وفور وجود دارند و در اثر تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی افزایش و باعث مقاومت گیاهان می‌شوند (۳۷). آنتوسیانین‌ها به‌عنوان مهم‌ترین گروه از رنگیزه‌های طبیعی بعد از کلروفیل هستند که محلول در آب هستند. این رنگدانه‌های فلاونوئیدی مسئول رنگ قرمز، آبی و بنفش در بسیاری از میوه‌ها، سبزی‌ها و به‌ویژه گل‌ها هستند (۹). یکی از صدمات تنش خشکی، تخریب مولکول کلروفیل است که به‌دنبال آن رنگیزه‌های محافظ مانند آنتوسیانین ظاهر می‌شوند. نوگز و همکاران (۳۱) افزایش قابل توجهی از ترکیبات فنلی از جمله آنتوسیانین در گیاهان نخود (*Pisum sativum*) رشد کرده در

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

شرایط تنش خشکی گزارش کردند. در آزمایشی دیگر انواع ترکیبات فنلی در تنش خشکی در گیاه گل راعی (*Hypericum brasiliense*) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۱۴). مشخص شده است که استفاده از قارچ‌های AM می‌تواند میزان تولید ترکیبات فنلی را در گیاهان میزبان به‌عنوان مکانیسم دفاعی و مقاومتی تغییر یا افزایش دهند (۱۲). در هر صورت اطلاعات محدودی در ارتباط با نقش مایکوریزا در مقدار ترکیبات فنلی در گیاهان زینتی تحت تنش خشکی وجود دارد. در آزمایشی که روی گیاه گل حنا (*Impatiens balsamina*) انجام شد استفاده از قارچ AM به‌صورت ترکیب چندین گونه مایکوریزا باعث افزایش ترکیبات فنلی در ریشه گیاهان شد به‌طوری که نسبت به شاهد این افزایش قابل توجه بود (۶).

گیاه آهار از خانواده کلاهپرک‌سانان گیاهی است یک‌ساله و یا چندساله که ۱۷ گونه مختلف دارد که به‌دلیل تنوع بسیار بالای رنگ و اندازه گل‌ها استفاده می‌شود. از محبوب‌ترین گونه‌های این جنس می‌توان به *Zinnia elegans* L. اشاره کرد. گیاه آهار هر چند به‌عنوان یک گیاه مقاوم به دمای بالا و کم‌آبی شناخته شده است اما از دست رفتن رطوبت خاک باعث کاهش کیفیت و تعداد گل‌ها می‌شود (۱۵). استفاده از گل آهار در چند سال اخیر در شهرستان رفسنجان به‌عنوان یک منطقه نیمه‌خشک اهمیت فراوانی پیدا کرده است.

با توجه به اهمیت و لزوم افزایش کارایی مصرف آب در مناطق خشک و نیمه‌خشک، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات سه ایزوله شناسایی شده بومی به‌صورت جداگانه (*R. irregularis*، *R. intraradisces*، *F. mosseae*) و ترکیب آنها (Mix) بر میزان رشد، ارتباط فعالیت آنزیم فسفاتاز با جذب فسفر کل گیاه و ترکیبات فنلی گیاه آهار در شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آماده کردن مایه تلقیح

این آزمایش در آزمایشگاه مولکولی و گلخانه پژوهشی گروه علوم باغبانی دانشگاه ولی عصر(عج) رفسنجان در سال‌های ۱۳۹۷-۱۳۹۶ انجام شد. نمونه‌های خاک از ناحیه ریزوسفر ریشه گیاه آهار از چندین پارک واقع در شهرستان رفسنجان تهیه و برای بررسی و شناسایی گروه‌های قارچ AM مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به پایین بودن اسپورها از نظر کمّی و کیفی، از کشت تله و گیاه میزبان سورگوم (*Sorghum bicolor*) برای به‌دست آوردن اسپورهای سالم و کافی استفاده شد. در مرحله بعد اسپورهای سالم زیر بینوکولار جدا و داخل تیوب‌های ۰/۵ میلی‌لیتری حاوی آب مقطر با دستگاه حمام اولتراسونیک (۳۰-۱۰ ثانیه با قدرت ۳۵ کیلوهرتز) ضدعفونی شدند. تک‌اسپورهای ضدعفونی شده با استفاده از پیپتور روی ریشه گیاه سورگوم به‌عنوان میزبان قرار داده شدند و گیاهان داخل گلدان‌های پلاستیکی کوچک با خاک اتوکلاو شده کشت شدند. بعد از گذشت دو ماه از تلقیح، نمونه‌های آلوده شده به‌عنوان ایزوله خالص برای شناسایی مولکولی استفاده شدند. DNA تک‌اسپورهای هر ایزوله استخراج و ناحیه 18sDNA ریبوزومی با شیوه PCR آشیانه‌ای و با کمک پرایمرهای اختصاصی AML1/AML2 تکثیر شد (۲۶). از مجموع توالی‌های آنالیز شده قارچ‌های مایکوریزا از طریق مورفولوژیکی و مولکولی سه گروه *Rhizophagus irregularis* (Accession Number: MF679647)، *Rhizophagus intraradices* (Accession Number:MF679648) و *Funneliformis mosseae* (Accession Number:MF679649) شناسایی شد (داده‌ها نشان داده نشده است) که در این آزمایش به‌عنوان مایه قارچ استفاده شدند.

تهیه خاک و جوانه‌زنی بذور و تلقیح گیاهان

خاک مورد استفاده به نسبت ۳:۲ به‌ترتیب از خاک الک شده (دو میلی‌متر) مزرعه و ماسه تهیه و اتوکلاو شد (جدول ۱). مقدار یک کیلوگرم از خاک اتوکلاو شده درون گلدان‌های پلاستیکی ۱/۲ کیلوگرمی (ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر و قطر ۱۴ سانتی‌متر) ریخته شد. بذور F1 گیاه آهار (*Zinnia elegans* L. var. Magellan Red) پس از ضدعفونی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

جدول ۱. نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک استفاده شده در این آزمایش

ویژگی	میزان	عنصر	میزان
هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	۱/۷۷	پتاسیم قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۲۰
پ‌هاش	۷/۶	فسفر قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۱/۵
درصد شن	۷۲/۲	منگنز قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۴/۴۲
درصد رس	۱۳/۶	آهن قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲/۲۴
درصد سیلت	۱۴/۲	روی قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱/۶۱
ظرفیت مزرعه (درصد وزنی)	۱۳/۹	مس قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۰/۴۲
نقطه پژمردگی دائم (درصد وزنی)	۶/۲۳	سدیم قابل جذب (میلی‌اکی‌والان بر لیتر)	۲/۳۳

در سینی‌های کشت با نسبت ۱:۱ کوکوپیت و پرلایت ضدعفونی شده کشت شد. سینی‌های کشت در داخل اتاقک رشد با شرایط دمایی ۲۱/۲۸ درجه سانتی‌گراد روز و شب و رطوبت نسبی ۵۰ درصد قرار داده شدند. دانهال‌های سالم و یکنواخت بعد از گذشت چهار هفته و در مرحله چهار برگ حقیقی به گلدان‌ها منتقل شدند. در این آزمایش قارچ AM در پنج سطح (بدون مایکوریزا (شاهد)، *R. irregularis*، *R. intraradisces*، *F. mosseae* و ترکیب سه ایزوله) استفاده شد. مایه تلقیح به مقدار ۲۰ گرم شامل اسپور (۲۱۰ اسپور به ازای هر گلدان برای سه ایزوله به‌صورت جداگانه و از هر ایزوله ۷۰ اسپور برای تیمار ترکیبی)، قطعات ریشه آلوده، میسلیوم و خاک به ازای هر گلدان استفاده شد. قبل از انتقال نشا، حفره‌ای در مرکز گلدان ایجاد و مایه تلقیح در کف حفره قرار داده شد و سپس به‌ازای هر گلدان یک عدد دانهال کشت شد. برای تیمارهای بدون مایکوریزا همان مقدار مایه تلقیح اتوکلاو شده استفاده شد. پس از کشت، گلدان‌ها به‌مدت ۵۰ روز به‌صورت وزنی تا سطح ظرفیت زراعی آبیاری شدند. در تمام طول دوره آزمایش، به‌منظور آبیاری از آب مقطر استفاده شد. گیاهان در گلخانه‌ای با ۱۳ ساعت نور طبیعی (با دمای ۲۸±۲°C) و ۱۱ ساعت تاریکی (با دمای ۱۸±۲°C) و رطوبت نسبی ۵۵±۵ درصد رشد کردند. همچنین گیاهان به فاصله زمانی ۱۲ روز و در چهار نوبت با محلول غذایی هوگلند تغیر یافته بدون فسفر تغذیه شدند. محلول غذایی مورد استفاده برای تغذیه گیاهان ۵ میلی‌مولار $Ca(NO_3)_2.4H_2O$، ۰/۲ میلی‌مولار K_2SO_4، ۰/۳ میلی‌مولار $MgSO_4.7H_2O$ و ۰/۱ میلی‌مولار NaCl بود. ریزمغذی‌ها عبارت بودند از ۲۰ میکرومولار Fe-EDDHA، ۷ میکرومولار $MnSO_4.H_2O$، ۰/۷ میکرومولار $ZnCl_2$، ۰/۸ میکرومولار $CuSO_4.5H_2O$، ۲ میکرومولار H_3BO_3 و ۰/۸ میکرومولار $Na_2MoO_4.2H_2O$ بود (۳۵). گیاهان در این آزمایش به‌مدت چهار هفته تحت تأثیر چهار سطح تنش خشکی شامل ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه به‌عنوان شاهد (FC_{100})، ۸۰ درصد (FC_{80})، ۶۰ درصد (FC_{60}) و ۴۰ درصد (FC_{40}) ظرفیت زراعی قرار گرفتند که طی این مدت، به‌صورت روزانه توزین و مقدار آب لازم (با توجه به سطح تیمار خشکی) با آب مقطر به آنها اضافه شد.

پارامترهای اندازه‌گیری شده

پارامترهای رویشی

پارامترهای رویشی که در این آزمایش اندازه‌گیری شد شامل ارتفاع و قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک شاخساره و ریشه، طول گلبرگ، قطر دم‌گل بود. قطر ساقه، قطر دم‌گل و طول گلبرگ با استفاده از کولیس دیجتال اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس وزن شدند.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

شاخص سبزینگی (SPAD)

برای اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ در هفته پایانی آزمایش از یک دستگاه کلروفیل‌متر دستی (SPAD ۵۰۲, Minolta, Japan) استفاده شد. برای این منظور به‌طور تصادفی از هر گیاه دو برگ جوان انتخاب و دو قرائت جداگانه در برگ‌های مرکزی شاخه اصلی گیاهان انجام شد. میانگین این قرائت‌ها به‌عنوان شاخص کلروفیل در تجزیه‌ها استفاده شد.

فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ریشه (EC ۳.۱.۳.۲) و جذب فسفر کل

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز از روش آسنسیو (۳) استفاده شد. نیم گرم از قسمت‌های انتهایی ریشه به‌صورت تازه تهیه و با هاون از پیش سرد شده در ۱۰ میلی‌لیتر از بافر استخراج (استات سدیم ۰/۱ مولار با pH= ۵) عمل استخراج صورت گرفت. نمونه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۲۰ دقیقه با دور g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. واکنش با اضافه کردن یک میلی‌لیتر پارا نیترو فنل فسفات و نیم میلی‌لیتر بافر استات سدیم به نمونه آغاز شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس حمام آب گرم و تاریکی قرار گرفتند. در نهایت واکنش با افزودن هشت میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار متوقف شد. میزان جذب پارا نیتروفنل آزاد شده در طول موج ۴۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (T۸۰ UV/VIS Spectrometer, PG Instruments Ltd., UK) اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با استفاده از پارا نیترو فنل به غلظت‌های صفر تا ۲۰ میکرومولار تهیه شد.

اندازه‌گیری میزان فسفر کل به روش آمونیوم مولیبدات و آمونیوم وانادات (زرد) انجام شد (۱۱). ابتدا قسمت هوایی و ریشه با آب مقطر به‌طور کامل شسته و در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. برای تهیه عصاره ابتدا ۰/۵ و ۰/۲۵ گرم از نمونه خشک شاخساره و ریشه آسیاب شده را وزن کرده و سپس در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به‌مدت سه ساعت قرار داده شد تا نمونه‌ها تبدیل به خاکستر شدند و سپس با استفاده از اسید کلریدریک دو نرمال پنج میلی‌لیتر به ازای هر نمونه اضافه شد و درنهایت توسط آب مقطر به حجم ۵۰ و ۲۵ میلی‌لیتر رسانیده شد. پنج میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده در مرحله قبل را با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط کرده و در نهایت توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده و میزان فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد.

ترکیبات فنلی

مقدار فنل‌های کل با معرف فولن- سیکالتو تعیین شد. ۰/۱ گرم بافت گیاه در یک هاون با پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد مخلوط و به‌طور کامل یکنواخت و به‌مدت ۷۲-۲۴ ساعت درتاریکی نگهداری شد. به محلول رویی یک میلی لیتراتانول ۹۵ درصد اضافه شد و با آب دوبار تقطیر حجم محلول به پنج میلی‌لیتر رسانده شد. سپس نیم میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شدند و جذب هر نمونه درطول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از گالیک اسید منحنی استاندارد(صفر تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) رسم شد و غلظت ترکیبات فنلی کل محاسبه شد (۴۰).

سنجش آنتوسیانین گلبرگ

اندازه‌گیری آنتوسیانین به روش اختلاف pH انجام گرفت. برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین گلبرگ‌های گل آهار، ابتدا ۰/۲۵ گرم از نمونه‌ها را در هاون چینی از پیش سرد شده با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (الکل متیلیک و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) به‌طور کامل سائیده و عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار ریخته شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در یخچال با دمای چهار درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در این روش از دو سیستم بافری اسیدکلریدریک (pH=۱) و استات سدیم (pH=۴/۵) استفاده شد. در مرحله بعد یک میلی‌لیتر از نمونه‌ها با هر کدام از بافرها

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

جداگانه به حجم پنج میلی‌لیتر رسانده و در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر میزان جذب قرائت شد (۴۶).

سنجش فلاونوئیدهای کل

فلاونوئیدهای کل با روش اندازه‌گیری آلومینیوم کلراید انجام شد (۵۰). ۰/۱ گرم از برگ گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به‌خوبی یکنواخت و عصاره حاصل دور g ۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر عصاره برداشته و با آب مقطر به حجم پنج میلی‌لیتر رسید. بعد از پنج دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر سدیم نیتریت ($NaNO_2$) پنج درصد و ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد. در پایان دو میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم به محلول اضافه شد. شدت جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین متانولی در غلظت‌های ۱۰۰۰-۲۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر تهیه شد.

برای محاسبه درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها، پس از رنگ‌آمیزی قطعات هم‌اندازه ریشه‌ها انتخاب و سپس روی هر لام ۱۰ قطعه ریشه قرار گرفته و با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگ‌نمایی x ۱۰۰ میزان کلونیزاسیون آنها طبق فرمول زیر محاسبه شد (۳۳).

$$\text{میزان کلونیزاسیون (٪)} = \frac{\text{تعداد ریشه آلوده شده}}{\text{تعداد ریشه مشاهده شده}} \times 100 \quad (1)$$

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور شامل قارچ AM (پنج سطح) و فاکتور تنش خشکی (چهار سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی و در شش تکرار انجام گرفت. از نرم‌افزار آماری SAS (۹/۱) برای تجزیه تحلیل داده‌ها و محاسبه ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد توسط آزمون LSD انجام شد. با استفاده از برنامه MINITAB ورژن ۱۶ تست نرمالیته روی داده ها انجام شد.

نتایج و بحث

صفات رویشی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که نوع قارچ، تنش خشکی و برهم‌کنش آنها بر صفات رشدی از جمله وزن خشک شاخساره و ریشه، تعداد برگ و قطر دم‌گل در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). همچنین ارتفاع و قطر ساقه تنها در تیمار مایکوریزا و برای طول گلبرگ اثر مایکوریزا و خشکی به‌طور مستقل معنی‌دار شد (جدول ۲). طبق نتایج به‌دست آمده تنش خشکی باعث کاهش رشد گیاهان شد، هر چند که بین FC_{100} و FC_{80} اختلاف معنی‌دار نبود اما در FC_{40} کمترین رشد مشاهده شد (جدول ۳). به‌طور مثال وزن خشک شاخساره در FC_{40} به مقدار ۰/۸۴ گرم و در FC_{100} به مقدار ۰/۹۶ گرم به‌دست آمد. بر اساس نتایج موجود در جدول ۳، کاربرد مایکوریزا موجب افزایش چشمگیر رشد گیاهان در مقایسه با شاهد (گیاهان بدون مایکوریزا) شد، به‌طوری که در بیشتر موارد گیاهان مایکوریزایی رشد کرده در تنش خشکی رشدی بیش از گیاهان فاقد مایکوریزا داشتند که این اختلاف از لحاظ آماری در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. به‌طور مثال، در FC_{40} تعداد برگ ۳۶، ۱۱، ۳۰ و ۱۶ درصد به‌ترتیب در *R. irregularis*، *R. intraradisces*، *F. mosseae* و مخلوط سه گونه نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد.

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش رشد بر اثر تنش خشکی تا حدودی به اثرات تغذیه‌ای مربوط می‌شود (۲۹). در بسیاری از مطالعاتی که انجام شده است نقش قارچ‌های مایکوریز بر رشد رویشی بسیاری از گیاهان همزیست خود غیر قابل انکار است (۳۴). در پژوهشی که انجام پذیرفت مایکوریزا تمام پارامترهای رشد رویشی گیاه آهار (ارتفاع و قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک شاخساره و ریشه، ، قطر دم‌گل و طول گلبرگ) را نسبت به شاهد افزایش داد و این موضوع زمانی اهمیت پیدا می‌کند که این افزایش‌ها در گیاهان تحت تنش نیز مشاهده شد. مایکوریزا با استفاده از شیوه‌های مختلف بر رشد رویشی تأثیر گذار است. یکی از مهم‌ترین روش‌ها تغییر در مورفولوژی ریشه و طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ است که باعث افزایش جذب آب و باعث بهبود روابط آبی گیاه میزبان می‌شود (۵). مکانیسم مهم دیگری که در این رابطه وجود دارد تأثیر

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر مایکوریز و خشکی بر ارتفاع و قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک شاخساره، وزن خشک ریشه، قطر دم‌گل و طول گلبرگ

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		ارتفاع ساقه	قطر ساقه	تعداد برگ	وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	قطر دمگل	طول گلبرگ
مایکوریزا	۳	۱۴/۷۲**	۰/۱۵*	۱۳۲/۵۵**	۰/۲۶**	۰/۰۲۴**	۰/۲۳**	۱/۲۴**
خشکی	۴	۰/۳۷ns	۰/۱۰ns	۳۵/۳۸**	۰/۰۸۵**	۰/۰۲۷**	۰/۱۵*	۰/۱۲*
مایکوریزا × خشکی	۱۲	۲/۰۹ns	۰/۰۵ns	۸/۷۹**	۰/۰۳۷**	۰/۰۱۴**	۰/۰۸*	۰/۰۲ns
خطا	۱۰۰	۲/۰۶	۰/۰۵	۳/۲۷	۰/۰۱۳	۰/۰۰۳	۰/۰۴	۰/۰۳

ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

مایکوریزا بر جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک است (۱).

در پژوهش حاضر اثر خشکی بر ارتفاع ساقه و قطر ساقه معنی‌دار نشد، با توجه به اینکه از رقم پاکوتاه گلدانی آهار در این آزمایش استفاده شد در زمان اعمال تنش خشکی گیاهان از نظر ارتفاع و قطر به حداکثر رشد خود رسیده بودند. در گیاهان شاهد تأثیر سطوح مختلف خشکی بر بیشتر صفات رویشی با وجود روند کاهشی از لحاظ آماری معنی‌دار نشد اما در گیاهان تیمار شده با گونه‌های مختلف مایکوریزا اختلاف کاملاً مشهود بود (جدول ۳). از آنجایی که تجمع ماده خشک در گیاهان در یک فرایند طولانی‌مدت رخ می‌دهد، بنابراین ممکن است دوره‌های خشکی کوتاه‌مدت تأثیر قابل توجهی برگیاهان نداشته باشد (۲۷).

شاخص سبزینگی

همان‌طوری‌که نتایج مقایسه میانگین‌ها در شکل ۱ نشان می‌دهد صرف نظر از نوع مایکوریزا به کار رفته، با افزایش سطح خشکی شاخص سبزینگی کاهش یافت به‌طوری که کمترین مقدار با ۲۹/۶۵ در $FC_{۴۰}$ مشاهده شد. البته بین سطح $FC_{۱۰۰}$ و $FC_{۸۰}$ اختلافی مشاهده نشد. کاربرد مایکوریزا تأثیر زیادی در شاخص سبزینگی گیاهان تحت تنش داشت که در این رابطه بین سطوح مایکوریزا به‌کار رفته اختلافی از لحاظ آماری در سطح پنج درصد مشاهده نشد و همه تیمارهای مایکوریزا اثر یکسانی داشتند، به‌طوری که شاخص سبزینگی در *F. mosseae* ،*R. intraradisces* ،*R. irregularis* و ترکیبی نسبت به گیاهان شاهد در سطح $FC_{۴۰}$ حدود ۳۰ درصد افزایش نشان داد.

کلروپلاست و رنگیزه‌های گیاهی موجود در آن معمولاً تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند. به‌عنوان مثال، تنش خشکی از طریق هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی باعث کاهش مقدار کلروفیل a و کلروفیل b و در نتیجه شاخص سبزینگی می‌شود (۴۲). شاخص سبزینگی بالا نشانگر حفاظت رنگیزه‌های گیاهی از خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو است که به‌عنوان یک شاخص مقاومت ارزیابی می‌شود. شاخص سبزینگی با میزان کلروفیل ارتباط خطی مثبت دارد (۴۷). گزارش‌های زیادی وجود دارند که نشان می‌دهند در شرایط تنش خشکی گیاهان مایکوریزا نسبت به گیاهان غیرمایکوریزا میزان کلروفیل بیشتری دارند. مایکوریزا معمولاً از طریق بهبود روابط آبی گیاه میزبان اثر تنش خشکی را تعدیل می‌کند و گیاه کمتر دچار تنش می‌شود و کلروپلاست ساختار خود را حفظ می‌کند (۴). نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر در ارتباط با تأثیر مایکوریزا بر افزایش میزان کلروفیل با نتایج کیانگ شنگ و همکاران (۳۴)، همخوانی دارد.

فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ریشه و جذب فسفر کل گیاه

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) اثرات مستقل مایکوریزا و خشکی بر فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ریشه در

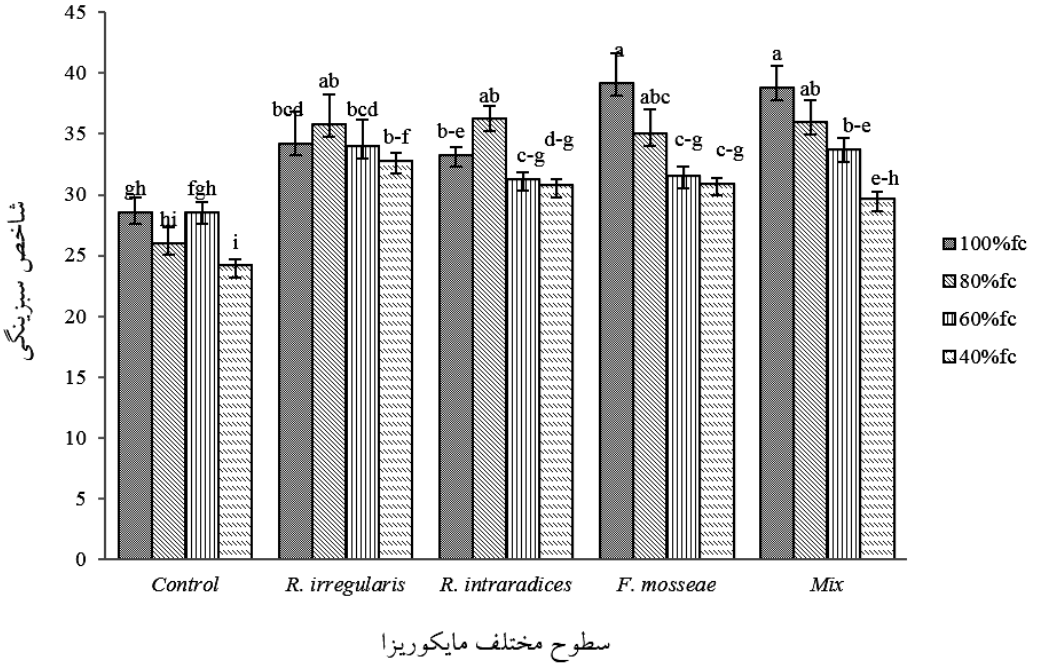
[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381] [DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9] [Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین‌های برهم‌کنش مایکوریزا–تنش خشکی بر ارتفاع ساقه، قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک شاخساره، وزن خشک ریشه، قطر دم‌گل و طول گلبرگ گیاه آهار

نوع قارچ	سطوح خشکی (FC)	تعداد برگ	وزن خشک شاخساره (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	قطر ساقه (سانتی‌متر)	قطر دم‌گل (سانتی‌متر)	طول گلبرگ (سانتی‌متر)
بدون مایکوریزا(شاهد)	۱۰۰ درصد	۱۱/۰۰± ۰/۴۴^{hij}	۰/۷۱± ۰/۰۳^{i}	۰/۳۸± ۰/۰۱^{fgh}	۲۱/۱۶±۰†/۵۸^{f†}	۳/۶۷± ۰/۰۳$^{b-g}$	۲/۴۶±۰/۰۳^{f}	۱/۷۳±۰/۰۴^{e}
	۸۰ درصد	۱۰/۳۳± ۰/۴۲^{ij}	۰/۷۶± ۰/۰۵^{gi}	۰/۴۱± ۰/۰۲$^{e-h}$	۲۲/۰۶±۰/۸۴^{def}	۳/۴۱± ۰/۱۱^{g}	۲/۵۶±۰/۰۷$^{c-f}$	۱/۶۶±۰/۰۵^{e}
	۶۰ درصد	۱۰/۰۰±۰/۵۱^{j}	۰/۷۵± ۰/۰۴^{hi}	۰/۴۱± ۰/۰۱$^{e-h}$	۲۱/۵۸±۰/۴۸^{ef}	۳/۵۳± ۰/۱۲^{efg}	۲/۵۵±۰/۰۸$^{c-f}$	۱/۵۸±۰/۰۸^{e}
	۴۰ درصد	۱۰/۵۰± ۰/۵۰^{ij}	۰/۷۳± ۰/۰۲^{i}	۰/۴۲± ۰/۰۱$^{d-g}$	۲۱/۷۶±۰/۵۹^{ef}	۳/۵۰±۰/۱۰^{fg}	۲/۴۵±۰/۰۸^{f}	۱/۵۸±۰/۰۷^{e}
R. irregularis	۱۰۰ درصد	۱۸/۶۶± ۱/۰۲^{ab}	۱/۰۷± ۰/۰۷^{ab}	۰/۴۷± ۰/۰۳$^{b-e}$	۲۳/۵۱±۰/۷۱$^{a-d}$	۳/۹۸±۰/۰۳^{a}	۲/۶۸±۰/۱۱$^{b-f}$	۲/۲۳±۰/۰۸^{ab}
	۸۰ درصد	۱۹/۰۰± ۰/۶۸^{a}	۱/۱۲± ۰/۰۴^{a}	۰/۵۲± ۰/۰۳^{ab}	۲۲/۷۰±۰/۶۹$^{b-f}$	۳/۸۱±۰/۱۰^{abc}	۲/۷۷±۰/۰۶^{abc}	۲/۱۱±۰/۰۳$^{a-d}$
	۶۰ درصد	۱۶/۰۰± ۰/۷۳^{cd}	۱/۰۴± ۰/۰۳^{abc}	۰/۵۱±۰/۰۰^{abc}	۲۳/۷۱±۰/۲۹^{abc}	۳/۸۲±۰/۱۳$^{a-d}$	۲/۷۶±۰/۰۸^{bcd}	۲/۳۱±۰/۰۸^{a}
	۴۰ درصد	۱۴/۳۳± ۰/۹۱^{def}	۰/۸۸± ۰/۰۵$^{d-h}$	۰/۴۱± ۰/۰۲$^{e-h}$	۲۳/۰۸±۰/۱۷$^{a-e}$	۳/۵۴±۰/۰۸$^{d-g}$	۲/۵۰±۰/۰۶^{ef}	۲/۰۶±۰/۰۵^{bcd}
R. intrarardises	۱۰۰ درصد	۱۳/۵۰± ۰/۷۱^{efg}	۰/۹۸± ۰/۰۴^{bcd}	۰/۴۸± ۰/۰۱$^{a-d}$	۲۳/۷۱±۰/۵۴^{abc}	۳/۸۸±۰/۰۸^{ab}	۲/۸۰±۰/۰۷^{ab}	۲/۱۹±۰/۰۶^{abc}
	۸۰ درصد	۱۵/۰۰± ۰/۶۸$^{c-e}$	۰/۹۳± ۰/۰۵^{cde}	۰/۴۷± ۰/۰۳$^{b-e}$	۲۳/۵۳±۰/۶۲$^{a-d}$	۳/۶۹±۰/۱۳$^{b-f}$	۲/۶۳±۰/۰۲$^{b-f}$	۲/۱۴±۰/۰۶$^{a-d}$
	۶۰ درصد	۱۳/۵۰± ۰/۸۴^{efg}	۰/۹۴± ۰/۰۴^{bcd}	۰/۴۸± ۰/۰۱$^{a-d}$	۲۳/۵۳±۰/۴۷$^{a-d}$	۳/۸۶±۰/۱۰^{ab}	۲/۷۲±۰/۱۱$^{b-e}$	۲/۲۵±۰/۰۴^{ab}
	۴۰ درصد	۱۱/۶۶± ۰/۹۵$^{g-j}$	۰/۸۹± ۰/۰۲$^{d-g}$	۰/۴۷± ۰/۰۱$^{b-e}$	۲۳/۸۸±۰/۳۹^{ab}	۳/۸۸±۰/۰۶^{ab}	۲/۷۶±۰/۰۴^{bcd}	۲/۱۳±۰/۰۶$^{a-d}$
F. mosseae	۱۰۰ درصد	۱۴/۵۰± ۰/۷۶$^{d-f}$	۰/۸۹± ۰/۰۳$^{d-g}$	۰/۴۹± ۰/۰۳$^{a-c}$	۲۲/۱۸±۰/۶۴$^{c-f}$	۳/۹۱±۰/۰۹^{ab}	۳/۰۱±۰/۰۹^{a}	۲/۲۲±۰/۱۰^{abc}
	۸۰ درصد	۱۴/۶۶± ۰/۸۴$^{d-f}$	۰/۹۸± ۰/۰۴$^{b-d}$	۰/۴۹± ۰/۰۱$^{a-d}$	۲۲/۹۳±۰/۷۶$^{b-e}$	۳/۸۳±۰/۱۴^{abc}	۲/۸۲±۰/۱۱^{ab}	۲/۲۱±۰/۰۸^{abc}
	۶۰ درصد	۱۵/۳۳± ۰/۴۹$^{c-e}$	۰/۹۲± ۰/۰۴$^{c-f}$	۰/۳۸± ۰/۰۱$^{f-h}$	۲۳/۱۸±۰/۷۹$^{a-e}$	۳/۷۹±۰/۰۹$^{a-e}$	۲/۵۲±۰/۰۸^{def}	۲/۰۵±۰/۰۸^{bcd}
	۴۰ درصد	۱۳/۶۶± ۰/۸۰$^{e-g}$	۰/۸۸± ۰/۰۲$^{d-h}$	۰/۴۰± ۰/۰۱$^{f-h}$	۲۲/۴۶±۰/۵۵$^{b-f}$	۳/۸۳±۰/۱۰^{abc}	۲/۶۷±۰/۱۳$^{b-f}$	۲/۰۱±۰/۰۸^{cd}
Mix	۱۰۰ درصد	۱۶/۸۳± ۰/۶۰^{bc}	۱/۱۳± ۰/۰۷^{a}	۰/۵۵± ۰/۰۴^{a}	۲۴/۶۱±۰/۵۴^{a}	۳/۷۴±۰/۰۸$^{a-f}$	۲/۸۶±۰/۰۹^{ab}	۲/۱۷±۰/۰۴$^{a-d}$
	۸۰ درصد	۱۳/۵۰± ۰/۷۱$^{e-g}$	۰/۸۹± ۰/۰۵$^{d-g}$	۰/۴۵± ۰/۰۱$^{c-f}$	۲۳/۱۳±۰/۶۰$^{a-e}$	۳/۶۸±۰/۰۸$^{b-g}$	۲/۶۳±۰/۰۷$^{b-f}$	۲/۱۰±۰/۰۷^{bcd}
	۶۰ درصد	۱۲/۸۳± ۰/۶۰$^{f-h}$	۰/۷۹± ۰/۰۵$^{f-i}$	۰/۳۵± ۰/۰۳^{gh}	۲۲/۶۰±۰/۳۴$^{b-f}$	۳/۵۸±۰/۰۶$^{c-g}$	۲/۷۱±۰/۰۷$^{b-e}$	۲/۰۴±۰/۰۶^{bcd}
	۴۰ درصد	۱۲/۱۶±۱/۰۴$^{g-i}$	۰/۸۱± ۰/۰۵$^{e-i}$	۰/۳۵± ۰/۰۲^{h}	۲۲/۶۶±۰/۵۷$^{b-f}$	۳/۷۷±۰/۰۶$^{a-f}$	۲/۵۵±۰/۰۸$^{c-f}$	۱/۹۶±۰/۱۲^{d}

† مقادیر مثبت و منفی نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE ±) است. †† میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح پنج درصد معنی‌دار نیست.



شکل ۱. اثر سطوح مختلف خشکی و مایکوریزا بر شاخص سبزینگی گیاه آهار. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشانه‌ی معنی‌دار بودن اختلاف میانگین ها در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است.

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثر مایکوریزا و خشکی بر شاخص سبزینگی، اسید فسفاتاز، جذب فسفر کل، فنل کل،فلاونوئید، آنتوسیانین گلبرگ و کلونیزاسیون ریشه

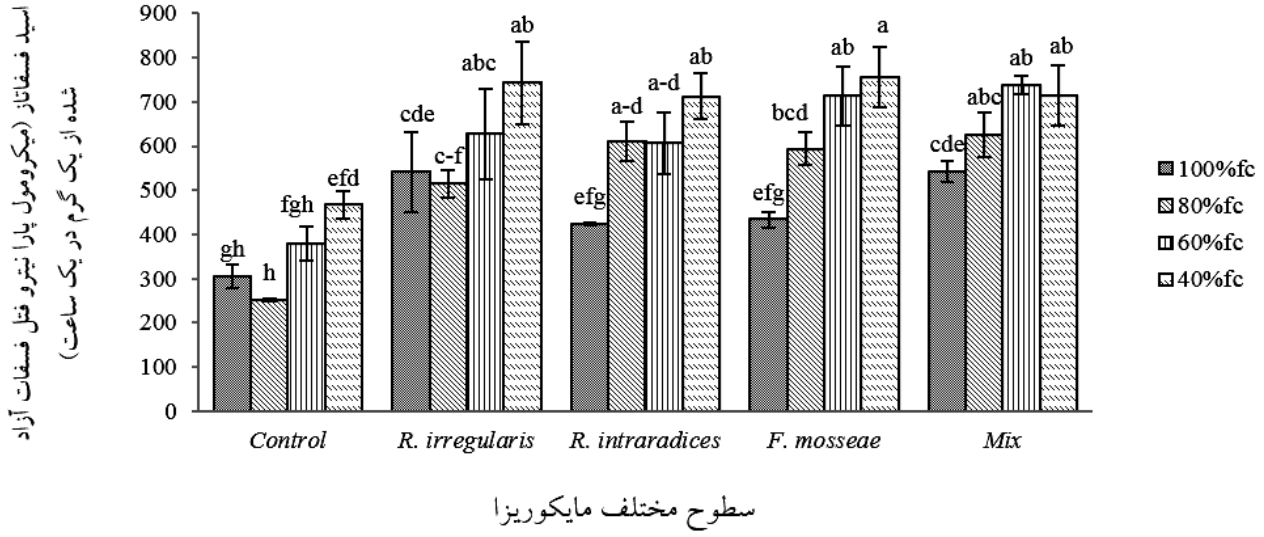
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		شاخص سبزینگی	آنزیم اسید فسفاتاز ریشه	جذب فسفر کل	ترکیبات فنل برگ	فلاونوئیدهای برگ	آنتوسیانین گلبرگ	کلونیزاسیون ریشه
مایکوریزا	۳	۲۵۲/۴۸**	۱۷۹۰۲۹/۹۴**	۲۹۹۲۳۶۴/۶۳**	۲۲۰/۷۶ns	۱۰۶/۲۱**	۸۳۸۱۹/۴۶**	۳۴۱۸۸/۴۴**
خشکی	۴	۱۵۶/۱۲**	۱۵۲۵۷۰/۷۷**	۷۵۷۷۱۴/۶۸**	۳۰۹۴/۹۵**	۱۷۵/۱۳**	۲۵۹۸۳۴/۴۸**	۶۰۳/۴۳**
مایکوریزا × خشکی	۱۲	۲۳/۴۵ns	۸۵۶۳/۷۸ns	۲۳۳۶۸۱/۳۹**	۲۹۳/۰۰ns	۴۰/۱۴**	۱۸۱۳۲/۵۴**	۱۵۹/۱۷**
خطا	۱۰۰	۱۳/۴۸	۹۱۶۴/۳۳	۴۲۸۳۹/۳۴	۲۱۰/۱۸	۱۱/۱۸	۳۲۵۹/۶۵	۶۳/۸۳

ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

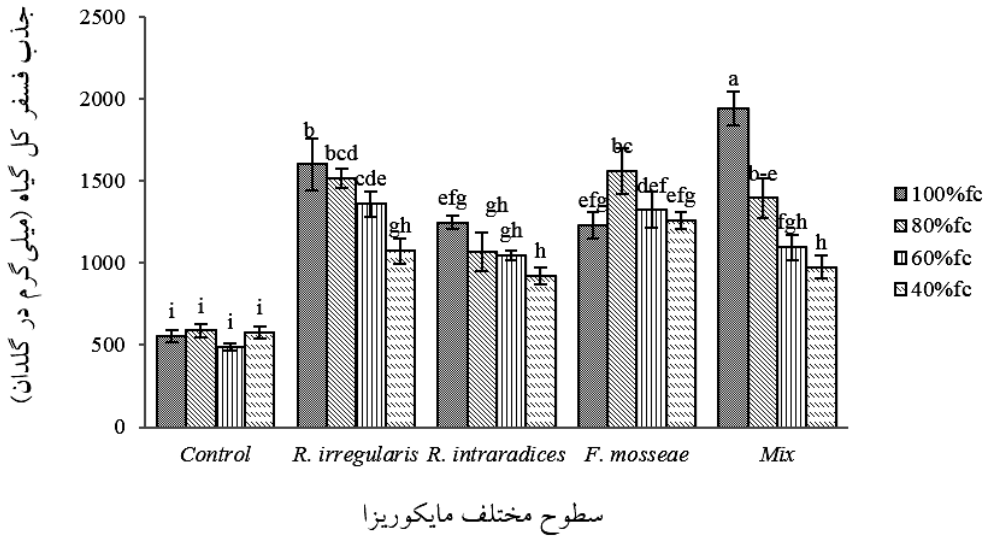
سطح یک درصد معنی‌دار بود، درحالی که اثرات متقابل آنها فاقد چنین تأثیری بود. اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ریشه افزایشی بود به‌طوری که این افزایش در گیاهان مایکوریزایی و شاهد به‌طور قابل توجهی مشاهده شد (شکل ۲). بین سطوح $FC_{۱۰۰}$ و $FC_{۸۰}$ و همچنین $FC_{۶۰}$ و $FC_{۴۰}$ از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما بیشترین مقدار در $FC_{۶۰}$ و $FC_{۴۰}$ به‌دست آمد. کاربرد مایکوریزا صرف نظر خشکی، باعث افزایش فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ریشه گیاه شد، به‌طوری که بیشترین مقدار با تیمار ترکیبی و با ۸۷ درصد افزایش نسبت به شاهد به‌دست آمد (شکل ۲) هرچند که بین سطوح مختلف مایکوریز اختلافی معنی‌دار مشاهده نشد.

اثر خشکی و مایکوریزا و اثر متقابل آنها بر جذب فسفر کل در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) صرف نظر از اثر نوع

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]



شکل ۲. اثر سطوح مختلف خشکی و مایکوریزا بر میزان فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ریشه گیاه آهار. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین ها در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است.



شکل ۳. اثر سطوح مختلف خشکی و مایکوریزا بر میزان جذب فسفر کل گیاه آهار. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است.

مایکوریزا، جذب فسفر تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت اما با کاربرد سه گونه مایکوریزا و تیمار ترکیبی جذب فسفر به‌طور قابل توجهی در گیاهان افزایش یافت.

در پاسخ به تنش خشکی تغییرات زیادی در گیاهان به‌ویژه در سطح سلولی ایجاد می‌شود. از مهم‌ترین تغییرات می‌توان به فعال شدن بسیاری از آنزیم‌ها اشاره کرد که تأثیرات مهمی را به‌دنبال دارند. یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی که در اثر تنش خشکی در گیاه افزایش می‌یابد آنزیم اسید فسفاتاز است که نقش آن دفسفریلاسیون فسفات آلی و تبدیل آن به فسفات معدنی است (۱۶). با افزایش تنش خشکی از میزان رطوبت

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

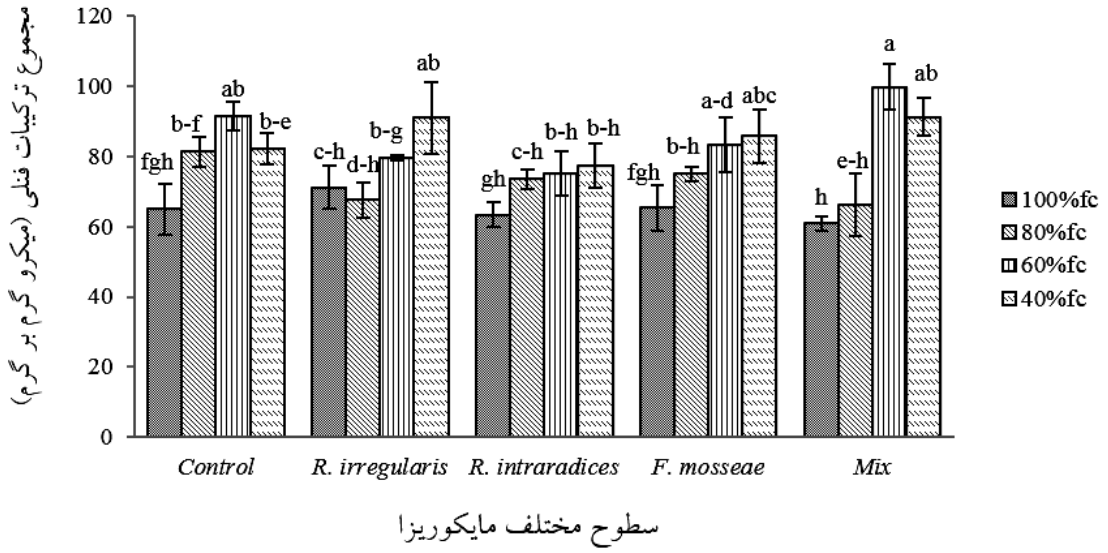
خاک کاسته می‌شود و از آنجایی که عناصر محلول در آب به‌ویژه فسفر از راه انتشار جذب می‌شوند، در تنش خشکی از میزان انتشار آنها کم شده و در نتیجه میزان جذب آنها توسط ریشه گیاهان کاهش می‌یابد (۴۸). گیاهان با افزایش فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز تحت تنش خشکی میزان فسفر معدنی را در حد بهینه برای انجام فعالیت‌های حیاتی نگه می‌دارند (۳۹). فسفر به‌عنوان یک عنصر ساختمانی در ساخت اسیدهای نوکلئیک نقش دارد و این اسیدها ناقل اطلاعات ژنتیکی در گیاه هستند و مهم‌ترین نقش فسفر در انتقال انرژی است. یکی از مهم‌ترین نقش‌های مایکوریزا در ارتباط با همزیستی، جذب فسفر تحت تنش خشکی است که مقاومت گیاهان را در برابر خشکی افزایش می‌دهند. هیف‌های مایکوریزا از طریق تولید و ترشح آنزیم اسید فسفاتاز باعث می‌شود که فسفات غیرمحلول و تثبیت شده در خاک به فرم محلول در آید و برای ریشه قابل جذب شود (۲۳ و ۳۶). در یک آزمایش که روی گیاه کهور (*Prosopis juliflora*) انجام شد نتایج نشان داد که گیاهان مایکوریزایی بیشترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز را در ریشه و برگ دارند (۳۸). ایزاوا و همکاران (۱۷) در آزمایشی که روی گیاه جعفری فرانسوی (*Tagetes erecta*) همزیست شده با قارچ *F. mosseae* انجام دادند، با اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌ها نشان دادند که قارچ‌های مایکوریزا از طریق افزایش بیان ژن TpPAP۱ و ترشح اسید فسفاتاز در ریشه گیاه میزبان امکان جذب بیشتر فسفر را فراهم می‌آورد. نتایج به‌دست آمده نیز در همین راستا قابل ارزیابی است به‌طوری که در این آزمایش همبستگی مثبتی بین فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ریشه و جذب فسفر کل گیاه به‌دست آمد (r=۰/۲۹ ،p <۰/۰۵).

ترکیبات فنلی

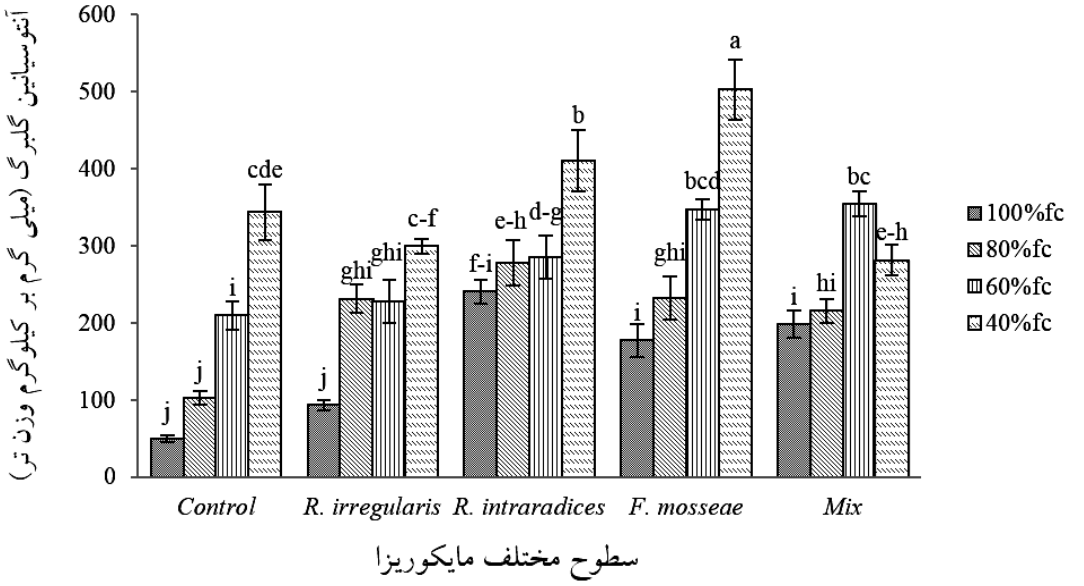
روند تغییرات ترکیبات فنلی (مجموع ترکیبات فنلی برگ، فلاونوئیدهای برگ و آنتوسیانین گلبرگ) تقریباً مشابه و با هم قابل بررسی است (شکل‌های ۴، ۵ و ۶). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که نوع قارچ، تنش خشکی و برهم‌کنش آنها بر فلاونوئیدهای برگ و آنتوسیانین گلبرگ در سطح یک درصد تأثیر معنی‌داری داشتند اما مجموع ترکیبات فنلی برگ از نظر آماری تنها تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۴). همان طوری که نتایج نشان می‌دهند گیاهان در معرض تنش‌های خشکی میزان ترکیبات فنلی را افزایش دادند، به‌طوری که تقریباً این افزایش در تمام تیمارهای مایکوریزایی و شاهد در $FC_{۶۰}$ و $FC_{۴۰}$ به حداکثر رسید. هر چند که بین $FC_{۶۰}$ و $FC_{۴۰}$ اختلافات معنی‌دار نبود اما با $FC_{۱۰۰}$ و $FC_{۸۰}$ اختلاف کاملاً معنی‌دار بود. کاربرد مایکوریزا تأثیر زیادی در افزایش میزان ترکیبات فنلی به‌ویژه آنتوسیانین گلبرگ و فلاونوئیدهای برگ داشت که این افزایش به‌ویژه در سطوح مختلف خشکی مشاهده شد. به‌طور مثال در ارتباط با میزان فلاونوئیدهای برگ، در $FC_{۶۰}$ میزان این ترکیبات ۴۱، ۴۱، ۱۱ و ۷۰ درصد به‌ترتیب در *R. irregularis*، *R. intraradisces*، *F. mosseae* و تیمار ترکیبی نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد.

پژوهش‌ها نشان داده است که ترکیبات فنلی از جمله فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر تنش‌های محیطی ممکن است افزایش و یا کاهش داشته باشند (۴۵). این ترکیبات باعث محافظت گیاهان در برابر عوامل خارجی و تنش‌های محیطی می‌شوند. ترکیبات فنلی می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن آزاد را از بین ببرند (۸) و همچنین با تشکیل کمپلکس‌های پیچیده با فلزات مانع فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده شوند. در آزمایشی که روی گیاه بومادران انجام شد سه گونه از گیاه بومادران (*Achillea millefolium, A. nobilis, A. filipendulina*) در چهار سطح از تنش خشکی ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در سطح تنش ۵۰ و ۲۵ درصد در هر سه گونه مشاهده شد (۱۸). این پژوهشگران علت افزایش در میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاهان تحت تنش‌های بالای خشکی را تجمع کربوهیدرات‌های محلول دانستند که در نتیجه کاهش انتقال قندهای محلول تحت تنش خشکی حاصل می‌شود. همچنین افزایش در ترکیبات فنلی تحت تنش خشکی ممکن است به خاطر افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) باشد. اوه و همکاران (۳۲) گزارش کردند که افزایش

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]



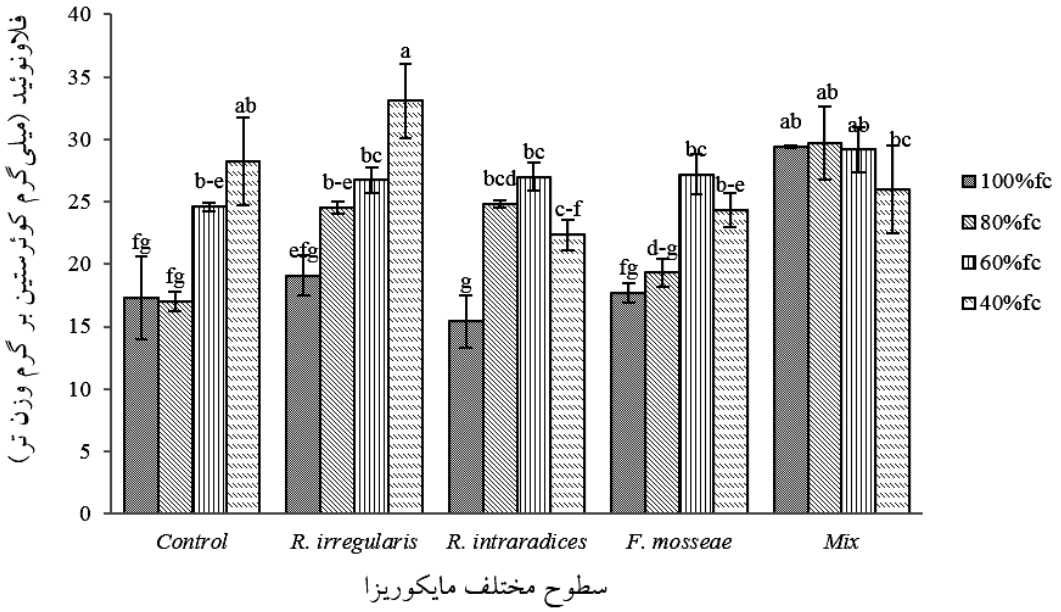
شکل ۴. اثر سطوح مختلف خشکی و مایکوریزا بر مجموع ترکیبات فنلی برگ گیاه آهار. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است.



شکل ۵. اثر سطوح مختلف خشکی و مایکوریزا بر میزان آنتوسیانین گلبرگ گیاه آهار. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است.

میزان فنل و فلاونوئید در کاهو (*Lactuca sativa*) تحت تنش خشکی به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز است. آنتوسیانین‌ها گروه بزرگی از ترکیبات فنلی هستند که مسئول ایجاد رنگ آبی تا قرمز در بسیاری از گل‌های زینتی هستند و تشکیل این رنگیزه در کیفیت گل‌ها و بازاررسانی آنها بسیار مهم است (۱۳). آنتوسیانین‌ها همچنین گروه مهمی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که نقش مهمی در محافظت گیاهان در برابر تنش خشکی دارند. در آزمایشی که روی گیاه بگونیای همیشه گل‌دار (*Begonia semperflorens*) انجام شد میزان آنتوسیانین در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (۴۹).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]



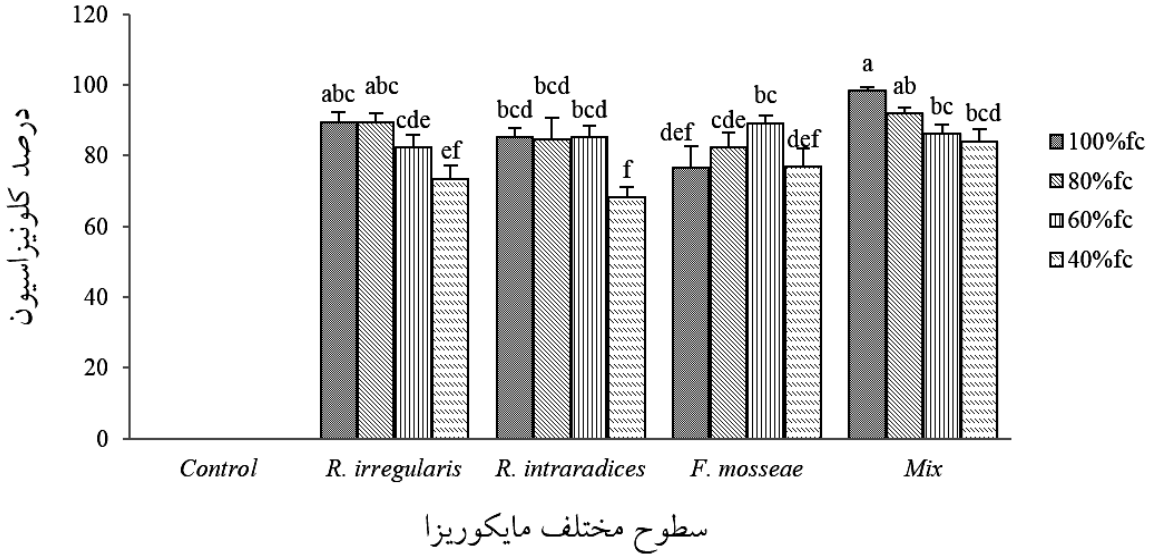
شکل ۶. اثر سطوح مختلف خشکی و مایکوریزا بر میزان فلاونوئید برگ گیاه آهار. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است.

نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که قارچ‌های ریشه‌ای آربسکولار ممکن است بر متابولیسم‌های ثانویه مانند ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها اثرگذار باشند و باعث افزایش آنها شوند (۷). هر چند که هنوز ارتباط واضحی بین مایکوریزا و متابولیت‌های ثانویه مشخص نیست اما فرضیات مختلفی گزارش شده است. به‌هرحال، یکی از فرضیاتی که در این رابطه وجود دارد میزان آسیمیلاسیون بالای نیترژون در گیاهان مایکوریزا است که ممکن است به تولید بالای آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز مرتبط شود (۴۴). همچنین پژوهش‌ها نشان داده است که یکی از مهم‌ترین نقش‌های مایکوریزا جذب عنصر فسفر است. فسفر در انتقال انرژی سلولی نقش دارد و بنابراین در مسیر بیوسنتز متابولیت‌های اولیه و ثانویه دارای اهمیت زیادی است (۳۰). در آزمایشی که روی گیاه آکاسیا (*Acacia gerrardii*) در تنش شوری انجام شد اثر همزیستی گونه‌های مختلف مایکوریزا (*Claroideoglomus etunicatum*، *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus intraradices*) بررسی شد. نتایج حاکی از افزایش میزان ترکیبات فنلی در گیاه آکاسیا بود (۲۲). در آزمایش دیگری که روی گیاه کاهو انجام گرفت میزان تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان مایکوریزایی به‌طور قابل توجهی بیشتر از گیاهان غیرمایکوریزایی بود (۴۴). در آزمایشی که توسط آرایم و همکاران (۲) روی گیاه سرخار (*Echinacea purpurea*) انجام شد میزان ترکیبات فنلی در شاخساره و ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *Glomus intraradices* نسبت به گیاهان کنترل افزایش یافت.

درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که افزایش شدت خشکی صرف نظر از نوع میکوریز به‌کار رفته سبب کاهش کلونیزاسیون ریشه گیاهان شد (شکل ۷). البته بین $FC_{۱۰۰}$، $FC_{۸۰}$ و $FC_{۶۰}$ از لحاظ آماری اختلافی مشاهده نشد. گیاهانی که تحت تیمار ترکیبی بودند بیشترین کلونیزاسیون را نشان دادند هر چند که بین سه ایزوله از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار نبود. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با نتایج دیگر پژوهشگران مطابقت دارد (۲۵). کاهش در کلونیزاسیون مایکوریزا به‌وسیله تنش

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]



شکل ۷. اثر سطوح مختلف خشکی و مایکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه آهار. حروف متفاوت در روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) است.

خشکی این طور بیان شده است که در تنش خشکی ترشحات ریشه به‌دلیل کاهش در میزان فتوسنتز گیاه و بسته شدن روزنه‌ها، کاهش می‌یابد (۲۱).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، گیاه آهار می‌تواند به‌عنوان یک گیاه مقاوم به کم‌آبی سطوح مختلف از FC_{100} تا FC_{60} را با کمترین اثر بر رشد رویشی تحمل کند. اما زمانی که گیاهان در معرض FC_{40} قرار گرفتند، عملکرد به‌طور چشکگیری نسبت به شاهد (FC_{100}) کاهش نشان داد. با توجه به بالا بودن کارایی قارچ‌های مایکوریزا بومی هر منطقه، در این پژوهش استفاده از هر سه مایکوریزا شناسایی شده (*R. irregularis*، *R. intraradisces*، *F. mosseae*) و ترکیب آنها نسبت به شاهد (بدون مایکوریزا) مثبت ارزیابی شد، هر چند که گونه *R. irregularis* و تیمار ترکیبی از عملکرد بهتری برخوردار بودند. نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند که گیاهان مایکوریزایی آهار با دارا بودن فعالیت بیشتر آنزیم اسید فسفاتاز ریشه عنصر فسفر را بیشتر جذب کردند که تأثیر مثبتی بر رشد گیاه داشت و همچنین همزیستی آهار با قارچ‌های ریشه‌ای آربسکولار سبب افزایش ترکیبات فنلی و در پی آن افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی شد.

منابع مورد استفاده

1. Abdelhafez, A. A. and R. A. Abdel-Monsief. 2006. Effects of VA mycorrhizal inoculation on growth, yield and nutrient content of cantaloupe and cucumber under different water regimes. *Journal of Agricultural and Biological Sciences* 6: 503-508.
2. Araim, G., A. Saleem, J. T. Arnason and C. Charest. 2009. Root colonization by an *Arbuscular Mycorrhizal* (AM) fungus increases growth and secondary metabolism of purple coneflower, *Echinacea purpurea* (L.) moench. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 2255–2258.
3. Ascencio, J. 1994. Acid phosphatase as a diagnostic tool. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25: 1553–1564.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

4. Auge, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular myocrrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
5. Auge, R. M. 2004. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. *Canadian Journal of Soil Science* 84: 373-381.
6. Banuelos, J., A. Alarcón, J. Larsen, S. Cruz-Sánchez and D. Trejo1. 2014. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and Meloidogyne balsamina incognita in the ornamental plant impatiens. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14: 63-74 .
7. Baslam, M., I. Garmendia and N. Goicoechea. 2013. Enhanced accumulation of vitamins, nutraceuticals and minerals in lettuces associated with *Arbuscular mycorrhizal* fungi (AMF): A question of interest for both vegetables and humans. *Agriculture* 3: 188-209.
8. Caillet, S., S. Salmieri and M. Lacriox. 2006. Evaluation of free radical-scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. *Food Chemistry* 95:1–8.
9. Chandrasekhar, J., M. Madhusudhan and K. Raghavarao. 2012. Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and Bioproducts Processing* 90: 615-623.
10. Chang, D. C. and L. Chou. 2007. Growth responses, enzyme activities, and component changes as influenced by Rhizoctonia orchid mycorrhiza on Anoectochilus formosanus Hayata. *Botanical Studies* 48: 445–451.
11. Chapman, H. D. and P. F. Pratt. 1982. Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters. Division of Agriculture, University of California, Berkeley, CA, 4034 PP.
12. Chen, S., W. Jin, A. Liu, S. Zhang, D. Liu, F. Wang and C. He. 2013. *Arbuscular mycorrhizal* fungi (AMF) increase growth and secondary metabolism in cucumber subjected to low temperature stress. *Scientia Horticulturae* 160: 222-229.
13. Clifford, M. N. 2000. Anthocyanins–nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1063-1072.
14. De Abreu, I. N. and P. Mazzafera. 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of Hypericum brasiliense Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry* 43: 241–248.
15. Dole, J. M. and H. F. Wilkins. 2005. Floriculture: Principles and Species. Prentice Hall (2nd Edition). USA.
16. Ehsanpour, A. A. and F. Amini. 2003. Effect of salt and drought stress on acid phsphatase activities in alfalfa (Medicago sativa L.) explants under in vitro culture. *African Journal Of Biotechnology* 2: 133-135.
17. Ezawa, T., M. Hayatsu and M. Saito. 2005. A new hypothesis on the strategy for acquisition of phosphorous in arbuscular mycorrhiza: up-regulation of secreted acid phosphatase gene in the host plant. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18: 1046-1053.
18. Gharibi, S., B. E. Tabatabaei, G. Saeidi and S. A. Goli. 2015. Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of achillea species. *Appl Biochem Biotechnol* 178: 796-809.
19. Goicoechea, N., M. C. Antolin, M. Strnad and M. Sanchez-Diaz. 1996. Root cytokinins, acid phosphatase and nodule activity in drought-stressed mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa plants. *Journal of Experimental Botany* 47: 683-686.
20. Goicoechea, N., S. Merino and M. Sánchez-Díaz. 2004. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to the adaptations exhibited by the deciduous shrub Anthyllis cytisoides under water deficit. *Plant Physiology* 122: 453–464.
21. Graham, J. H., L.W. Duncan and D. M. Eissenstat. 1997. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition,mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. *New Phytologist* 135:335–343.
22. Hashem, A., E. F. Abd_Allah, A. A. Alqarawi, A. A. Al-Huqail and M. A. Shah. 2016. Induction of osmoregulation and modulation of salt stress in acacia gerrardii benth. by *Arbuscular mycorrhizal* fungi and *Bacillus subtilis* (BERA 71). *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International* 2016: 1-17.
23. Huixing, S. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its Mechanisms. *Electronic Journal of Biology* 3: 44-48.
24. James, B., D., U. Rodel, E. Lorettu, Reynaldo and H. Tariq. 2008. Effect of vesicular *Arbescular mycorrhiza* (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistavce of Senna Spectabilis. *Pakistan Journal of Botany* 40: 2217-2224.
25. Kaya, C., D. Higgs, H. Kirnak and I. Tas. 2003. Mycorrhizal colonisation improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil* 253: 287–292.
26. Lee, J., S. Lee and J. P. W. Young. 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of *Arbuscular mycorrhizal* fungi. *FEMS Microbiology Ecology* 65:339-349.
27. Liu, T., M. Sheng, C. Wang, H. Chen, Z. Li and M. Tang. 2015. Impact of *Arbuscular mycorrhizal* fungi on the growth, water status, and photosynthesis of hybrid poplar under drought stress and recovery. *Photosynthetica* 53: 250-258.
28. Marschner, P., Z. M. Solaiman and Z. Rengel. 2005. Growth phosphorus uptake and rhizosphere microbial community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168: 343-351.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

29. Narayanan, A. 1992. Nutritional approaches for drought management in agricultur crops. A review. *Plant Physiology and Biochemistry* 19: 59-64.
30. Nell, M., V. Marlies, H. Vierheilig, S. Steinkellner, K. Zitterl-Eglseer, C. Franz and J. Novak. 2009. Effect of phosphorus uptake on growth and secondary metabolites of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89: 1090-1096.
31. Nogués, S., D. J. Allen, J. I. L. Morison and N. R. Baker. 1998. Ultraviolet-B radiation effects on water relations, leaf development and photosynthesis in droughted pea plants. *Plant Physiology* 117: 173–181.
32. Oh, M. M., H. N. Trick and C. B. Rajashekar. 2009. Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. *Journal of Plant Physiology* 166: 180–199.
33. Phillips, J. D. and Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *British Mycological Society* 55: 158-161.
34. Qiangsheng, W., Z. Ying Ning, X. Ren Zue and W. Ming Yuan. 2007. Five glomus species affect water relations of citrus tangerine during drought stress. *Botanical Studies* 48: 147-154.
35. Roosta, H. R. and J. K. Schjoerring. 2007. Effects of ammonium toxicity on nitrogen metabolism and elemental profile of Cucumber plants. *Journal of Plant Nutrition* 30: 1933–1951.
36. Saito, M. 1995. Enzyme activities of the internal hyphae and germinated spores of an *Arbuscular mycorrhizal* fungus, Gigaspora margarita Becker & Hall. New Phytologist 129: 425-31.
37. Selmar, D. and M. Kleinwächter. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products* 42: 558–566.
38. Selvaraj, T. 1998. Studies on mycorrhizal and rhizobial symbioses on tolerance of tannery effluent treated Prosopis juliflora. Ph.D.Thesis, University of Madras, Chennai, India.
39. Sharma, A. D., M. Thakur, M. Rana and K. Singh. 2004. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphates activities in *Sorghum biocolor* L. Moench seeds. *African Journal of Biotechnology* 6: 308-312.
40. Sonald, S. F. and S. K. Laima. 1999. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture* 1-5.
41. Song, H. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its Mechanisms. *Electronic Journal of Biology* 1: 44-48.
42. Synerri, C. L. M., C. Pizano and F. Navariizzo. 1993. Chemical changes and O_2 production in thylakoid membrane under water stress. *Plant Physiology* 87: 211-216.
43. Tadayon, M. R. 2009. Physiological Responses of Plants to Environmental Stresses. Shahrekord University Press, 214 p. (In Farsi).
44. Toussaint, J. P., F. A. Smith and S. E. Smith. 2007. *Arbuscular mycorrhizal* fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. *Mycorrhiza* 17: 291–297.
45. Weidner, S., E. Kordala, W. Brosowska-Arendt, M. Karamac´, A. Kosin´ska, R. Amarowicz. 2009. Phenolic compounds and properties of antioxidants in grapevine roots followed by recovery. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 78: 279–28.
46. Wrolstad, R. E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products. *Station Bulletin* 624 1-17.
47. Xu, W., T. Rosenowd and T.Nguyenh. 2007. Stay green trait in grain sorghum: relationship between visual rating and leaf chlorophyll concentration. *Plant Breeding* 119: 365–367.
48. Yuncai, H. and U. Schmidhalter. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Plant Nutrition*168: 541–549.
49. Zhang, K. M., H. J. Yu, K. Shi, Y.H. Zhou, J.Q. Yu and X.J. Xia. 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in Begonia semperflorens. *Plant Science* 179: 202-208.
50. Zhishen, J., T. Mengcheng and W. Jianming. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]

[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]

Journal of Crop Production and Processing
Vol. 9, No. 4, Winter 2020, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Investigating the Role of Three Species of *Arbuscular Mycorrhizal* Fungi on Growth, Acid Phosphatase Enzyme Activity and Phenolic Compounds in Zinnia Plant under Drought Stress Conditions

V. Bagheri[1], M. H. Shamshiri[2*], H. Alaei[3] and H. Salehi[4]

(Received: October 2-2017; Accepted: February 24-2019)

Abstract

This experiment was conducted to study the effects of three identified isolates of *Arbuscular mycorrhizal* fungi (AMF) on growth, acid phosphatase enzyme activity and phenolic compounds (phenol, flavonoid and anthocyanin) of zinnia plants (*Zinnia elegans* L.var. Magellan Red) under water stress conditions. A factorial (two factors) experiment was planned based on a completely randomized design (CRD) with six replications at the greenhouse of Vali-e Asr University of Rafsanan, Rafsanjan, Iran. The factors included five AMF inoculation (no mycorrhizae as control, *Rhizophagus irregularis*, *Rhizophagus intraradisces*, *Funneliformis mosseae*, mixture of three species) and four irrigation levels (100% FC as control, 80% FC, 60% FC and 40% FC). Seedlings with four true leaves were transplanted into 1.2 L pots and immediately inoculated with each of the above symbionts. The plans were irrigated with distilled water for 50 days to obtain certain amount of infection, then four irrigation regimes were achieved for four weeks. Vegetative growth traits (leaf number, peduncle diameter, petal length, shoot and root dry weight) were reduced significantly with increasing drought stress level. Drought stress reduced chlorophyll index (SPAD) and phenolic compounds concentration. Inoculation with AMF prominently improved growth, acid phosphatase enzyme activity, chlorophyll index and phenolic compounds under drought stress, so that under 40% FC, *R. irregularis*, *R. intraradisces*, *F. mosseae*, and a mixture of them increased acid phosphatase enzyme activity by 58, 52, 61, 53 percent, respectively, compared to the control. In conclusion, it is suggested that AMF inoculation improves drought tolerance of zinnia plants at least in part through the enhanced uptake of slowly diffusing mineral ions such as phosphorus.

Keywords: Drought Stress, Mycorrhiza, Enzyme, Phosphorus

1, 2. Ph.D Student and Associate Professor, Respectively, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
4. Professor, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
*: Corresponding Author, Email: shamshiri88@gmail.com

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.4.9]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.33381]