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

ارزیابی همزیستی سه گونه قارچ میکوریزا بر ویژگی‌های بیوشیمیایی چمن‌های اگروپیرون (*Agropyron elongatum*) و پوآی چند ساله (*Poa pratensis*) تحت تنش خشکی

حامد اشراف[۱]، هدایت زکی‌زاده[۲*]، سیدمحمدرضا احتشامی[۳] و محمدحسن بیگلوئی[۴]

[۱]دانش‌آموخته دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، [۲]استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، [۳]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، [۴]دانشیار گروه مهندسی آب، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۷

چکیده

سابقه و هدف: چمن‌ها مهمترین گیاهان پوششی با قدرت پا خوری بالا هستند که به ندرت می‌توان جایگزینی برای آن‌ها در فضای سبز پیدا کرد. محدودیت منابع آب آبیاری یکی از چالش‌های اصلی در مدیریت چمن‌ها بخصوص در مناطق خشک و نیمه خشک است. یکی از راه‌های کاهش اثرات سوء تنش خشکی، همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه‌ی گیاه است. این پژوهش به‌منظور ارزیابی همزیستی سه گونه قارچ میکوریزا بر ویژگی‌های بیوشیمیایی چمن‌های اگروپیرون و پوآی چندساله تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور ارزیابی اثر همزیستی سه گونه قارچ میکوریزا (*Glomus clarum*، *Glomus fasiculatum*، *Glomus mosseae* و بدون کاربرد قارچ) و تنش خشکی (با سه سطح رطوبتی ۸۰ ، ۵۵ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بر ویژگی‌های بیوشیمیایی چمن‌های پوآی چندساله (*Poa pratensis*) و اگروپیرون (*Agropyron elongatum*)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی طی سال‌های ۹۴- ۱۳۹۳ در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. چمن‌ها ۶۰ روز پس از کاشت تحت تنش خشکی قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه شامل فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، کاتالاز و میزان مالون‌دی‌آلدهید، پرولین و پروتئین کل برگ و درصد کلنی‌سازی ریشه بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیشترین درصد کلنی‌سازی ریشه را چمن اگروپیرون با گونه‌ی گلوموس موسهآ و کمترین درصد را پوآی چندساله با گونه‌ی گلوموس کلاروم داشتند. تنش خشکی درصد کلنی‌سازی گونه‌ی گلوموس موسهآ را با هر دو گونه‌ی چمن کاهش ولی درصد کلنی‌سازی گونه‌های گلوموس کلاروم و گلوموس فسیکولاتوم را با ریشه‌ی چمن اگروپیرون و پوآی چند ساله افزایش داد. قارچ میکوریزا بویژه در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان میزان پرولین و پروتئین را افزایش ولی میزان مالون‌دی‌آلدهید را کاهش داد. بین گونه‌های قارچ و گونه‌های چمن به لحاظ تاثیر بر صفات ذکر شده اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید، به‌طوری‌که در چمن اگروپیرون، گونه گلوموس موسهآ و در چمن پوآی چندساله، گونه گلوموس کلاروم سبب بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردیدند. در بالاترین سطح تنش خشکی چمن‌های همزیست با گلوموس موسهآ بیشترین فعالیت پراکسیداز را داشتند ولی در تنش ملایم، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ چمن‌های

*مسئول مکاتبه: zakizadeh@guilan.ac.ir

همزیست با قارچ گلوموس فسیکولاتوم مشاهده شد. در شرایط تنش ملایم چمن‌های اگروپیرون همزیست با قارچ گلوموس موسهآ بیشترین فعالیت کاتالاز را دارا بودند درحالی‌که در بالاترین سطح تنش بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس فسیکولاتوم مشاهده گردید ولی در چمن پوآی‌چندساله در هر دو شرایط تنش شدید و ملایم بیشترین فعالیت کاتالاز مربوط به چمن‌هایی بود که با قارچ میکوریزا تلقیح نشده بودند. گونه‌ی گلوموس موسهآ سبب گردید که میزان پرولین برگ چمن در بالاترین سطح تنش خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بیش از ۱۳۰ درصد نسبت به شرایط بدون قارچ افزایش ولی میزان مالون‌دی‌آلدهید بیش از ۳۲ درصد کاهش یابد و در تنش متوسط این نسبت به ترتیب ۷۰ درصد افزایش و ۲۵ درصد کاهش بود.

نتیجه‌گیری: تاثیر گونه‌های قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در برگ چمن‌های مورد مطالعه تحت تنش خشکی متفاوت بود ولی در مجموع میکوریزا توانست با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پرولین، سبب کاهش میزان پراکسیداسیون لپید غشاء سلول‌های برگ چمن‌های مورد مطالعه گردد که از این نظر گونه‌ی گلوموس موسهآ موثرتر بود.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پرولین، پروتئین، کاتالاز، مالون‌دی‌آلدهید

مقدمه

به‌دلیل خشکسالی‌های چند دهه‌ی اخیر و همچنین استفاده بی‌رویه از منابع آب، امروزه دسترسی به آب از مهمترین دغدغه‌های جهانی است (۳۶). چمن‌ها مهمترین گیاهان پوششی با قدرت پا خوری بالا هستند که در زمین‌های ورزشی و فضای سبز کاربرد وسیعی دارند و به ندرت می‌توان جایگزینی برای آن‌ها در فضای سبز پیدا کرد (۲۷). محدودیت منابع آب آبیاری یکی از چالش‌های اصلی در مدیریت چمن‌ها بخصوص در مناطق خشک و نیمه خشک است (۳۰). در بین تنش‌ها بیشترین آسیب در گیاهان ناشی از تنش خشکی بوده که با آسیب اکسیداتیو در سطح سلول همراه است (۲). در شرایط تنش خشکی به دلیل بسته شدن روزنه‌ها غلظت دی اکسید کربن در بافت مزوفیل کاهش و به دنبال آن واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و در چنین شرایطی اتم اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل کرده و عامل شکل‌گیری رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل است (۴۲ و ۵۴). فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال سبب بروز صدماتی همچون اکسید شدن لیپیدها، تغییر ساختمان پروتئین‌ها، اکسید شدن گروه‌های سولفیدریل، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، بی‌رنگ شدن و یا از بین رفتن رنگدانه‌ها و همچنین حمله به DNA شده است (۳۳). پراکسیداسیون لپیدها فرآیندی است که در آن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، پیوند دوگانه چربی‌های غیر اشباع را تحت تاثیر قرار داده و عامل شکسته شدن زنجیره، تراوایی غشاء و نشت محتوای سلولی است (۳۲). محصول نهایی و شاخص پراکسیداسیون در فسفو لیپیدها مالون‌دی‌آلدهید است (۴۳). در چمن پوآ در شرایط تنش خشکی میزان نشت الکترولیت و مالون دی‌آلدهید افزایش یافته و ارتباط مثبتی بین این دو شاخص وجود دارد (۲۵). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو دارای ساز و کار دفاعی کارآمدی هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند (۹). این ساز و کار دفاعی شامل سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز است و سیستم غیر آنزیمی شامل آسکوربات، توکوفرول و کاروتنوئیدها است (۹). در گیاهان یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش اکسیداتیو و افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت وجود دارد (۴۲).

قارچ‌های میکوریزا با افزایش سطح جذب ریشه جذب آب توسط گیاه را بهبود بخشیده و تحمل آن‌ها به تنش خشکی را افزایش داده است (۶). قارچ‌های میکوریزا در سال‌های اخیر برای مقابله با کم آبی و خشکی در بسیاری از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۵۱). گندمیان در دوره‌های رشدی و کسب مواد غذایی به میزان زیادی از میکوریزا سود می‌برند و چمن‌های فصل سرد از جمله گونه‌های بنت گرس با میکوریزا بویژه زمانی که مقدار فسفر خاک پایین باشد، ارتباط زیادی برقرار کرده‌اند (۱۶). گونه‌های گلوموس موسهآ و گلوموس اینترارادیسز ارتباط خوبی با چمن لولیوم چندساله (*Lolium perenne*) برقرار کرده و میزان کلروفیل، وزن تر و خشک ریشه را افزایش داده‌اند (۲۶). در شرایط تنش خشکی، کارآیی مصرف آب در چمن اگروپیرون همزیست با قارچ میکوریزا افزایش یافته‌است (۱۲). میکوریزا با چمن زی‌توده بیشتری در سطح زمین ایجاد کرده و همچنین گونه‌ی گلوموس اینترارادیسز مقاومت به خشکی را در چمن اگروستیس افزایش داده است (۳۷). تمایل به همزیستی گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا با چمن‌های اگروستیس و لولیوم چندساله متفاوت است (۱۹). قارچ گلوموس موسهآ اثر سوء تنش خشکی بر ریحان را بیش از قارچ گلوموس اینترارادیسز کاهش داده بود (۴). همزیستی با قارچ میکوریزا میزان پرولین برگ مرزه را کاهش ولی مقاومت به خشکی را در این گیاه افزایش داده بود (۱۴).

با توجه به اهمیت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برابر تنش‌های اکسیداتیو و همچنین اهمیت نقش میکوریزا بر این فعالیت، در این پژوهش، تاثیر همزیستی سه گونه قارچ میکوریزا، در شرایط تنش خشکی بر خصوصیات بیوشیمیایی دو گونه چمن سردسیری در شرایط گلخانه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

عملیات اجرایی این پژوهش در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل سه عاملی بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل اول شامل دو گونه چمن پوآی چندساله (*Poa pratensis*) و اگروپیرون (*Agropyron elongatum*) و عامل دوم شامل سه گونه قارچ میکوریزای گلوموس فسیکولاتوم، گلوموس کلاروم، گلوموس موسهآ و بدون تلقیح و عامل سوم شامل سه سطح تنش خشکی (۸۰، ۵۵ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بود. بستر کشت مورد استفاده، خاک با بافت شنی لومی بود که در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۱/۵ ساعت اتوکلاو گردید و سپس ۵۰ گرم مایه تلقیح قارچ میکوریزا (که حاوی ۲۵۰ تا ۳۵۰ پروپاگول[1] بود)، پیش از پر کردن کامل ظروف کشت (ظروف استوانه‌ای با قطر دهانه ۱۶ و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر) در عمق فعالیت ریشه‌ها ریخته شد و به‌منظور یکنواخت بودن شرایط برای همه‌ی تیمارها در تیمار بدون تلقیح (شاهد) مقدار یکسانی مایه تلقیح اتوکلاو شده استفاده گردید. پس از پر کردن کامل ظروف کشت، بذرهای چمن متناسب با سطح ظرف و گونه چمن توزین و به‌صورت دستی کاشته شدند. روی بذرها به ارتفاع حدود نیم سانتی‌متر با پیت پوشیده و تا سبز شدن بذرها، بر اساس ظرفیت نگهداری رطوبتی خاک، روزانه آبیاری شدند و پس از سبز شدن بذرها، خاک تا ۸۰ درصد ظرفیت زراعی آبیاری شد. چمن‌ها اولین بار پس از رسیدن به ارتفاع ۷ سانتی‌متر سرزنی شدند و پس از آن سرزنی چمن‌ها به‌صورت هفتگی انجام شد. کوددهی یک ماه بعد از تاریخ کاشت شروع و پس از هر بار سرزنی با کود کامل(۲۰-۲۰-۲۰) و به غلظت ۰/۲ درصد همراه با آب آبیاری انجام گردید.

1- Propagule

پس از استقرار کامل چمن که حدود ۶۰ روز طول کشید، چمن‌ها بر اساس تیمارهای تعریف شده به مدت سه ماه تحت تنش خشکی قرار گرفتند. زمان آبیاری با استفاده از تانسیومتر (در تیمارهای ۵۵ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی) و بلوک گچی (در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) تعیین گردید. ضرایب مدیریت آبیاری بر اساس منحنی رطوبتی خاک که قبل از شروع آزمایش با بکارگیری تانسیومتر و بلوک گچی رسم شده بود مشخص گردید. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش که از نظر آبیاری و زراعی اهمیت دارند در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این مطالعه

Table 1. Some physical and chemical properties of the used soil in this study

بافت Texture	جرم مخصوص ظاهری Bulk density (g/cm^3)	ظرفیت زراعی FC(٪)	نقطه پژمردگی دائم PWP(٪)	هدایت الکتریکی EC (ds/m)	اسیدیته pH	کربن آلی Organic carbon (%)	نیتروژن کل Total N (٪)	فسفر P (mg/g)	پتاسیم K (mg/g)
شنی لومی Loam sandy	1.33	24	7.2	0.39	7.3	0.27	0.053	6.4	56

در هر نوبت آبیاری، خاک تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شد. مقدار آبی که در هر نوبت آبیاری به ظروف کشت داده شد بر اساس رابطه یک محاسبه گردید (۳).

رابطه (۱) $V_n= [(Fc – PWP)/100] \times Pb \times V_p \times F$

V_n مقدار آب داده شده به هر ظرف کشت در هر نوبت آبیاری (میلی‌لیتر)، Fc رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد)، PWP نقطه پژمردگی دائم (درصد)، Pb جرم مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی‌متر مکعب)، V_p حجم ظرف کشت (سانتی‌متر مکعب)، F ضریب مدیریت آبیاری که در آبیاری مطلوب ۰/۲ (یعنی وقتی ۲۰ درصد حد ظرفیت زراعی رطوبت خاک به مصرف رسید آبیاری شروع شد یا اینکه رطوبت موجود در خاک در زمان آبیاری ۸۰ درصد حد ظرفیت زراعی بود)، در تنش ملایم ۰/۴۵ (یعنی وقتی ۴۵ درصد حد ظرفیت زراعی رطوبت خاک به مصرف رسید آبیاری شروع شد یا اینکه رطوبت موجود در خاک در زمان آبیاری ۵۵ درصد حد ظرفیت زراعی بود) و در تنش شدید ۰/۷ (یعنی وقتی ۷۰ درصد حد ظرفیت زراعی رطوبت خاک به مصرف رسید آبیاری شروع شد یا اینکه رطوبت موجود در خاک در زمان آبیاری ۳۰ درصد حد ظرفیت زراعی بود) در نظر گرفته شد (۲۲). مقدار آب مصرف شده در تیمارهای رطوبتی ۸۰، ۵۵ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی(با ۳۰، ۱۲ و ۴ مرحله آبیاری) برای هر ظرف کاشت به ترتیب ۱۲۲۴۰، ۹۲۰۰ و ۵۷۲۴ میلی‌لیتر بود. ۵۰ روز پس از اعمال تنش خشکی ویژگی‌های بیوشیمیایی برگ چمن‌های مورد آزمایش به شرح ذیل اندازه‌گیری شد.

ویژگی‌های بیوشیمیایی: جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، کاتالاز و همچنین میزان پروتئین کل، مالون‌دی‌آلدهید و پرولین برگ چمن‌های مورد آزمایش، مقداری برگ تازه‌ی آن‌ها در یک هاون چینی با حضور نیتروژن مایع ساییده شد و سپس استخراج با بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار انجام گردید. پس از ۱۵ دقیقه سانتریفوژ (Eppendorf centrifuge 5417 R) در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه عصاره رویی برداشته شد (۳۰).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: جهت سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، ۵۰ میکرولیتر عصاره را به ۲۹۰۰ میکرولیتر بافر سنجش اضافه کرده و در نهایت ۵۰ میکرولیتر آب اکسژنه ۱۰ میلی‌مولار نیز به آن افزوده تا اینکه محلول واکنش کامل شده و سپس کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر که نتیجه اکسید شدن آسکوربات است توسط اسپکتروفتومتر (PG Instruments ltd T80+ UV/VIS) برای مدت زمان ۱ دقیقه اندازه‌گیری شد و در نهایت جهت تعیین فعالیت آنزیمی تغییرات جذب بر زمان (OD/min) به ضریب خاموشی $mM^{-1}cm^{-1}$ ۲/۸[1]، تقسیم گردید (۳۵).

جهت سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز، ۱۴۸۵ میکرولیتر بافر آب اکسیژنه ۲۲۵ میلی‌مولار را با ۱۴۸۵ میکرولیتر بافر گایاکول ۴۵ میلی‌مولار در کووت سه میلی‌لیتری مخلوط کرده و پس از اضافه کردن ۳۰ میکرولیتر عصاره، منحنی جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت یک دقیقه قرائت شد. در نهایت جهت تعیین فعالیت آنزیمی تغییرات جذب بر زمان (OD/min) به ضریب خاموشی $mM^{-1}cm^{-1}$ ۲۶/۶، تقسیم گردید (۱۱).

جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ۳۵ میکرولیتر عصاره را به ۲۹۶۵ میکرولیتر بافر سنجش اضافه کرده منحنی جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت یک دقیقه قرائت شد. در نهایت جهت تعیین فعالیت آنزیمی تغییرات جذب بر زمان (OD/min) به ضریب خاموشی $mM^{-1}cm^{-1}$ ۳۹/۴[1]، تقسیم گردید (۱).

غلظت مالون‌دی‌آلدهید: برای سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدهید، به ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ی برگ، ۵۰۰ میکرولیتر اسید تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک ، اضافه گردید. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سلسیوس در حمام آب گرم قرار گرفت و سپس لوله‌های آزمایش در یخ سرد و بلافاصله به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفوژ شد. درنهایت جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. جذب رنگیزه‌های غیراختصاصی در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌آلدهید از ضریب خاموشی معادل $mM^{-1}cm^{-1}$ ۱۵۵ استفاده شد (۲۱).

غلظت پروتئین کل: برای سنجش غلظت پروتئین کل در بافت نمونه‌ها، از سرم آلبومین گاوی جهت رسم نمودار استاندارد استفاده گردید. برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین، ۲۵ میکرولیتر عصاره برگ به ۲۹۷۵ میکرولیتر معرف برادفورد اضافه شده و سپس محلول‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری شده و سپس جذب آن در ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در پایان، غلظت پروتئین بر اساس منحنی استاندرد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر تعیین شد. (۱۰).

میزان پرولین برگ: به میکروتیوب‌های حاوی ۰/۱ گرم برگ پودر شده ۱/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد اضافه و ورتکس گردید. بعد از نیم ساعت به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از اتمام سانتریفوژ، یک میلی‌لیتر از عصاره رویی را به یک لوله آزمایش منتقل و سپس ۱ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک غلیظ نیز اضافه گردید. محتوای لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب جوش قرار گرفتند و پس از آن واکنش در حمام یخ به اتمام رسید. پس از سرد شدن به هر لوله آزمایش ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و شدیداً به هم زده شدند. در نهایت در هر لوله آزمایش ۲ فاز تشکیل شد که از فاز فوقانی جهت اندازه‌گیری پرولین استفاده شد. میزان جذب نور در

طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از محلول پرولین خالص با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد (۷).

درصد کلنی‌سازی میکوریزایی ریشه‌ها: جهت تعیین درصد کلنی‌سازی، ریشه‌های نمونه‌برداری شده با آب به خوبی شسته و سپس در محلول ۵۰ درصد الکل اتیلیک نگهداری شدند. پس از خارج کردن ریشه‌ها از محلول، سه بار با آب معمولی شسته و سپس به آن‌ها هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد اضافه و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ اتمسفر، اتوکلاو گردیدند. پس از اتوکلاو، ریشه‌ها را سه مرتبه با آب معمولی شسته و به‌مدت سه دقیقه در داخل کلریدریک اسید یک درصد قرار گرفتند. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از اسید، در محلول تریپان بلو (به نسبت ۱:۱:۱ لاکتیک اسید، گلیسرول، آب مقطر و ۰/۰۵ درصد وزنی- حجمی تریپان بلو) به‌مدت ۴۸ ساعت و در دمای اتاق به‌منظور رنگ‌پذیری ساختمان‌های قارچی میکوریزا (آرباسکول، وزیکول و هیف) نگهداری شدند (۳۸). سپس ریشه‌ها از محلول تریپان بلو خارج شده و شش قطعه چهار سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ آمیزی شده به صورت تصادفی انتخاب و روی دو عدد لام قرار گرفتند و پس از اضافه کردن گلیسرول ۵۰ درصد و قرار دادن لامل روی آن‌ها، در زیرمیکروسکوپ مجهز به عدسی چشمی مدرج و با بزرگ نمایی ۲۰۰ برابر ارزیابی شدند. میزان کلنی‌سازی ریشه با برآورد طولی از ریشه که به ساختمان‌های قارچی وزیکول و آرباسکول آلوده باشند بصورت درصد محاسبه گردید (۳۱). تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS 9 و MSTAT-C و رسم نمودار با استفاده از Excel و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز: نتایج نشان داد که قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ گونه‌های چمن، اثر متقابل معنی‌دار دارند (جدول ۳). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ چمن‌های مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌دار داشت. به‌طوری‌که فعالیت این آنزیم در بالاترین سطح تنش ۱/۵ برابر تنش ملایم و ۲/۶ برابر شرایط بدون تنش بود. قارچ میکوریزا بویژه در شرایط تنش شدید خشکی فعالیت آسکوربات پراکسیداز را در برگ چمن‌های مورد آزمایش افزایش داد. در چمن اگروپیرون، قارچ گلوموس موسهآ و در چمن پوآی چندساله، قارچ گلوموس کلاروم سبب بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردید. در مجموع در هر دو گونه‌ی چمن اختلاف بین دو قارچ گلوموس کلاروم و گلوموس موسهآ به‌خصوص در شرایط تنش خشکی بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود. ولی بدون لحاظ اثرات متقابل، قارچ گلوموس کلاروم بیشترین تاثیر را بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز داشت. میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در چمن پوآی چندساله بیشتر از چمن اگروپیرون بود ولی این اختلاف معنی‌دار نبود (شکل ۱). آسکوربات‌پراکسیداز از ترکیبات کلیدی سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان عالی هستند. حساسیت زیاد آسکوربات‌پراکسیداز به غلظت پراکسید هیدروژن و توانایی افزایش فعالیت آن در پاسخ به تنش‌ها از دلایلی است که نشان می‌دهد، این آنزیم نه فقط آنتی‌اکسیدانی کلیدی است بلکه کنترل کننده‌ی میزان پراکسیدهیدروژن برای فرآیند پیام‌رسانی است (۳۴).

جدول ۲: اثر متقابل گونه‌های چمن، گونه‌های قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم کاتالاز.

Table 2. Interaction of grass species, mycorrhizae fungi species and drought stress on Catalase activity.

جنس چمن Turfgrass species	گونه‌ی قارچ میکوریزا Mycorrhizae species	تنش خشکی Drought stress	فعالیت کاتالاز (واحد آنزیم بر گرم وزن تر) Catalase activity (U g^{-1} FW)
اگروپیرون (*A. elongatum*)	گلوموس کلاروم (*G. clarum*)	30 % FC	1.230 ± 0.156 c-g
		55 % FC	1.383 ± 0.195 bcd
		80 % FC	1.070 ± 0.082 dhi
	گلوموس فسیکولاتوم (*G. fasiculatum*)	30 % FC	1.350 ± 0.155 bde
		55 % FC	1.530 ± 0.167 abc
		80 % FC	0.893 ± 0.104 dhi
	گلوموس موسهآ (*G. mosseae*)	30 % FC	1.210 ± 0.191 dhi
		55 % FC	1.640 ± 0.139 ab
		80 % FC	1.037 ± 0.187 dhi
	بدون کاربرد قارچ (Non fungi)	30 % FC	1.033 ± 0.175 ehi
		55 % FC	1.130 ± 0.171 dfh
		80 % FC	1.047 ± 0.185 dhi
پوآی چندساله (*P. pratensis*)	گلوموس کلاروم (*G. clarum*)	30 % FC	0.780 ± 0.056 i
		55 % FC	1.243 ± 0.040 c-g
		80 % FC	1.107 ± 0.092 dfh
	گلوموس فسیکولاتوم (*G. fasiculatum*)	30 % FC	0.993 ± 0.121 fhi
		55 % FC	1.293 ± 0.045 cdf
		80 % FC	1.147 ± 0.047 dfh
	گلوموس موسهآ (*G. mosseae*)	30 % FC	1.047 ± 0.114 dhi
		55 % FC	1.300 ± 0.122cdf
		80 % FC	0.953 ± 0.106 ghi
	بدون کاربرد قارچ (Non fungi)	30 % FC	1.103 ± 0.186 dhi
		55 % FC	1.747 ± 0.050 a
		80 % FC	1.100 ± 0.106 dhi

بر مبنای آزمون دانکن، میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار نداشتند.

Means followed by the same letters are not significantly different according to the Duncan test at P = 0.05.

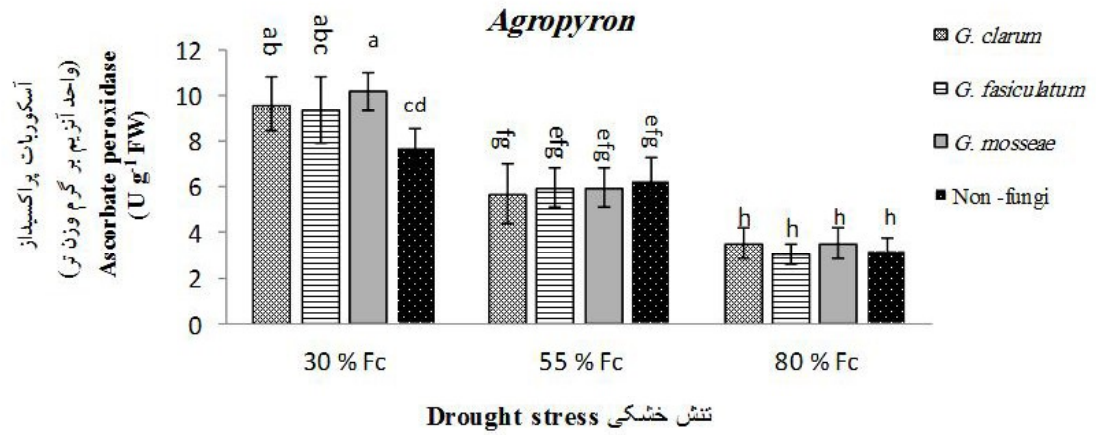
جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر صفات بیوشیمیایی برگ دو گونه چمن سردسیری.

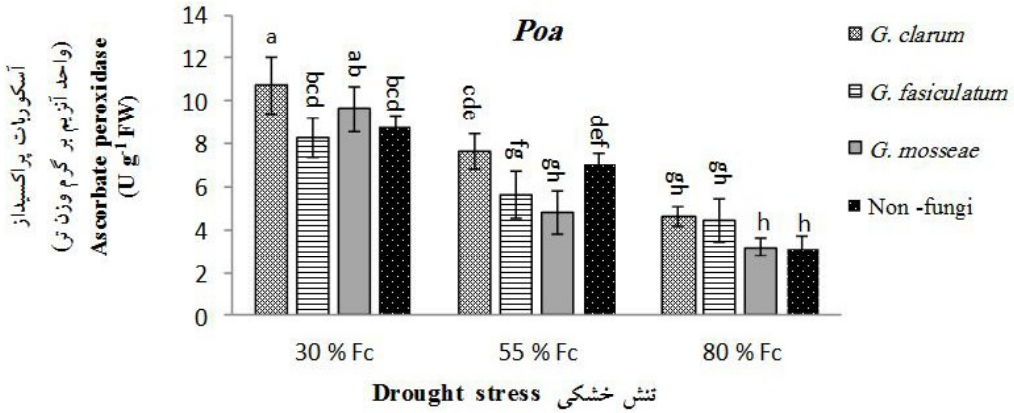
Table 3. Analysis of variance of mycorrhizae symbiosis and drought stress levels on biochemical traits in two cool season turfgrass leaf

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares						
		آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase	پروتئین Protein	مالون دی آلدهید Malondialdehyde	پرولین Proline	درصد کلنی سازی ریشه Root colonization percent
بلوک Block	2	0.826	2.975	0.15	1.12	17.37	18.02	1.22
چمن Turfgrass (T)	1	2.067 ^{ns}	20.06 **	0.068 ^{ns}	7.27 **	16.59 ^{ns}	1.04 ^{ns}	228.73**
میکوریزا Mycorrhizae (M)	3	3.313 *	1.911 *	0.017 ^{ns}	0.946 **	75.6 **	18.61 *	4027.94**
تنش خشکی Drought stress (D)	2	195.5 **	97.65 **	0.937 **	4.78 **	1115.76 **	683.8 **	103.49**
چمن × میکوریزا T × M	3	3.489 *	0.148 ^{ns}	0.196 **	0.028 ^{ns}	2.26 ^{ns}	2.32 ^{ns}	68.67**
میکوریزا × تنش خشکی M × D	6	2.601 *	2.669 **	0.027 ^{ns}	0.204 ^{ns}	18.85 **	14.31 *	71.47**
چمن × تنش خشکی T × D	2	0.217 ^{ns}	2.784 **	0.132 *	0.223 ^{ns}	0.77 ^{ns}	6.74 ^{ns}	1.43 ^{ns}
اثرات متقابل سه گانه T × M × D	6	1.149 ^{ns}	0.828 ^{ns}	0.099 **	0.038 ^{ns}	0.54 ^{ns}	0.76 ^{ns}	1.55 ^{ns}
اشتباه آزمایش Error	46	0.924	0.473	0.028	0.117	5.25	5.1	3.83
ضریب تغییرات CV (%)		15.19	14.4	14.2	8.7	14.04	14.58	12.95

**، * و ns به ترتیب مبین معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱، ۰/۰۵ و غیر معنی‌دار است.

**, *, ns showed significant at 1 %, 5 % probability levels and non-significant respectively.





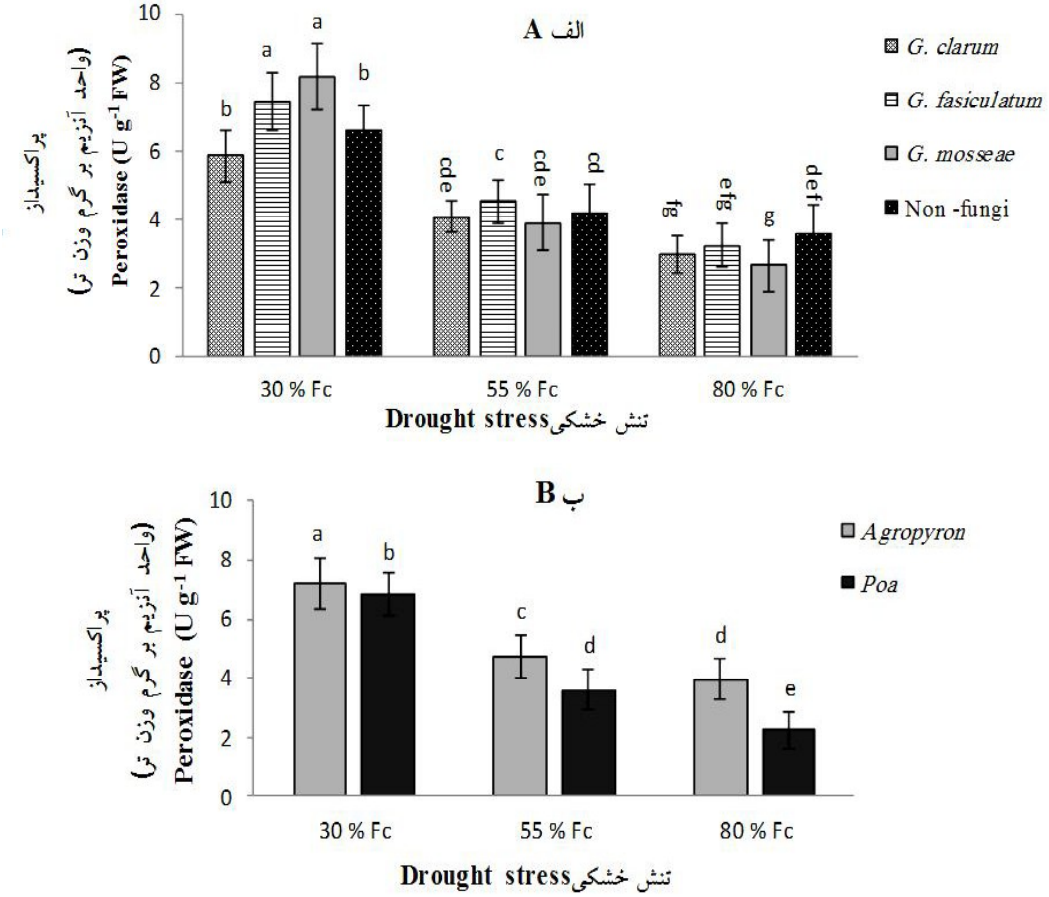
شکل۱: اثر متقابل گونه‌های چمن، گونه‌های قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند. میله خطا نشان‌دهنده خطاء استاندارد است.

Figure 1. Interaction effect of grass species, mycorrhizal fungi species and drought stress on Ascorbate peroxidase activity. Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test. Vertical bars represent standard errors.

در منابع علمی، به رابطه‌ی تنگاتنگ بین فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش مقاومت به تنش خشکی اشاره شده است (۵۵). به‌طوری‌که در برگ چمن پوآی‌چندساله فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش خشکی ۷۰ درصد افزایش یافته‌است (۱۲). همچنین تنش خشکی تا فشار ۴۰ سانتی‌بار فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز را در برگ چمن‌های فستوکای‌پابلند و اگروستیس‌خزنده افزایش داده است (۵). بر اساس نتایج این تحقیق، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ چمن‌های مورد مطالعه با افزایش شدت تنش خشکی افزایش یافت. نتیجه افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز حذف آب اکسیژنه‌ی سیتوسولی و کلروپلاستی و افزایش مقاومت گیاه به تنش اکسیداتیو است (۳۴). فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ریشه‌ی گندم و ذرت میکوریزایی بیشتر از گندم غیره همزیست با میکوریزا است (۲۹ و ۵۷). بر اساس نتایج این تحقیق نیز قارچ میکوریزا فعالیت این آنزیم را در برگ چمن‌های مورد مطالعه به ویژه در شرایط تنش شدید خشکی افزایش داد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: نتایج نشان داد که اثرات متقابل گونه‌های چمن با سطوح مختلف تنش خشکی و همچنین گونه‌های قارچ میکوریزا با سطوح مختلف تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ چمن‌های مورد آزمایش معنی‌دار بود (جدول ۳). فعالیت پراکسیداز در برگ چمن اگروپیرون ۲۵ درصد بیشتر از چمن پوآی معمولی بود. تنش خشکی سبب افزایش فعالیت این آنزیم در برگ چمن‌های مورد آزمایش گردید به‌طوری‌که در بالاترین سطح تنش فعالیت آن ۱۲۵ درصد بیش از شرایط بدون تنش و ۶۷ درصد بیش از تنش ملایم بود (شکل ۲ب). پاسخ قارچ میکوریزا به سطح تنش خشکی بستگی داشت. در بالاترین سطح تنش چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس موسهآ بیشترین فعالیت پراکسیداز را دارا بودند در حالی که در تنش ملایم بیشترین فعالیت آنزیم در برگ چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس فسیکولاتوم مشاهده گردید و در شرایط بدون تنش بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به چمن‌هایی بود که با قارچ میکوریزا تلقیح نشده بودند. پراکسیداز در برگ اگروپیرون‌های همزیست با قارچ گلوموس موسهآ در بالاترین سطح تنش بیشترین فعالیت را داشت و

کمترین فعالیت مربوط به پوآی چند ساله همزیست با قارچ گلوموس کلاروم در شرایط بدون تنش بود (شکل ۲ الف). در شرایط بدون تنش فعالیت این آنزیم در اگروپیرون ۷۴ درصد بیش از پوآی چندساله بود درحالی‌که در بالاترین سطح تنش فقط ۵ درصد فعالیت آن در اگروپیرون بیشتر بود. به عبارتی شیب افزایش فعالیت پراکسیداز در شرایط تنش خشکی در چمن پوآی چندساله بیشتر از چمن اگروپیرون بوده است (شکل ۲ب). آنزیم پراکسیداز بخشی از ساز و کار دفاعی سلول‌های گیاهی است که قادر است پراکسید هیدروژن را با استفاده از ترکیبات فنلی مانند گایاکول (به‌عنوان دهنده الکترون) کاتالیز کند (۴۵). با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو گونه‌ی چمن فستوکای پابلند و اگروستیس خزنده افزایش یافته است (۵). فعالیت آنزیم پراکسیداز در گندم مقاوم به خشکی بیشتر از ارقام حساس به خشکی بوده است (۲۸). میکوریزا فعالیت آنزیم پراکسیداز را در برگ ذرت‌های همزیست با آن در شرایط تنش خشکی افزایش داده بود (۵۷).



شکل ۲: اثر متقابل گونه‌های قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (الف). اثر متقابل تنش خشکی و گونه‌های چمن بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (ب). ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند. میله عمودی نشان‌دهنده خطاء استاندارد است.

Figure 2. Interaction between mycorrhizae fungi species and drought stress on Peroxidase activity (A). Interaction between grass species and drought stress on Peroxidase activity (B). Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test. Vertical bars represent standard errors.

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت پراکسیداز در برگ چمن با افزایش شدت تنش خشکی افزایش می‌یابد ولی شیب این افزایش در چمن‌های مختلف متفاوت است و همچنین قارچ میکوریزا فعالیت این آنزیم را به‌ویژه در شرایط تنش خشکی افزایش می‌دهد ولی تاثیر گونه‌های آن یکسان نیست.

کاتالاز: نتایج نشان داد که اثر متقابل قارچ میکوریزا، تنش خشکی و گونه‌های چمن بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار است (جدول ۳). فعالیت آنزیم کاتالاز برگ چمن‌های مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌دار داشت. به‌طوری‌که فعالیت این آنزیم در تنش ملایم نسبت به تنش شدید ۲۹ درصد و نسبت به شرایط بدون تنش ۳۵ درصد، بیشتر بود. به عبارتی با کاهش رطوبت خاک تا ۵۵ درصد ظرفیت زراعی فعالیت کاتالاز افزایش و پس از آن با کاهش رطوبت خاک فعالیت کاتالاز نیز کاهش یافت. واکنش گونه‌های چمن به قارچ میکوریزا در خصوص فعالیت کاتالاز و در سطوح مختلف تنش خشکی متفاوت بود. در چمن اگروپیرون، در شرایط تنش ملایم چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس موسهآ بیشترین فعالیت کاتالاز را دارا بودند درحالی‌که در بالاترین سطح تنش بیشترین فعالیت آنزیم در برگ چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس فسیکولاتوم مشاهده گردید ولی در چمن پوآی‌چندساله در هر دو شرایط تنش شدید و ملایم بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به چمن‌هایی بود که با قارچ میکوریزا تلقیح نشده بودند. در چمن پوآی‌چندساله، چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس کلاروم در بالاترین سطح تنش کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز را داشتند. درحالی‌که در چمن اگروپیرون، کمترین فعالیت کاتالاز را چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس فسیکولاتوم و در شرایط بدون تنش خشکی مشاهده‌گردید (جدول ۲).

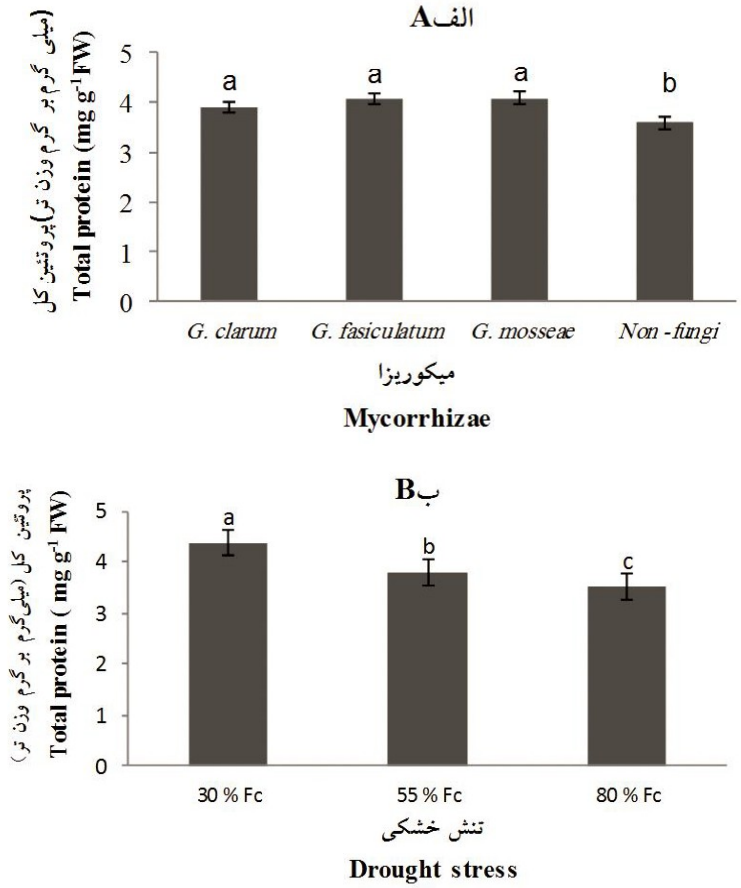
کاتالاز آنزیمی منحصر به فرد با ضریب تبدیل بالا است که جهت تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن، نیازی به ترکیبات کاهنده‌ی سلولی ندارد و به‌طوری‌که می‌تواند در هر دقیقه ۶ میلیون مولکول پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کند (۴۵).

آنزیم کاتالاز نقش مهمی در جاروبگری پراکسید هیدروژن تولید شده به‌وسیله‌ی فرآیندهایی مانند بتا-اکسیداسیون اسیدهای چرب دارد (۱۵). در مطالعه‌ای فعالیت آنزیم کاتالاز در اگروپیرون (*Agropyron desertorum*) بیشتر از علف‌پشمکی (*Bromus inermis*) و پوآی چندساله بوده است ولی روند تغییر فعالیت آن در هر سه گونه چمن الگوی مشابهی داشته است به‌طوری‌که فعالیت کاتالاز جهت حذف پراکسید هیدروژن در مراحل اولیه تنش خشکی افزایش ولی با طولانی شدن تنش کاهش یافته است (۵۲). احتمال دارد که ترکیبات بازدارنده فعالیت کاتالاز مانند اسید سالیسیلیک سبب کاهش فعالیت این آنزیم در تنش شدید خشکی شده باشند زیرا مشاهده شده که کاهش فعالیت کاتالاز در گیاهان زیادی که تحت تنش اکسیداتیو بوده‌اند به افزایش میزان سالیسیلیک اسید مرتبط بوده است (۴۸). فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ ذرت‌های همزیست با میکوریزا در شرایط تنش خشکی بیشتر از ذرت‌های غیره همزیست بوده است (۵۷). فعالیت کاتالاز در شاخساره‌ی گیاه سویا که همزیست با میکوریزا بودند بیشتر از گیاهان غیره همزیست بوده است (۳۹). آب اکسیژنه‌ی تولید شده در قسمت‌های مختلف سلول به وسیله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز حذف شده‌اند (۵۵).

غلظت پروتئین کل: اثرات متقابل قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر میزان پروتئین برگ معنی‌دار نبود (جدول ۳). تنش خشکی سبب افزایش میزان پروتئین برگ گردید. به‌طوری‌که پروتئین برگ چمن‌های مورد آزمایش در بالاترین سطح تنش ۱۵ درصد بیشتر از

تنش ملایم و ۲۵ درصد بیشتر از شرایط بدون تنش بود. (شکل ۳ب).

قارچ میکوریزا میزان پروتئین برگ چمن‌های مورد آزمایش را بیش از ۱۲ درصد افزایش داد و از این نظر بین گونه‌های مختلف آن اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ولی میزان پروتئین برگ چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس موسهآ بیش از سایر گونه‌های قارچ بود. به‌طوری‌که بیشترین میزان پروتئین به میزان ۴/۹۸ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ مربوط به اگروپیرون‌های همزیست با قارچ گلوموس موسهآ در بالاترین سطح تنش بود که ۶۰ درصد بیشتر از میزان پروتئین چمن پوآی چندساله‌ی همزیست با قارچ گلوموس کلاروم در شرایط بدون تنش خشکی (با کمترین پروتئین به میزان ۳/۱۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) بود (شکل ۳A).



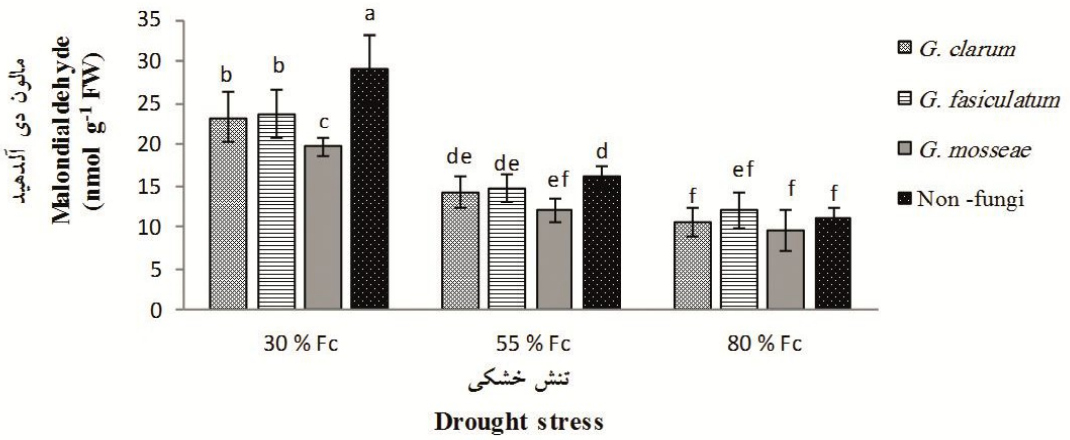
شکل ۳: اثر گونه‌های قارچ میکوریزا بر میزان پروتئین کل محلول در برگ چمن‌های مورد مطالعه (الف). اثر تنش خشکی بر میزان پروتئین کل محلول در برگ چمن‌های مورد مطالعه (ب).ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی دار نداشتند. میله خطا نشان دهنده‌ی خطاء استاندارد است.

Figure 3. The effect of mycorrhizae fungi species on total soluble protein in leaves of studied grasses (A).The effect of drought stress on total soluble protein in leaves of studied grasses (B). Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test. Vertical bars represent standard errors.

تغییرات میزان پروتئین کل محلول در گیاه به گونه، بافت مورد مطالعه و شدت تنش خشکی بستگی دارد. بنابراین بر همین اساس برخی محققین کاهش و برخی دیگر افزایش میزان آن را در شرایط

تنش خشکی گزارش کرده‌اند. میزان پروتئین کل محلول در ذرت‌های مقاوم به خشکی که تحت پتانسیل اسمزی ۱ تا ۱۰ اتمسفر پرورش یافته بودند ۱۹۰ درصد بیش از شاهد افزایش یافته بود (۴۶). میزان پروتئین برگ گیاه *Sporobolus elongatus* در شریط تنش خشکی تا محتوای نسبی آب ۳۸ درصد سیر صعودی داشت و پس از آن کاهش یافته بود (۱۷). به احتمال زیاد در شرایط تنش خشکی گیاهانی که مقاومت بیشتری به کم آبی دارند، برای مقابله و تحمل شرایط تنش، فعالیت‌ها و واکنش‌های متابولیسمی خود را بالا می‌برند که در این مسیر پروتئین‌ها و آنزیم‌های متنوع آنابولیسمی و کاتابولیسمی ممکن است فعال شوند که نتیجه آن افزایش پروتئین‌های محلول در سلول گیاهی است. قارچ میکوریزا مقدار پروتئین کل اندام‌هوایی گیاه پروانش را افزایش داده بود و از این نظر بین گونه‌های این قارچ نیز اختلاف معنی‌دار ملاحظه شده بود (۴۰). نشان داده شده که تلقیح میکوریزایی غلظت اسیدهای آمینه و مقدار پروتئین کل را در گیاهان همزیست با آن‌ها افزایش می‌دهند (۴۴).

غلظت مالوندی‌آلدهید: اثرات متقابل قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر میزان مالوندی‌آلدهید برگ معنی‌دار بود (جدول ۳). میزان مالوندی‌آلدهید برگ چمن‌های مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌دار نشان داد. به‌طوری‌که در بالاترین سطح تنش(۳۰ درصد ظرفیت زراعی) میزان مالوندی‌آلدهید برگ چمن‌های مورد آزمایش ۱/۷ شرایط تنش ملایم (۵۵ درصد ظرفیت زراعی) و ۲/۲ برابر شرایط بدون تنش بود. میزان مالوندی‌آلدهید چمن اگروپیرون بیش از چمن پوآی‌چندساله بود ولی این اختلاف معنی‌دار نبود. قارچ میکوریزا سبب کاهش میزان مالون دی‌آلدهید برگ چمن‌های مورد آزمایش به‌ویژه در شرایط تنش شدید خشکی گردید. بین گونه‌های مختلف قارچ، گونه‌ی گلوموس موسهآ سبب گردید که میزان مالوندی‌آلدهید برگ در بالاترین سطح تنش خشکی بیش از ۳۲ درصد و در تنش متوسط بیش از ۲۵ درصد نسبت به شرایط بدون قارچ کاهش یابد و از این نظر نسبت به دیگر گونه‌های قارچ موثرتر بود (شکل ۴).

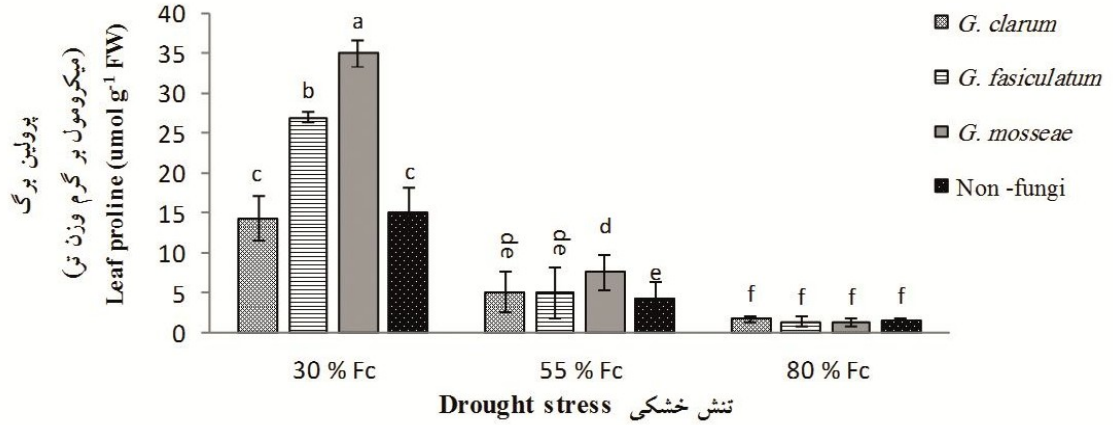


شکل ٤: اثر متقابل گونه‌های قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر میزان مالوندی‌آلدهید برگ چمن‌های مورد مطالعه. ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند. میله عمودی نشان دهنده خطاء استاندارد است.

Figure 4. Interaction between mycorrhizae fungi species and drought stress on Malondialdehyde content in leaves of studied grasses. Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test. Vertical bars represent standard errors.

پراکسیداسیون لیپید و تولید محصولی مانند مالون‌دی‌آلدهید نتیجه حمله رادیکال‌های فعال اکسیژن به اسیدهای چرب غیراشباع بوده که شاخصی زیستی برای سنجش میزان تاثیر تنش اکسیداتیو در گیاهان است (۴۷). میزان مالون دی‌آلدهید برگ چمن پوآی چندساله با افزایش سطح تنش خشکی افزایش یافته و در بالاترین سطح تنش میزان آن ۴/۲۳ برابر شرایط بدون تنش بوده است (۵۳). در یک گونه لوبیای مقاوم به خشکی (*Phaseolus acutifolius*) در مقایسه با گونه حساس به خشکی (*Phaseolus vulgaris*) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بالاتر و میزان پراکسیداسیون لیپید پایینتر بوده است (۵۴). میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گیاهان زوفا (*Hyssopus officinalis*) با افزایش تنش آبی در کلیه‌ی تیمارهای بدون میکوریزا نسبت به زوفای همزیست با میکوریزا افزایش بیشتری نشان داده است. به‌طوری‌که در سطح تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گیاهان زوفای همزیست با قارچ‌های گلوموس فسیکولاتوم، گلوموس موسهآ و بدون قارچ به‌ترتیب ۱۱۴/۱، ۱۰۶/۳ و ۱۲۶/۹ نانومول بر گرم وزن تازه برگ بوده است (۵۰). میزان مالون‌دی‌آلدهید موجود در برگ ذرت‌های همزیست با میکوریزا در شرایط تنش خشکی ۱۷/۵ درصد کمتر از ذرت‌های غیره همزیست بوده است (۵۷). نتایج بیانگر این مطلب است که در گیاهان همزیست با میکوریزا تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن کمتر است.

پرولین برگ: میزان پرولین برگ چمن‌های مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی و کاربرد میکوریزا افزایش معنی‌دار نشان داد. به‌طوری‌که در بالاترین سطح تنش (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) میزان پرولین برگ چمن‌های مورد آزمایش چهار برابر شرایط تنش ملایم (۵۵ درصد ظرفیت زراعی) و ۱۷ برابر شرایط بدون تنش بود. میزان پرولین برگ چمن پوآی چندساله بیش از چمن اگروپیرون بود ولی این اختلاف معنی‌دار نبود. قارچ میکوریزا سبب افزایش میزان پرولین برگ چمن‌های مورد آزمایش به ویژه در شرایط تنش شدید خشکی گردید. بین گونه‌های مختلف قارچ، گونه‌ی گلوموس موسهآ سبب گردید که میزان پرولین برگ در بالاترین سطح تنش خشکی بیش از ۱۳۰ درصد و در تنش متوسط بیش از ۷۰ درصد نسبت به شرایط بدون قارچ افزایش یابد (شکل ۵). پرولین به عنوان ماده اسمولیتیک سلولی عمل کرده و باعث ثبات و پایداری غشاءها و ماکروملکول‌ها (به ویژه آنزیم‌ها) شده و همچنین به علت خواص آنتی‌اکسیدانی خود یک عمل حفاظتی غیره مستقیم نیز بروز می‌دهد (۲۰). در گیاهان تحت تنش، افزایش ساخت اسید آمینه پرولین سریع‌تر از سایر آمینواسیدها است، به همین دلیل بررسی تولید میزان پرولین یکی از شاخص‌های مورد مطالعه در تنش‌های محیطی است (۷).



شکل۵: اثر متقابل گونه‌های قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر میزان پرولین برگ چمن‌های مورد مطالعه. ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند. میله عمودی نشان‌دهنده خطاء استاندارد است.

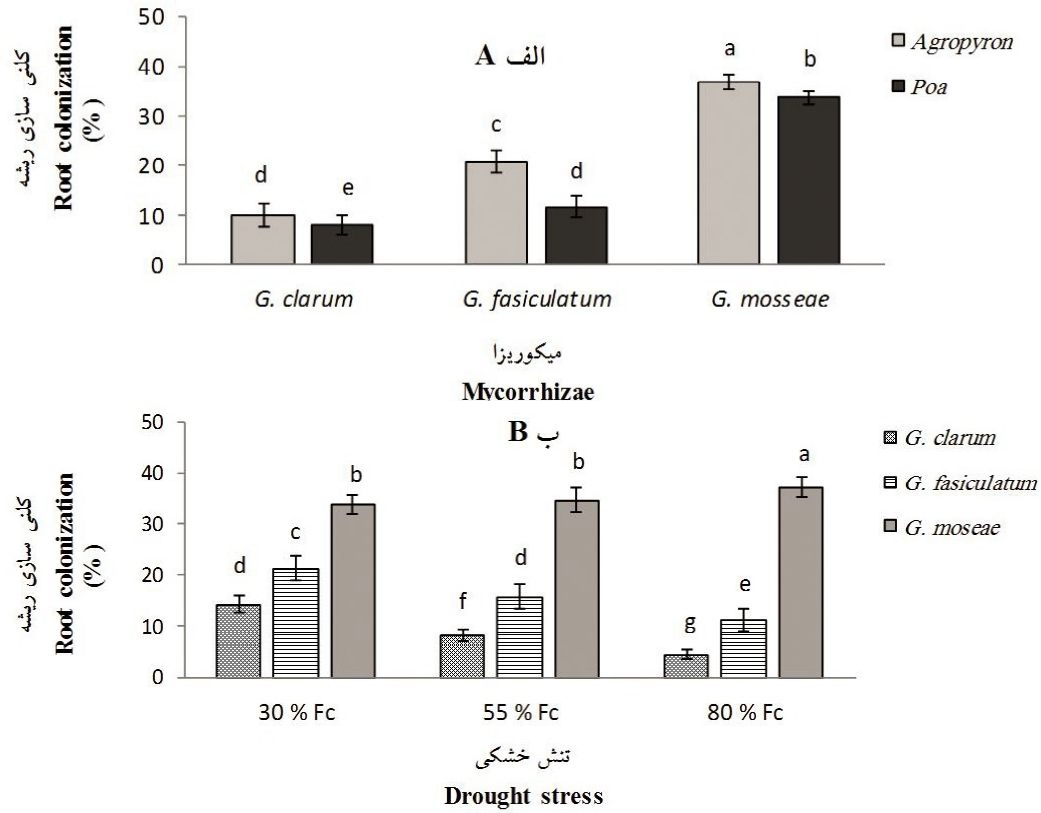
Figure 5. Interaction between mycorrhizae fungi species and drought stress on proline in leaves of studied grasses. Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test. Vertical bars represent standard errors.

میزان پرولین برگ پوآی‌چندساله و اگروپیرون دزرتوروم در بالاترین سطح تنش به‌ترتیب ۴/۲۳ و ۸/۷۳ برابر گیاهان شاهد بوده است (۵۲). در این آزمایش نیز میزان پرولین برگ هر دو گونه چمن در شرایط تنش خشکی افزایش نشان داد. اگرچه تلاش‌های فراوانی برای مرتبط ساختن انباشت پرولین در شرایط کمبود آب با میزان حساسیت و یا تحمل به تنش خشکی در گونه‌های گیاهی مختلف انجام گرفته است، اما مدارک قانع کننده زیادی در تأیید این ادعا وجود ندارد. وجود گزارش‌های متناقض در این زمینه نتیجه‌گیری در مورد ارتباط پرولین با مقاومت یا حساسیت به خشکی را مشکل ساخته است. همچنین، واضح نیست که آیا تجمع پرولین یک واکنش سازگاری به تنش خشکی است یا اینکه یک تغییر زیست – شیمیایی حاصل از آسیب تنش است (۲۳). میزان پرولین برگ ذرت‌های همزیست با میکوریزا نسبت به عدم حضور قارچ ۵۶/۰۸ درصد بیشتر بوده است (۵۷). گیاهان زوفای همزیست با میکوریزا در بالاترین سطح تنش بیشترین میزان پرولین را داشته‌اند (۵۰). میزان پرولین تجمع یافته در بافت گیاهان همزیست با میکوریزا در شرایط تنش خشکی بستگی به گونه قارچ همزیست با آن‌ها دارد (۴۱). در این آزمایش نیز قارچ میکوریزا میزان پرولین برگ چمن‌های مورد مطالعه را به ویژه در شرایط تنش خشکی افزایش داد ولی کارآیی گونه‌های این قارچ درافزایش میزان پرولین متفاوت بود.

درصد کلنی‌سازی ریشه: نتایج نشان داد که گونه‌های چمن با گونه‌های قارچ و همچنین گونه‌های قارچ با سطوح مختلف تنش خشکی بر درصد کلنی‌سازی ریشه اثرات متقابل معنی‌دار دارند (جدول ۳). گلوموس موسه‌آ در تمامی سطوح تنش خشکی، بیشترین درصد کلنی‌سازی ریشه را با چمن‌های مورد آزمایش نشان داد و با ۳۹/۴ درصد، بیشترین کلنی سازی را با ریشه‌ی چمن اگروپیرون در شرایط بدون تنش خشکی داشت. گونه‌ی گلوموس کلاروم در تمامی سطوح تنش و نسبت به دیگر گونه‌های قارچ کمترین درصد کلنی‌سازی ریشه را با چمن‌های مورد آزمایش نشان داد و از این نظر با ۴/۱۳ درصد، کمترین میزان کلنی‌سازی را با ریشه چمن پوآی چندساله در شرایط بدون تنش خشکی نشان داد

(شکل ۶الف). تنش خشکی درصد کلنی‌سازی ریشه چمن‌های آگروپیرون و پوآی چندساله با گونه‌های گلوموس کلاروم و گلوموس فسیکولانوم را افزایش داد به‌طوری‌که درصد کلنی‌سازی گلوموس کلاروم با ریشه چمن پوآی‌چندساله را با ۲۲۰/۳۴ درصد افزایش، از ۴/۱۳ درصد به ۱۳/۲۳ درصد رساند. درصد کلنی‌سازی گلوموس موسهآ با ریشه چمن‌های مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی کاهش نشان داد (شکل ۶ب). در مطالعه‌ای، قابلیت گونه‌های قارچ میکوریزا جهت همزیستی با چمن‌های اگروستیس و لولیوم متفاوت بوده است (۱۹).

نتایج این آزمایش نیز نشان داد که تمایل به همزیستی و قابلیت گونه‌های قارچ جهت همزیستی با چمن‌های مورد آزمایش بسیار متفاوت است. توانایی گونه‌های مختلف قارچ بویژه تحت تنش محیطی در آلوده‌سازی گیاه میزبان متفاوت است (۲۴). برخی از گونه‌های قارچ میکوریزا می‌توانند به‌سرعت با تنش خشکی سازگار شده و گیاه میزبان را از مزیت‌های خود بهره‌مند سازند (۵۶). تاثیر تنش خشکی بر درصد کلنی‌سازی ریشه گیاهان توسط میکوریزا، به دوره و شدت تنش، شرایط کاشت (مزرعه‌ای یا گلدانی) گونه-ی گیاه و قارچ بستگی دارد (۶).



شکل ٦: اثر متقابل گونه‌های قارچ میکوریزا و گونه‌های چمن بر درصد کلنی‌سازی ریشه (A). اثر متقابل تنش خشکی و گونه‌های قارچ میکوریزا بر درصد کلنی‌سازی ریشه (B). ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند. میله عمودی نشان‌دهنده خطاء استاندارد است.

Figure 6. Interaction between mycorrhizae fungi species and grass species on root colonization percent (A). Interaction between mycorrhizae fungi species and drought stress on root colonization percent (B). Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test. Vertical bars represent standard errors.

میزان تولید اسپور و همچنین غنای گونه‌ای قارچ میکوریزا در اقلیم‌های خشک کمتر از سایر اقلیم‌ها است و تولید اسپور با افزایش خشکی، کاهش بیشتری یافته است (۶). با کاهش رطوبت خاک کمیت و کیفیت ترشحات ریشه‌ای تغییر می‌کند که بر جوانه‌زنی اسپور موثر است و کاهش رطوبت خاک همچنین به طور مستقیم بر جوانه‌زنی اسپور موثر است (۴۹). اثر رطوبت خاک برجوانه زدن اسپور در گونه‌ها و جنس‌های مختلف قارچ میکوریزا متفاوت است (۱۸). پتانسیل رطوبتی ۰/۵- تا ۲/۲- مگا پاسکال از جوانه زنی اسپور گونه‌های گلوموس موسهآ و گلوموس اینترارادیسز ممانعت کرده است (۱۳). در شرایط تنش خشکی دسترسی به فسفر برای گیاه مشکل‌تر است لذا تمایل گیاه برای همزیستی با میکوریز در چنین شرایطی بیشتر است (۶). به احتمال زیاد علت افزایش درصد کلنی‌سازی ریشه‌ی اگروپیرون و پوآی چندساله‌ی همزیست با گونه‌های گلوموس کلاروم و گلوموس فسیکولاتوم تحت تنش خشکی ناشی از نیازمندی بیشتر گیاه به قارچ جهت تامین فسفر مورد نیاز خود باشد. اما کاهش درصد کلنی‌سازی چمن‌هایی که همزیستی خوبی با میکوریزا داشتند می‌تواند به جهت کاهش میزان کربوهیدرات در دسترس و همچنین کاهش میزان تولید و جوانه‌زنی اسپور قارچ باشد.

نتیجه‌گیری کلی

هر دوگونه چمن با گونه‌های قارچ میکوریزا همزیستی نشان دادند. بالاترین درصد کلنی‌سازی ریشه را چمن اگروپیرون با گونه‌ی گلوموس موسهآ و کمترین درصد کلنی‌سازی را چمن پوآی چندساله با گونه‌ی گلوموس کلاروم داشتند. تنش خشکی درصد کلنی‌سازی گونه‌ی گلوموس موسهآ با ریشه‌ی هر دو گونه‌ی چمن را کاهش ولی درصد کلنی‌سازی گونه‌های گلوموس کلاروم و گلوموس فسیکولاتوم با ریشه آن‌ها را افزایش داد. در شرایط تنش خشکی الگوی افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز با کاتالاز متفاوت بود به‌طوری‌که در کاتالاز با افزایش تنش تا رطوبت ۵۵ درصد ظرفیت زراعی فعالیت کاتالاز افزایش یافت و با افزایش هرچه بیشتر سطح تنش تا رطوبت ۳۰ درصد ظرفیت زراعی این فعالیت کاهش یافت ولی فعالیت دو آنزیم دیگر با افزایش شدت تنش تا بالاترین سطح، افزایش نشان دادند. قارچ میکوریزا بویژه در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان پرولین و پروتئین را افزایش ولی میزان مالوندی‌آلدهید را کاهش داد. به‌طوری‌که در چمن اگروپیرون، قارچ گلوموس موسهآ و در چمن پوآی چندساله، قارچ گلوموس کلاروم سبب بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردیدند. در بالاترین سطح تنش چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس موسهآ بیشترین فعالیت پراکسیداز را دارا بودند درحالی‌که در تنش ملایم بیشترین فعالیت آنزیم در برگ چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس فسیکولاتوم مشاهده شد. در چمن اگروپیرون، در شرایط تنش ملایم چمن‌های همزیست با قارچ گلوموس موسهآ بیشترین فعالیت کاتالاز را دارا بودند. گونه‌ی گلوموس موسهآ سبب گردید که میزان پرولین برگ چمن در بالاترین سطح تنش خشکی بیش از ۱۳۰ درصد نسبت به شرایط بدون قارچ افزایش ولی میزان مالوندی‌آلدهید بیش از ۳۲ درصد کاهش یابد. در مجموع میکوریزا توانست با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پرولین اثرات سوء تنش خشکی بر صفات زیست - شیمیایی برگ چمن مانند پراکسیداسیون لیپید را کاهش دهد و بدینوسیله مقاومت چمن‌های سردسیری مورد مطالعه را به تنش اکسیداتیو افزایش دهد. تاثیر گونه‌های میکوریزا بر چمن‌های رشد یافته تحت شرایط تنش خشکی متفاوت بود و بیشترین میزان تاثیر مثبت را گونه گلوموس موسهآ داشت.

منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.
2. Allen, R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol. 57: 1049-1054.
3. Alizadeh, A. 2004. Soil and plant water relationships. Imam Reza Univ. Press. (In Persian)
4. Aslani, Z., Hassani, A., Rasooli Sadaghiyani M., Sefidkon, F. and Barin, M. 2011. Effect of two fungi species of arbuscular mycorrhizal (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) on growth, chlorophyll contents and P concentration in Basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Iran. J. Med. Aromat. Plants. 27: 3. 471-486. (In Persian)
5. Amiri Nasab, K., Ghasemnezhad, M., Zakizadeh, H. and Biglouei, M.H. 2015. Effect of drought preconditioning on antioxidant enzymes activity and reducing drought stress damage in two turfgrass species, creeping bentgrass and tall fescue. Iran J. Hort. Sci. 45: 429-440.
6. Auge, R.M. 2001. Water relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza. 11: 3-42.
7. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
8. Bian, S. and Jiang, Y. 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. Sci. Hort. 120: 264-270.
9. Blokhin, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. 2003. Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. Ann. Rev. Bot. 91:179-194.
10. Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. Anal. Biochem. 72:248-254.
11. Chance, B. and Maehly, C. 1955. Assay of catalase and peroxidases. Methods Enzymol. 2: 764-775.
12. Di, J.J. and Allen, E.B. 1991. Physiological responses of six wheatgrass cultivars to mycorrhizae. J. Range Manage. 44: 336–341.
13. Douds, D.D. and Schenck, N.C. 1991. Germination and hyphal growth of vam fungi during and after storage in soil at five matric potentials. Soil Biol. Biochem. 23:2. 177-183.
14. Esmaeelpour, B., Jalilvand, P. and Hadian, J. 2013. Effect of drought stress and mycorrhizal fungi on some morpho-physiological traits and performance of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.). J. Agroecol. 5: 2. 169-177. (In Persian)
15. Feierabend, J. 2005. Catalases in plants: molecular and functional properties and role in stress defence. P 101-140, In: N. Smirnoff (eds.) Antioxidants and reactive oxygen Species in plants, Blackwell Publishing Ltd.
16. Gemma, J.N., Koske R.E., Roberts E.M., Jackson, N. and De Antonis, K.M. 1997. Mycorrhizal fungi improve drought resistance in creeping bentgrass. J. Turfgrass Sci. 73: 15-29.
17. Ghasempour, H.R. and Kianian, J. 2001. Drought stress induction of free proline, total proteins, soluble sugars and its protein profile in drought tolerant grass *Sporobolus elongatus*. J Sci. (KHU). 1: 2. 111-118.
18. Giovannetti, M. 2000. Spore germination and pre-symbiotic mycelial growth. P 47-68, In: Y. Kapulnik and D.D. Douds (eds.), Arbuscular mycorrhizas: physiology and function. Dordrecht: Springer Netherlands.
19. Gollotte, A., Van Tuinen, D. and Atkinson, D. 2004. Diversity of Arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. Mycorrhiza. 14: 2. 111-117.
20. Hare, P.D., Cress, W.A. and Van Staden, J. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environ. 21: 535-553.
21. Heath, R.L. and Parker, L. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125: 189-198.
22. Huang B. and Fry J.D. 2004. Applied turfgrass science and physiology. 1th Ed. John Wiley, New York. 320 p.

23. Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sanchez, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiol. Plant. 84:58-60.
24. Jacobsen, I., Abbott, L.K. and Robson, A. 1992. External hyphae of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trofoluim subterraneum* L. I. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. New Phytol. 120: 371-380.
25. Jinrong L., Xiaorong X., Jianxiong D., Jixiong S. and Xiaomin B. 2008. Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. Sci. Hortic. 115: 190-195.
26. Kafi, M., Daneshvar Hakimi Meybodi, N., Nikbakht A., Rejali, F. and Deneshkhah, M. 2013. Effect of humic acid and mycorrhiza fungi on some characteristics of "Speedy green" perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). J. of Sci. Technol. Greenh. Culture. 4: 13. 49-59. (In Persian)
27. Kafi, M. and Kaviani, S.H. 2002. Establishment management and turf maintenance. Cultural and Artistic Institution Shaghayegh Rusta, 230p. (In Persian)
28. Khanna-Chopra, R. and Selote D.S. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. Environ. Exp. Bot. 60: 276-283.
29. Khalighi Jamal-Abad, A. and Khara, J. 2009. The effect of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on some growth and physiological parameters in wheat (cv. Azar2) plants under cadmium toxicity. Iran. J. Biol. 21: 5. 216-230. (In Persian)
30. Lu S., Wang Z., Niu Y., Guo Z. and Huang, B. 2008. Antioxidant responses of radiation-induced dwarf mutants of Bermuda grass to drought stress. J. Am. Soc. Hort. Sci. 133, 360–366.
31. Mcgonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L. and Swan, J.A. 1990. A new method which gives an objective-measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 115: 3. 495-501.
32. Millar, A.H., and Leaver, C.J. 2000. The cytotoxic lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal specifically inhibits decarboxylating dehydrogenase in the matrix of plant mitochondria. FEBS Letters. 481: 117–121.
33. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405-415.
34. Mittler, R. and Poulos, T.L. 2005. Ascorbate peroxidase. P 87-100, In: N. Smirnoff (eds.) Antioxidants and reactive oxygen species in plants, Blackwell Publishing Ltd.
35. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
36. Ondrasek, G. 2014. Water scarcity and water stress in agriculture. Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment: Volume 1. P. Ahmad and R. M. Wani. New York, NY, Springer New York, Pp: 75-96.
37. Pelletier, S. and Dionne, J. 2004. Inoculation rate of arbuscular-mycorrhizal fungi *Glomus intraradices* and *Glomus etunicatum* affects establishment of landscape turf with no irrigation or fertilizer inputs. Crop Sci. 44: 1. 335-338.
38. Philips, J.M. and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. T. Brit. Mycol. Soc. 55: 158-161.
39. Porcel, R. and Ruiz-Lozano, J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. J. Exp. Bot. 55: 1743-1750.
40. Rahmatzadeh, S., Khara, J. and Kazemitabar, S.K. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth improvement and biochemical factors of regenerated *Catharanthus roseus* L. plants under tryptophan treatment during acclimatization process. Iran. J. Plant Biol. 5: (16): 27-40. (In Persian)

41. Ruiz-Lozano, J.M., Gomez, M. and Azcon, R. 1995. Influence of different *Glomus* species on the time- course of physiological plant responses of lettuce to progressive drought stress periods. Plant Sci. 110: 37–44.
42. Sairam, R.K. and Saxena, D.C. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. J. Agron. Crop Sci. 184: 55-61.
43. Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiol, 101: 7-12.
44. Selvaraj, T. and Chellappan, P. 2006. Arbuscular mycorrhizae: A diverse personality. J. Cent. Eur. Agric. 7: 349-358.
45. Şen, A. 2012. Oxidative stress Studies in Plant tissue culture. P 59-88, In: M.A. El-Missiry (eds.), Antioxidant enzyme, Intech, Rijeka.
46. Sharma, P. and Dubey, R.S. 2010. Protein synthesis by plants under stressful conditions. P 465-518, In: M. Pessarakli (eds.), Handbook of plant and crop stress, Third Edition, CRC Press.
47. Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J. Bot. 26p.
48. Shim, I.S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D.W. and Usui, K. 2003. Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. Plant Growth Reg. 39: 3. 285-292.
49. Smith, S.E., and Read, D.J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London, 800p.
50. Soleymani, F. and Pirzad, A. 2015. The effect of mycorrhizal fungi on malondialdehyde concentration and some metabolic processes in hyssop (*Hyssopus officinalis*) under water deficit stress. Iran. J. Plant Biol. 7: 15-26.
51. Song, H. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its Mechanisms. Elec. J. Biol. 1: 3. 44-48.
52. Tatari, M., Fotouhi Ghazvini, R., Etemadi, N., Ahadi, A.M. and Mousavi, A. 2013. Study of some physiological responses in three species of turfgrass in drought stress conditions. J. Plant Prod. Res. 20: 1. 63-88. (In Persian)
53. Tatari, M., Fotouhi Ghazvini, R., Etemadi, N., Ahadi, A.M. and Mousavi, A. 2013. A study of morphological, physiological and biochemical responses of *Poa pratensis* L. (Kentucky bluegrass) cv. 'Barimpala' to drought stress conditions. Iran J. Hort. Sci. 44: 3. 329-340. (In Persian)
54. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought - tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive P. vulgaris L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Sci. 168: 223-231.
55. Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. and Kwak, S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiol. Biochem. 47: 570-577.
56. Wu, Q.S., Srivastava, A.K. and Zou, Y.N. 2013. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: A review. Sci. Hort. 164: 77-87.
57. Zhu, X., Song, F. and Liu, S. 2001. Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system. J. Food Agric. and Environ. 9: 2. 583-587.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.