



دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی اراک

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و هشتم، شماره دوم، ۱۴۰۰

۱۰۱-۱۱۴

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2020.17884.2659

تلقیح بذر لیلکی ایرانی (*Gleditsia caspica* Desf) با مایکوریزای آربسکولار

برای افزایش تحمل به خشکی نهال‌ها

پیام پوریافر^۱، علیرضا خالقی^{۲*}، احمدرضا عباسی فر^۲ و مینا تقی‌زاده^۲

^۱دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران،

^۲دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: لیلکی ایرانی یکی از گونه‌های جنگلی ارزشمند ایران است که به دلیل برخی ویژگی‌های منحصر بفرد آن از جمله کم‌توقع و مقاوم بودن به شرایط بد محیطی، متحمل بودن به هوای آلوده و توانایی همزیستی با برخی از ریزجانداران خاکزی، می‌تواند گیاهی ارزشمند جهت استفاده در فضاهای سبز شهری باشد. با این حال نهال‌ها حساس به کم‌آبی هستند و از عوامل اصلی صدمه به آن‌ها پس از کشت، عدم مقاومت و یا سازگاری به تنش خشکی است. بنابراین در این راستا با هدف بررسی اثر قارچ همزیست میکوریزا بر بهبود رشد نهال‌های لیلکی ایرانی تحت شرایط تنش خشکی، این آزمایش اجرا شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. بذرهای لیلکی ایرانی پس از خراش دهی، هنگام کشت با قارچ میکوریزا (*Funneliformis mosseae*) تلقیح و جهت تشکیل کلونی قارچ، گیاهان به مدت یک سال در شرایط عدم تنش خشکی نگهداری شدند. تنش خشکی به صورت عدم آبیاری بر نیمی از گلدان‌های تلقیح شده و نیمی از گلدان‌های تلقیح نشده (در مجموع شامل چهار تیمار $+H_2O + AM$ ، $+H_2O - AM$ ، $-H_2O + AM$ و $-H_2O - AM$) اعمال شد. زمانی که ۸۰ درصد گیاهان تحت تیمار در سبیده دم علائم پژمردگی (لوله‌ای شدن برگ‌ها) را نشان دادند، تنش متوقف و نمونه‌گیری انجام شد. در این آزمایش صفات مورد بررسی شامل محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، درصد وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان فنل و فلاونوئید کل، محتوای پرولین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد از جمله محتوای نسبی آب برگ (۲۵/۱ درصد)، شاخص پایداری غشاء (۱۶/۷ درصد)، محتوای کلروفیل a (۴۶/۱ درصد) و b (۴۷/۸) و درصد وزن خشک ریشه (۱۲/۴ درصد) و اندام هوایی (۸/۷ درصد) شد. تلقیح بذور لیلکی ایرانی با قارچ مایکوریزای آرباسکولار باعث بهبود شاخص پایداری غشاء (به میزان ۱۰/۱ درصد)، محتوای نسبی آب برگ (به میزان ۹ درصد)، درصد ماده خشک ریشه (به میزان ۶/۲ درصد)، محتوای کلروفیل a و b (به ترتیب به میزان ۵۳/۵ و ۵۰ درصد)، محتوای فنل کل (به میزان ۵۰/۷ درصد)، محتوای فلاونوئید کل (به میزان ۴۳/۳) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (به میزان ۸۲ درصد) نسبت به نهال‌های تلقیح نشده گردید. هم‌چنین در نهال‌های تلقیح شده

* مسئول مکاتبه: a-khaleghi@araku.ac.ir

نسبت به نهال‌های تلقیح‌نشده چه در شرایط تنش خشکی و چه در شرایط آبیاری نرمال درصد ماده خشک اندام‌های هوایی و محتوای کاروتنوئید افزایش و محتوای پرولین کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: افزایش درصد ماده خشک اندام هوایی و محتوای کاروتنوئید و کاهش محتوای پرولین تحت تنش خشکی شدید در نهال‌های تلقیح شده نسبت به نهال‌های تلقیح نشده، می‌تواند ناشی از تقلیل اثرات تنش خشکی ناشی از میکوریزا باشد. بنابراین تلقیح نهال‌های لیلکی ایرانی با قارچ میکوریزا قبل از کشت در فضای سبز شهری پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تنش، شاخص‌های رشد، همزیست

مقدمه

نهال‌ها بسیار حساس به کم‌آبی هستند و از عوامل اصلی صدمه به آن‌ها پس از کشت، عدم مقاومت و یا سازگاری به تنش خشکی است (۱۷). پژمردگی گیاه، کاهش در فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، کارایی مصرف آب، محتوای نسبی آب و کاهش تدریجی در محتوای کلروفیل از علائم خشکی است (۱). هم‌چنین تنش خشکی باعث اختلال در سیستم انتقال الکترون و تولید گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه موجب خسارت به ملکول‌های زیستی مثل لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (۱۶). گیاهان دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی جهت مقابله با تجمع گونه‌های فعال اکسیژن هستند. با این حال، تحت شرایط تنش خشکی تجمع گونه‌های فعال اکسیژن اغلب بیش از ظرفیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه است. در طبیعت، تحت شرایط محدودکننده رشد از جمله کم‌آبی، قارچ‌های همزیست از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی باعث بهبود رشد و زنده‌مانی گیاهان می‌شوند. با این حال کارایی قارچ‌های میکوریزا بستگی به گونه گیاهی و سویه قارچ دارد (۹). قارچ آریباسکولار میکوریزا، می‌تواند با حدود ۸۰ درصد از گیاهان رابطه همزیستی برقرار کند. در سال‌های اخیر، مطالعات بسیاری برای ارزیابی نقش ضروری این قارچ در محصولاتی هم‌چون مرکبات، سیب، هلو، توت‌فرنگی، کاهو و

لفل (۲۷) انجام شده است. مطالعات نشان داده است که تلقیح با قارچ میکوریزا باعث افزایش جذب آب، مواد غذایی و در نتیجه رشد گیاه میزبان و هم‌چنین بهبود مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود (۲۷). این قارچ با افزایش جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه فسفر توسط هیف قارچ‌ها و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، متابولیت‌های ثانویه، هدایت هیدرولیکی و تبادل گازی ریشه گیاه، باعث القاء مقاومت در گیاهان میزبان می‌شود (۱۰). با این حال، در بسیاری از گزارش‌ها تأیید شده است که جمعیت قارچ‌های میکوریزا در مناطق شهری کم‌تر از مناطق روستایی و جنگل‌های طبیعی است (۲۰).

لیلکی ایرانی (*Gleditsia caspica* Desf) بومی منطقه هیرکانی و یکی از گونه‌های جنگلی ارزشمند ایران است که از آستارا تا گرگان انتشار یافته است. به‌دلیل برخی ویژگی‌های منحصر‌بفرد این گونه از جمله کم‌توقع و مقاوم بودن به شرایط بد محیطی (۲۱)، متحمل بودن به هوای آلوده (۱۳) و توانایی همزیستی با برخی از میکروارگانیسم‌های خاکزی (۴)، آن را به گیاهی ارزشمند جهت کشت در فضاهای سبز شهری تبدیل نموده است (۱۳). با این حال، این گونه گیاهی به فضای سبز شهری ایران معرفی نشده است. با توجه به اهمیت گونه‌های بومی برای بوم‌سازگان منطقه و هم‌چنین موفقیت اثبات شده این گونه‌ها در هماهنگی با شرایط محیطی منطقه، قابل توجه است

شده از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران با محلول اسید سولفوریک ۹۸ درصد به مدت ۶۰ دقیقه خراش‌دهی و پس از شست‌وشو با آب، در گلدان‌های پلی‌اتیلن ۱۰ لیتری با قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر که با بستر کشت حاوی رس، سیلت و شن (جدول ۱) پر شده بودند، کشت شدند. برای تلقیح، در هنگام کشت بذور در گلدان، ۱۰ گرم از مایه تلقیح به اطراف بذر افزوده شد. مایه تلقیح قارچ به صورت پودر حاوی اندام قارچ میکوریزا گونه *Funneliformis mosseae* به میزان ۴۰-۳۵ اسپور در هر گرم ماده تلقیح از شرکت دانش بنیان زیست فناوری توران شاهرود تهیه شد. پس از جوانه‌زنی بذرها، جهت استقرار و ایجاد همزیستی قارچ با نهال‌ها ۱۲ ماه زمان داده شد. هم‌چنین تا زمان آغاز تنش، نهال‌ها به‌طور هفتگی با محلول غذایی هوگلند تغییر یافته که حاوی نصف غلظت فسفر بود، تغذیه شدند.

که این گونه‌ها به‌عنوان بخشی از طرح‌های جنگل‌کاری و هم‌چنین فضای سبز شهری در نظر گرفته شوند. از سویی دیگر، از حساس‌ترین مراحل رشدی درختان، مرحله استقرار نهال‌های جوان به‌ویژه در مناطق خشک است. بنابراین ارائه راهکارهایی برای کاهش مصرف و افزایش کارایی مصرف آب و هم‌چنین بهبود استقرار گیاهان در شرایط کمبود آب، ضروری می‌باشد. بنابراین این مطالعه، به‌منظور بررسی اثر همزیستی قارچ میکوریزای آریاسکولار بر بهبود رشد و تحمل به خشکی نهال‌های یک‌ساله لیلکی ایرانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، اثر تلقیح بذری قارچ میکوریزای آریاسکولار بر رشد و تحمل به خشکی نهال‌های لیلکی ایرانی در فضای گلخانه و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه اراک مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا، بذور لیلکی ایرانی تهیه

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده جهت کشت نهال‌ها.

Table 1. Physical and chemical properties of soil used for saplings cultivation.

رس	سیلت	شن	پتاسیم	فسفر	ازت کل	کربن آلی	درصد مواد	اسیدیته گل	هدایت	درصد
Clay	Silt	Sand	قابل جذب	قابل جذب	Total N	O.C	خشتی شونده	اشباع	الکتریکی	اشباع
(%)	(%)	(%)	K (ava)	P (ava.)	(%)	(%)	T.N.V	pH of Paste	EC	S.P.
			(ppm)	(ppm)			(%)		(ds/m)	(%)
21	24	55	336	5	0.19	1.9	11.5	7.2	5.4	28.4

برای تعیین درصد کلونیزاسیون قارچ با ریشه گیاهان مورد بررسی، ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شد و در سطح یک پتری‌دیش مشبک پخش گردیدند. سپس تعداد برخورد هر یک از ریشه‌های آلوده با خطوط شبکه پتری‌دیش با استفاده از میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰ شمارش و درصد کلونیزاسیون قارچ طبق رابطه ۱ محاسبه گردید (۱۱).

جهت اعمال تنش خشکی، در روز اول تمامی گلدان‌ها تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند و پس از آن آبیاری به‌طور کامل قطع گردید و در روز نهم، زمانی که ۸۰ درصد گیاهان تحت تیمار در سپیده دم علائم پژمردگی (لوله‌ای شدن برگ‌ها) را نشان دادند تنش متوقف و نمونه‌برداری انجام شد. آبیاری در سایر گلدان‌ها به صورت روزانه تا حد ظرفیت زراعی به روش وزنی انجام گرفت.

$$(۱) \quad ۱۰۰ \times \text{کل ریشه‌ها} / \text{ریشه‌های آلوده} = \text{درصد کلونیزاسیون}$$

شد (EC_1). سپس نمونه‌ها به حمام آب گرم با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه منتقل و سپس لوله‌ها سریعاً با قرار دادن در بین قطعات یخ سرد شدند و پس از خنک شدن هدایت الکتریکی کل آن اندازه‌گیری گردید (EC_T). پس از آن، درصد نشت یونی از طریق رابطه ۲ محاسبه شد (۱۵).

برای ارزیابی پایداری غشای سلولی، میزان نشت یونی نمونه برگ مورد آزمون قرار گرفت. از هر تیمار، یک گرم از برگ‌های کاملاً توسعه یافته گیاه درون لوله‌های درب‌دار حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر منتقل و بلافاصله در دستگاه شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه به مدت هشت ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و سپس هدایت الکتریکی بخش مایع اندازه‌گیری

$$(۲) \quad ۱۰۰ \times EC_1 / EC_T = \text{درصد نشت یونی}$$

مجدداً توزین شدند. سپس نمونه‌های برگ به مدت ۷۲ ساعت در داخل آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری و میزان محتوای نسبی آب برگ از طریق رابطه ۳ محاسبه شد (۱۶).

برای ارزیابی محتوای نسبی آب برگ (RWC) (Relative water content)، از برگ‌های کاملاً توسعه یافته نمونه‌هایی تهیه و وزن تر آن‌ها محاسبه شد. به منظور تعیین وزن تورگر، قطعات برگ به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر در دمای اتاق و نور کم نگهداری شدند و پس از گرفتن رطوبت سطحی آن‌ها،

$$(۳) \quad ۱۰۰ \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن تورژسانس}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}) = RWC\%$$

رابطه‌های ۴ و ۵ محاسبه گردیدند.

درصد ماده خشک ریشه و اندام‌های هوایی، پس از توزین وزن تر و خشک، با استفاده از

$$(۴) \quad ۱۰۰ \times \text{وزن تازه اندام‌های هوایی} / \text{وزن خشک اندام‌های هوایی} = \text{درصد ماده خشک اندام‌های هوایی}$$

$$(۵) \quad ۱۰۰ \times \text{وزن تازه ریشه} / \text{وزن خشک ریشه} = \text{درصد ماده خشک ریشه}$$

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل از روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالتیو استفاده شد. بدین منظور به ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده ۲۰۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو (۱:۱۰) و ۱۶۰۰ میکرولیتر از محلول ۷/۵ درصد کربنات سدیم اضافه شد و بعد از ۳۰ دقیقه جذب مخلوط حاصل در طول

به منظور اندازه‌گیری میزان کلرفیل و کارتنوئید برگ، ۲۰۰ میلی‌گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد هموژن شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس جذب روشناور در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (۱۹).

۲۸۰۰ میکرولیتر از این محلول با ۲۰۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده در لوله‌های آزمایش تیره مخلوط گردید. نمونه‌ها در محیط تاریک به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

طرح آماری: این آزمایش به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه مشاهده در هر تکرار انجام شد. عامل اول، تیمار تلقیح بذور با قارچ میکوریزا (در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح) و فاکتور دوم، تیمار تنش خشکی (در دو سطح آبیاری و عدم آبیاری) بود. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش خشکی بر تمامی صفات مورد ارزیابی به جز محتوای فلاونوئید کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. هم‌چنین اثر تلقیح بذور لیلکی ایرانی با قارچ آرباسکولار میکوریزا بر تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. اثر متقابل دو عامل بر صفات درصد ماده خشک اندام هوایی، محتوای کاروتنوئید و محتوای پرولین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

موج ۷۶۵ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (۲۴).

میزان فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد (۸). در این روش دو میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده با دو میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم دو درصد درون لوله آزمایش تیره مخلوط شد. بعد از ۱۵ دقیقه، جذب نمونه‌ها در ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. از کوئرتستین برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. مقدار فلاونوئید کل موجود در عصاره بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرتستین در گرم وزن خشک بیان شد.

برای اندازه‌گیری میزان پرولین، پس از توزین ۰/۲ گرم نمونه تر گیاهی، ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد اضافه و سانتیفریوژ شدند. به منظور توقف واکنش، نمونه‌ها در بستر یخ قرار داده شدند و پس از خنک شدن چهار میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه نموده و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شدند و پرولین محلول در فاز روئی در کوویت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت غلظت پرولین هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین خالص محاسبه شد (۵).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش DPPH (۲) ارزیابی شد. بدین منظور محلول چهار میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر DPPH با متانول خالص تهیه شد و

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تلقیح بذری نهال‌های لیلکی ایرانی با قارچ میکوریزای آرباسکولار بر شاخص‌های فیزیولوژیک طی تنش خشکی.

Table 2. Variation analysis of the effect of seed inoculation of *Gleditsia caspica* saplings with arbuscular mycorrhiza fungi on physiological characteristics during drought stress.

میانگین مربعات Mean Square					درجه آزادی DF	منابع تغییرات Variation source
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل Total antioxidant capacity	ماده خشک ریشه Root dry biomass	ماده خشک اندام هوایی Aboveground dry biomass	نشت یونی Electrolyte leakage	محتوای نسبی آب برگ Relative water content		
599.6**	462.6**	1686.7**	832.5**	1893.5**	1	تنش خشکی Drought stress
3469.5**	115.2**	675.4**	303.1*	243.5*	1	میکوریزا Mycorrhiza
0.601 ^{ns}	2.27 ^{ns}	270.1*	7.1 ^{ns}	40.1 ^{ns}	1	خشکی × میکوریزا Drought×mycorrhiza
49.83	9.40	25.5	53.3	31.7	8	خطای آزمایش Error
12.03	6.6	10.1	17.6	9.21	-	ضریب تغییرات (%) C.V. (%)

ادامه جدول ۲-

Continue Table 2.

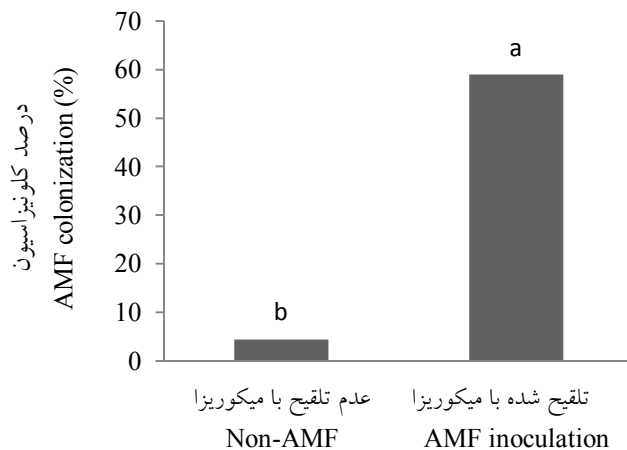
میانگین مربعات Mean Square						درجه آزادی DF	منابع تغییرات Variation source
محتوای پروлін Proline content	محتوای فلاونوئید کل Total flavonoid content	محتوای فنل کل Total phenol content	محتوای کاروتنوئید Carotenoid content	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a		
4.95**	0.069 ^{ns}	0.064**	0.878**	0.150**	1.27**	1	تنش خشکی Drought stress
2.19**	0.447**	0.381**	0.368**	0.06**	0.64**	1	میکوریزا Mycorrhiza
1.43*	0.002 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.082*	0.005 ^{ns}	0.04 ^{ns}	1	خشکی × میکوریزا Drought×mycorrhiza
0.132	0.046	0.005	0.017	0.0015	0.017	8	خطای آزمایش Error
15.3	19.6	7.99	14.6	11.3	11.9	-	ضریب تغییرات (%) C.V. (%)

** و * به ترتیب معنی داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد؛ ^{ns} عدم معنی داری.

^{ns} not significant; *P < 0.05; **P < 0.01.

عنوان شده است که به دلیل تفاوت در محتوای نیتروژن کل، مواد آلی و pH خاک، جمعیت قارچ‌های میکوریزا همزیست با ریشه درختان رشد یافته در پارک‌ها و فضاهای سبز شهری نسبت به درختان رشد یافته در جنگل‌های طبیعی به طور معنی‌داری کم‌تر است (۲۰).

میزان کلونیزاسیون ریشه: به‌طور میانگین میزان تشکیل کلونی بر روی ریشه نهال‌های لیلکی ایرانی تلقیح شده و تلقیح نشده به ترتیب ۵۹ و ۴/۵ درصد بود (شکل ۱). این نتیجه حاکی از آن است که عدم تلقیح ریشه نهال‌ها جهت کشت در فضای سبز شهری منتج به حداقل تشکیل کلونی قارچ میکوریزا می‌شود.



شکل ۱- تأثیر تلقیح بذور بر درصد کلونیزه شدن ریشه لیلکی ایرانی توسط قارچ آرباسکولار میکوریزا گونه *F. mosseae*

Fig. 1. Effect of *Gleditsia caspica* seeds inoculation with arbuscular mycorrhiza fungi (*F. mosseae*) on AMF colonization.

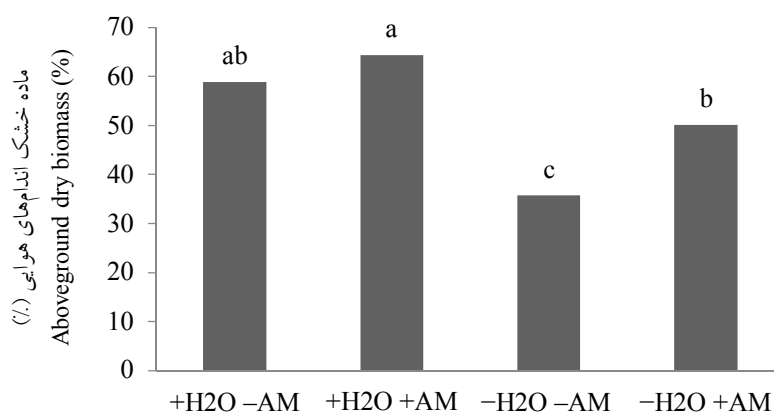
بذور با قارچ میکوریزا باعث تقلیل نشت یونی و افزایش ۱۰/۱ درصدی شاخص پایداری غشاء سلولی گردید (جدول ۴) که همسو با این نتایج گزارش شده در نهال‌های زیتون تلقیح شده با قارچ میکوریزا (۹) می‌باشد. در مطالعه حاضر، تلقیح قبل از کشت بذور با میکوریزا، باعث بهبود رطوبت نسبی آب برگ نهال‌های لیلکی شد که این اثر می‌تواند به دلیل افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه و کارایی مصرف آب باشد (۱۲). مطابق با این نتایج، افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تلقیح شده کاج (۲۲) نیز گزارش شده است. هم‌چنین، قارچ‌های میکوریزا با افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و بهبود جذب عناصری مانند کلسیم و فسفر باعث کاهش سطح

محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشاء: تنش خشکی باعث ۲۵/۱ درصد کاهش در محتوای نسبی آب برگ، نسبت به گیاهان تحت آبیاری نرمال شد (جدول ۳). تلقیح قبل از کشت بذور با قارچ میکوریزا باعث بهبود محتوای نسبی آب برگ نهال‌های یک‌ساله لیلکی ایرانی شد؛ به‌گونه‌ای که در نهال‌های تلقیح شده نسبت به نهال‌های تلقیح نشده، محتوای نسبی آب برگ ۹ درصد افزایش یافت (جدول ۴). هم‌چنین، نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که حداکثر نشت یونی مربوط به تیمار تنش خشکی است. عدم آبیاری باعث کاهش شاخص پایداری غشاء به میزان ۱۶/۷ درصد نسبت به تیمار آبیاری منظم شد (جدول ۳). بر اساس نتایج، تلقیح

خشکی می‌تواند با اثر منفی بر جذب آب و عناصر غذایی و همچنین فعالیت فتوسنتزی و ماده‌سازی باعث کاهش وزن خشک برگ‌ها گردد (۱۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تلقیح بذور لیلکی با قارچ میکوریزا، چه در شرایط آبیاری نرمال و چه در شرایط تنش خشکی باعث بهبود ماده خشک اندام هوایی می‌گردد. این پاسخ رشدی به کلونیزاسیون میکوریزا پیش از این در بسیاری گونه‌های گیاهی هم‌چون زیتون (۹) و پسته (۱) گزارش شده است. این اثر مثبت بر رشد گیاهان را به بهبود جذب آب و مواد غذایی به‌ویژه عناصر کم‌تحرک فسفر، مس و روی ناشی از افزایش بسیار بالای سطح جذب مهیا شده توسط هیف‌های بسیار گسترده قارچ و افزایش طول و تراکم ریشه نسبت داده شده است. تحت این شرایط میزان فتوسنتز و در نتیجه تولید ماده خشک نیز می‌تواند افزایش یابد (۱۰).

گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش استحکام دیواره سلولی می‌شوند (۱۲).

ماده خشک ریشه و اندام هوایی: تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار درصد ماده خشک ریشه از ۵۲/۴ درصد در گیاهان تحت تیمار آبیاری نرمال به ۴۰/۰ درصد در گیاهان تحت تنش خشکی شد (جدول ۳). تلقیح بذور نهال‌های لیلکی ایرانی با قارچ میکوریزا باعث افزایش معنی‌دار درصد ماده خشک ریشه از ۴۳/۱ درصد در گیاهان بدون تلقیح به ۴۹/۳ درصد در نهال‌های تلقیح شده، گردید (جدول ۴). همچنین تلقیح میکوریزا، در هر دو رژیم آبیاری، باعث بهبود درصد ماده خشک اندام‌های هوایی شد. بر اساس نتایج، بیش‌ترین ماده خشک اندام هوایی (۶۴/۴ درصد) در تیمار آبیاری به‌همراه تلقیح بذور لیلکی با قارچ میکوریزا و کم‌ترین ماده خشک اندام هوایی (۳۵/۷ درصد) در تیمار تنش خشکی به‌همراه عدم تلقیح با میکوریزا مشاهده گردید (شکل ۲). تنش



شکل ۲- اثر تلقیح بذری قارچ میکوریزا بر درصد ماده خشک اندام هوایی طی تنش خشکی در لیلکی ایرانی.

Fig. 2. Effect of seed inoculation with mycorrhiza fungi on aboveground dry biomass of *Gleditsia caspica* during drought stress.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک نهال‌های یک ساله لیلکی ایرانی.

Table 3. Mean comparison effect of drought stress on physiological traits of one-year-old *Gleditsia caspica* saplings.

ظرفیت	محتوای	محتوای	ماده	محتوای	محتوای	محتوای	تیمار	
آنتی‌اکسیدانی کل	فلاونوئید کل	فنل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	خشک	نشت یونی	نسبی	
Total antioxidant capacity (mg eqv ASC/gDW)	Total flavonoid content (mg eqv QUE/gDW)	Total phenol content (mg eqv GAE/gDW)	Chlorophyll b (mg/gFW)	Chlorophyll a (mg/gFW)	ریشه	Electrolyte leakage (%)	آب برگ RWC (%)	
					Root dry biomass (%)		Treatment	
51.6 ^b	1.02 ^b	0.82 ^b	0.46 ^a	1.41 ^a	52.4 ^a	33.0 ^b	73.7 ^a	آبیاری منظم Well-watered
65.7 ^a	1.17 ^a	0.97 ^a	0.24 ^b	0.76 ^b	40.0 ^b	49.7 ^a	48.6 ^b	عدم آبیاری Withholding water

میانگین‌هایی با حروف یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر ندارند.
Means which follow the same letter are not statistically different at 5% probability level based on Duncan test.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تلقیح بذری قارچ آرباسکولار میکوریزا بر صفات فیزیولوژیک نهال‌های یک ساله لیلکی ایرانی.

Table 4. Mean comparison effect of seed inoculation with arbuscular mycorrhiza fungi on physiological traits of one-year-old *Gleditsia caspica* saplings.

ظرفیت	محتوای	محتوای	ماده	محتوای	محتوای	محتوای	تیمار	
آنتی‌اکسیدانی کل	فلاونوئید کل	فنل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	خشک	نشت یونی	نسبی	
Total antioxidant capacity (mg eqv ASC/gDW)	Total flavonoid content (mg eqv QUE/gDW)	Total phenol content (mg eqv GAE/gDW)	Chlorophyll b (mg/gFW)	Chlorophyll a (mg/gFW)	ریشه	Electrolyte leakage (%)	آب برگ RWC (%)	
					Root dry biomass (%)		Treatment	
41.6 ^b	0.90 ^b	0.71 ^b	0.28 ^b	0.86 ^b	43.1 ^b	46.6 ^a	56.6 ^b	عدم تلقیح میکوریزا Uninoculation of AM
75.7 ^a	1.29 ^a	1.07 ^a	0.42 ^a	1.32 ^a	49.3 ^a	36.3 ^b	65.6 ^a	تلقیح میکوریزا Inoculation of AM

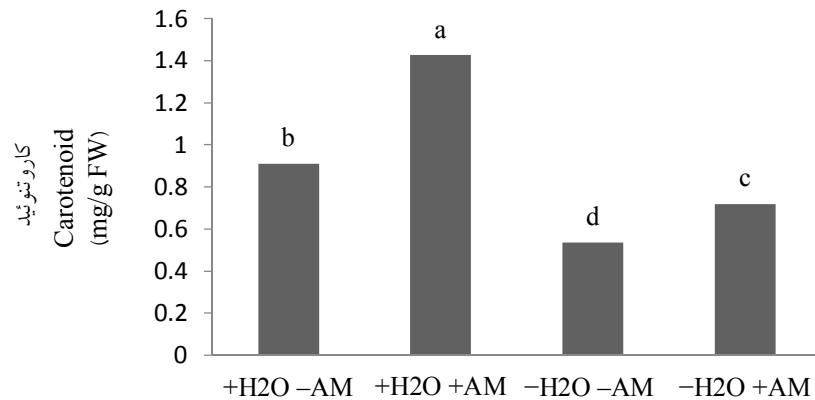
میانگین‌هایی با حروف یکسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر ندارند.
Means which follow the same letter are not statistically different at 5% probability level based on Duncan test.

به‌ترتیب از ۰/۸۶ و ۰/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در نهال‌های تلقیح نشده به ۱/۳۲ و ۰/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در نهال‌های تلقیح شده، شد. بیش‌ترین و کم‌ترین محتوای کاروتنوئید کل به‌ترتیب در نهال‌های تحت تیمار آبیاری منظم به‌همراه تلقیح میکوریزا (۱/۴۳ mg/g FW) و نهال‌های تحت تیمار تنش خشکی بدون تلقیح میکوریزا (mg/g FW)

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی: محتوای کلروفیل a و b به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر تنش خشکی و تلقیح میکوریزا قرار گرفتند. تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل a و b به‌ترتیب به‌میزان ۶/۱٪ و ۴۷/۸ درصد نسبت به گیاهان تحت تیمار آبیاری نرمال شد. از سویی، تلقیح بذور لیلکی با قارچ میکوریزا باعث بهبود محتوای کلروفیل a و b

توسط گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز و انتقال مجدد نیتروژن از برگ‌ها می‌باشد (۱۸). همچنین مطابق با نتایج حاضر، محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی برگ نهال‌های پسته (۱) با کاربرد میکوریزا افزایش یافت. رنگیزه‌های فتوستتزی از ترکیبات منیزیم، کربن و نیتروژن تشکیل شده است. میکوریزا با افزایش جذب عناصر غذایی از خاک، به‌ویژه نیتروژن و فسفر، افزایش حجم خاک قابل دسترس ریشه و بهبود روابط آبی گیاه، باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی به‌ویژه کلروفیل در برگ گیاه می‌شود (۱۲).

مشاهده شد. بر اساس نتایج، تلقیح میکوریزا محتوای کاروتنوئید کل را در گیاهان تحت آبیاری نرمال ۵۷/۱ درصد و در گیاهان تحت تنش خشکی ۳۵/۸ درصد افزایش داد. از سویی دیگر، تنش خشکی باعث کاهش محتوای کاروتنوئید کل هم در گیاهان تلقیح نشده و هم در گیاهان تلقیح شده، شد (شکل ۳). همسو با این نتایج، کاهش محتوای کلروفیل برگ نهال‌های توت آمریکایی (۱۵) و محتوای کاروتنوئیدها در گیاه چای (۱۴) تحت شرایط تنش خشکی شدید گزارش شده است. کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش خشکی مربوط به فتواکسیداسیون کلروفیل



شکل ۳- اثر تلقیح بذری قارچ میکوریزا بر محتوای کاروتنوئید برگ لیلکی ایرانی طی تنش خشکی.

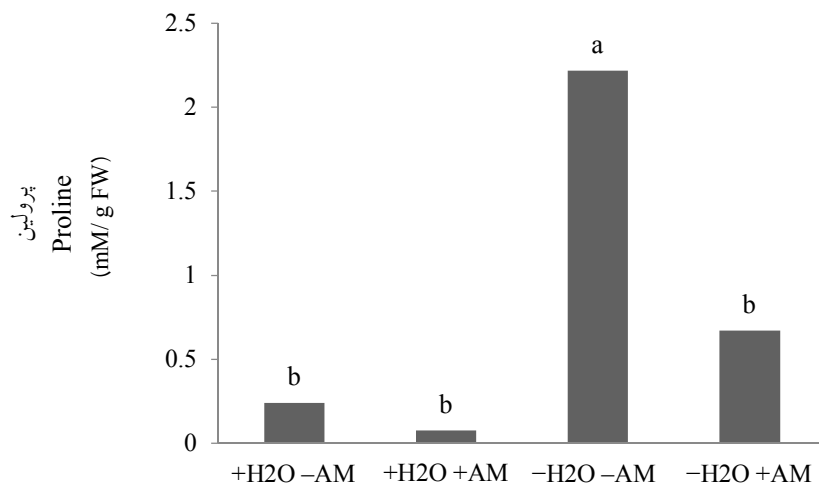
Fig. 3. Effect of seed inoculation with mycorrhiza fungi on carotenoid content of *Gleditsia caspica* leaf during drought stress.

تنش خشکی، افزایش سطوح ترکیبات فنلی (۷) و فلاونوئیدی (۲۵) به‌عنوان پالاینده‌های گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن است. نتایج مطالعات انجام شده روی سیب زمینی (۳) و کلزا (۲۳) نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی، بیان ژن تولیدکننده فنل و فلاونوئید در گیاه افزایش می‌یابد. ترکیبات فنلی به‌عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز، نقش آنتی‌اکسیدانی از خود ایفا می‌کنند (۷). در این مطالعه نیز، تحت تنش خشکی و همچنین تلقیح میکوریزا میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی افزایش یافت. نتایج

محتوای فنل و فلاونوئید کل: تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی شد. میزان ترکیبات فنلی از ۰/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در نهال‌های تحت آبیاری نرمال به ۰/۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در نهال‌های تحت تنش رسید (جدول ۳). از سویی دیگر، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فنلی و فلاونوئیدی در گیاهان تلقیح شده با قارچ آرباسکولار میکوریزا نسبت به گیاهان تلقیح نشده به‌ترتیب ۵۰/۷ و ۴۳/۳ درصد افزایش یافت (جدول ۴). از جمله سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی گیاهان تحت

۶۷/۸ درصد و در گیاهان تحت تنش خشکی ۶۹/۸ درصد کاهش یافت. با این حال، با توجه به کم بودن محتوای پرولین در گیاهان تحت آبیاری منظم، اختلاف معنی‌داری بین نهال‌های تحت تیمار تلقیح قارچ میکوریزا و بدون تلقیح وجود نداشت (شکل ۴). پرولین مهم‌ترین محلول سازگاری است که در گیاهان تحت تنش خشکی به‌ویژه در برگ‌های جوان تجمع پیدا می‌کند. تجمع پرولین به دنبال تنش‌های محیطی در سلول‌های گیاهی از طریق افزایش سنتز یا کاهش تجزیه آن می‌باشد (۱۶). افزایش در محتوای پرولین تحت تنش خشکی در این مطالعه نشان از فرآیند سازگاری این گیاه با شرایط تنش خشکی از طریق تنظیم اسمزی می‌باشد. از سویی، تلقیح میکوریزا باعث تقلیل محتوای پرولین به‌ویژه در گیاهان تحت تیمار تنش خشکی شد. همسو با این نتایج، تجمع کم‌تر پرولین در برگ‌های گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده تحت شرایط تنش در نهال‌های پسته (۱) گزارش شده است. این نتایج ناشی از اثرات حفاظتی قارچ میکوریزا از گیاهان میزبان در برابر تنش خشکی از طریق سازوکارهای اولیه اجتناب از خشکی است (۲۸).

مطالعه سیکاریلی و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان داد که در گیاه کنگرفرنگی تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* نسبت به گیاه تلقیح نشده به میزان ۵۰ درصد از فنل بیش‌تری برخوردار بود (۶). هم‌چنین تیاگی و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی اثر همزیستی قارچ میکوریزا بر گیاه ارزن دریافتند که در شرایط تنش خشکی شدید محتوای فلاونوئیدها در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده به‌طور معناداری بیش‌تر است (۲۶).
محتوای پرولین: محتوای پرولین برگ نهال‌های لیلکی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی و میکوریزا قرار گرفت. تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار پرولین گردید. از سویی دیگر، تلقیح بذور لیلکی با قارچ میکوریزا باعث تقلیل محتوای پرولین چه در گیاهان تحت آبیاری نرمال و چه در گیاهان تحت تنش خشکی شد. بر اساس نتایج، کم‌ترین مقدار پرولین (۰/۲۴ Mm/gFW) متعلق به نهال‌های تلقیح شده و تحت آبیاری نرمال بود و بیش‌ترین مقدار پرولین (۲/۲۲ Mm/gFW) در نهال‌های تلقیح نشده و تحت تنش خشکی مشاهده شد (شکل ۴). با تلقیح میکوریزا، محتوای پرولین در گیاهان تحت آبیاری منظم



شکل ۴- اثر تلقیح بذری قارچ میکوریزا بر محتوای پرولین برگ لیلکی ایرانی طی تنش خشکی.

Fig. 4. Effect of seed inoculation with mycorrhiza fungi on proline content of *Gleditsia caspica* leaf during drought stress.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن بود که تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک نهال‌های یکساله لیلکی ایرانی اثر سوء داشت؛ به‌گونه‌ای که تحت اثر تنش خشکی محتوای آب نسبی برگ‌ها، رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a و b، درصد ماده خشک اندام‌های هوایی و ریشه و شاخص پایداری غشاء کاهش یافت. این نتایج حاکی از حساس بودن لیلکی ایرانی در این مرحله از رشد، یعنی مرحله نونهالی و استقرار نهال‌ها، به خشکی است. تلقیح ریشه نهال‌های لیلکی ایرانی با قارچ آرباسکولار میکوریزا باعث بهبود محتوای آب نسبی، شاخص پایداری غشاء، درصد ماده خشک ریشه، محتوای کلروفیل a و b، محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل شد. همچنین با توجه به افزایش درصد ماده خشک اندام هوایی و محتوای کاروتنوئید و کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی شدید در نهال‌های تلقیح شده نسبت به نهال‌های تلقیح نشده، می‌تواند ناشی از تقلیل اثرات تنش خشکی ناشی از میکوریزا باشد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل: با اعمال تنش خشکی ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل از ۵۱/۶ میلی‌گرم معادل اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک برگ در گیاهان شاهد به ۶۵/۷ میلی‌گرم معادل اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک برگ در گیاهان تحت تنش افزایش یافت. به‌عبارتی، تنش خشکی ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل را ۲۷/۳ درصد افزایش داد (جدول ۳). هم‌چنین ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل در نهال‌های تلقیح‌شده با قارچ میکوریزا ۷۵/۷ میلی‌گرم معادل اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک برگ بود که ۸۲ درصد بیش‌تر از گیاهان تلقیح نشده بود (جدول ۴). بر این اساس، چه تنش خشکی و چه تلقیح میکوریزا باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد. به‌خوبی نشان داده شده است که مقاومت گیاهان به تنش‌ها بستگی به کاهش خسارت اکسیداتیو از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دارد (۲۷). همزیستی گیاه با قارچ آرباسکولار میکوریزا باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد که خود باعث کمک به گیاه برای مقابله با تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (۱). با تلقیح ریشه گیاهان با قارچ میکوریزا سطح H_2O_2 کاهش می‌یابد که این کاهش سطح در گیاهان تلقیح شده با مقاومت به تنش‌ها همبستگی دارد (۱، ۹ و ۲۷).

منابع

1. Abbaspour, H., Saedi-Sarb, S., Afsharia, H. and Abdel-Wahhab, M.A. 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Plant Physiol.* 169: 704-709.
2. Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I. and Sadikun, A. 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food Chem.* 93: 311-317.
3. Andre, C.M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefevre, I., Aliaga, C.A.A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.F., Larondelle, Y. and Evers, D. 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry.* 70: 9. 1107-1116.
4. Bainard, L.D., Klironomos, J.N. and Gordon, A.M. 2011. The mycorrhizal status and colonization of 26 tree species growing in urban and rural environments. *Mycorrhiza.* 21: 2. 91-96.

5. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*. 39: 205-207.
6. Ceccarelli, N., Curadi, M., Martelloni, L., Sbrana, C., Picciarelli, P. and Giovannetti, M. 2010. Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. *Plant Soil*. 335: 311-323.
7. Chang, W.C., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K. and Kim, S.K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci*. 163: 1161-1168.
8. Djeridane, A., Yousfi, M. and Nadjemi, B. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chem*. 97: 654-660.
9. Fouad, M.O., Essahibi, A., Benhiba, L. and Qaddoury, A. 2014. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of olive plants against oxidative stress induced by drought. *Agric. Res*. 12: 3. 763-771.
10. Frosi, G., Barros, V.A., Oliveira, M.T. Santos, M., Ramos, D.G. Maia, L.C. and Santos M.G. 2016. Symbiosis with AMF and leaf Pi supply increases water deficit tolerance of woody species from seasonal dry tropical forest. *Plant Physiol*. 207: 84-93.
11. Giovannetti, H.W. and Mosse, B. 1980. An evaluation techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhiza infection in roots. *New Phytol*. 84: 489-500.
12. Goss, M.J., Carvalho, M. and Brito, I. 2017. *Functional Diversity of Mycorrhiza and Sustainable Agriculture: Management to Overcome Biotic and Abiotic Stresses*. Academic Press. 254p.
13. Huxley, A., Griffiths, M. and Levy, M. 1999. *The New RHS Dictionary of Gardening*. MacMillan Press, ISBN 0333770188.
14. Jeyaramraja, P.R., Meenakshi, S.N., Kumar, R.S., Joshi, S.D. and Ramasubramanian, B. 2005. Water deficit induced oxidative damage in tea (*Camelia sinensis*) plants. *J. Plant Physiol*. 162: 413-419.
15. Khaleghi, A. 2014. Study of resistance to freezing temperatures and response to drought in *Maclura pomifera* for urban greenspace application. Ph.D. Thesis. College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, 196p. (In Persian)
16. Khaleghi, A., Naderi, R., Brunetti, C., Maserti, B.E., Salami, S.A. and Babalar M. 2019. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress. *Sci. Rep*. 9, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55889-y>.
17. Khaleghi, A., Naderi, R., Salami, A., Babalar, M., Roohollahi, I. and Khaleghi, G. 2016. Evaluation of Salicylic acid and spermidine on reduce drought stress injuries of one-year-old *Maclura pomifera* seedlings. *J. Crop. Improv*. 18: 1. 231-244. (In Persian)
18. Kranner, I., Beckett, R.P., Wornik, S., Zorn, M. and Pfeifhofer H.W. 2002. Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *Plant J*. 31: 13-24.
19. Lichtenthaler, H.K. and Wellburnt, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans*. 11: 591-592.
20. Martinova, V., van Geel, M., Lievens, B. and Honnay, O. 2016. Strong differences in *Quercus robur*-associated ectomycorrhizal fungal communities along a forest-city soil sealing gradient. *Fungal Ecol*. 20: 88-96.
21. Noroozi-Raeis-Danaie, M., Mirzaie-Nodoushan, H., Maddah-Arefi, H. and Jafari, A.A. 2009. Spiny trunk in Caspian locust (*Gleditsia caspica*) and its variation in half-sib progenies. *IJGPB*. 17: 2. 222-233. (In Persian)
22. Ortega, U., Dunabeitia, M., Menendez, S., Gonzalez-Murua, C. and Majada, J. 2004. Effectiveness of mycorrhizal inoculation in the nursery on growth and water relations of *Pinus radiata* in different water regimes. *Tree Physiol*. 24: 65-73.

23. Sangtarash, M.H., Qaderi, M.M., Chinnappa, C.C. and Reid, D.M. 2009. Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to Ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. *Environ. Exp. Bot.* 66: 2. 212-219.
24. Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16: 144-158.
25. Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massari, R., Remorini, D. and Agati, G. 2004. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytol.* 163: 547-561.
26. Tyagi, J., Varma, A. and Pudake, R.N. 2017. Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and endophyte (*Piriformospora indica*) association with finger millet (*Eleusine coracana*) under drought stress. *Eur. J. soil biol.* 81: 1-10.
27. 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.
28. Yooyongwech, S., Phaukinsang, N., Cha-um, S. and Supaibulwatana, K. 2013. Arbuscular mycorrhiza improved growth performance in *Macadamia tetraphylla* L. grown under water deficit stress involves soluble sugar and proline accumulation. *Plant Growth Regul.* 69: 285-293.