Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 48, No 4, Winter 2018 (855-873)
DOI: 10.22059/ijhs.2018.202831.969

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۶ (ص ۸۷۳-۸۵۵)

تأثیر همزیستی قارچ قارچ‌ریشه بر ویژگی‌های رویشی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چهار جنس گراس سردسیری در شرایط تنش خشکی

حامد اشراف[۱]، هدایت زکی‌زاده[۲*]، سید محمدرضا احتشامی[۲] و محمدحسن بیگلویی[۲]
۱ و ۲. دانشجوی سابق دکتری و استادیار، دانشکدهٔ علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۲/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۲۷)

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثرگذاری‌های سه گونهٔ قارچ قارچ‌ریشه یا میکوریزا (*Glomus clarum*، *Glomus fasiculatum* و *Glomus mosseae*) و تنش خشکی (با سه سطح رطوبتی ۸۰ ، ۵۵ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بر ویژگی گراس‌های لولیوم چندساله (*Lolium perenne*)، پوآی چندساله (*Poa pratensis*)، فستوکای پابلند (*Festuca aurandiancea*) و اگروپیرون (*Agropyron elongatum*)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه با استفاده از گلدان‌های استوانه‌ای انجام شد. نتایج نشان داد، بیشترین درصد پرگنه (کلنی)سازی ریشه را گراس لولیوم چندساله با گونهٔ موسهآ و کمترین درصد را پوآی چندساله با گونهٔ کلاروم داشتند. درصد پرگنه‌سازی هر سه گونهٔ قارچ با ریشهٔ لولیوم چندساله و فستوکای پابلند در نتیجهٔ تنش خشکی، کاهش ولی درصد پرگنه‌سازی گونه‌های کلاروم و فسیکولاتوم با ریشهٔ اگروپیرون و پوآی چندساله افزایش یافت. قارچ‌های فسیکولاتوم و موسهآ، سبزینه (کلروفیل) و کارتنوئید برگ گراس‌های همزیست با آن‌ها را در بالاترین سطح تنش، بیش از ۳۸ درصد افزایش دادند. گراس‌های همزیست با موسهآ بیشترین محتوای نسبی آب برگ و کمترین نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید را نسبت به گراس‌های همزیست با دیگر گونه‌های قارچ داشتند. درمجموع قارچ‌ریشه توانست تأثیر سوء تنش خشکی بر چمن را کاهش دهد ولی تمایل به همزیستی و تأثیر گونه‌های مختلف آن بر گراس‌های تحت تنش متفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: اگروپیرون، پوآ ، فستوکا، گلوموس، لولیوم چندساله.

Effect of mycorrhiza fungi on morphological, physiological and biochemical characteristics of four cool Season grass genera under drought stress conditions

Hamed Ashraf[1], Hedayat Zakizadeh[2*], Seyed Mohammad Reza Ehtesham[2] and Mohammad Hossein Biglouei[2]
1, 2. Former Ph.D. Student and Assistant Professor, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
(Received: Mar. 12, 2016 - Accepted: Oct. 18, 2016)

ABSTRACT

In order to evaluate three species of mycorrhizal fungi (*Glomus clarum*, *Glomus fasiculatum* and *Glomus mosseae*) and drought stress (80, 55 and 30 percent of field capacity) on characteristics of grass genera, *Lolium perenne*, *Poa pratensis*, *Festuca aurandiancea* and *Agropyron elongatum*, a factorial experiment based on randomized complete block design was carried out in the greenhouse using a cylindrical pots. According to the results, *Lolium* showed the highest root colonization with *G. mosseae* while *Poa* showed the lowest colonization with *G. clarum*. Drought stress reduced the root colonization of *Festuca* and *Lolium* in all mycorrhizal treatments, but increased the root colonization of *Agropyron* and *Poa with G. clarum* and *G. fasiculatum*. At highest level of stress, *G. fasiculatum* and *G. mosseae* increased the chlorophyll and carotenoid contents of grass genera, more than 38 percent. Grasses symbiotic with *G. mosseae* showed the highest relative water content and lowest electrolyte leakage and malondialdehyde content compared to grasses symbiotic with other species of mycorrhizae. In general, mycorrhizal fungi could reduce the adverse effects of drought stress on grass characteristics, but the tendency to symbiosis and that's influence on the grass genera under stress, were different.

Keywords: Agropyron, Festuca, Glomus, Lolium, Poa.

* Corresponding author E-mail: Zakizadeh@guilan.ac.ir; Zakizadeh55@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

فضاهای سبز به لحاظ زیست‌محیطی به‌عنوان شریان‌های حیاتی شهرها هستند و با توجه به رشد روزافزون شهرنشینی ایجاد فضاهای سبز کلان ضروری است (Domiri *et al*., 2011). چمن‌ها مهم‌ترین گیاهان پوششی با توان پاخوری بالا هستند که در زمین‌های ورزشی و فضای سبز کاربرد گسترده‌ای دارند و به‌ندرت می‌توان جایگزینی برای آن‌ها در فضای سبز پیدا کرد (Kafi & Kaviani, 2002). ازآنجایی‌که شرایط آب و هوایی بیشتر مناطق ایران خشک و نیمه‌خشک با میانگین بارندگی حدود ۲۵۰ میلی‌متر در سال است، رفع نیاز آبی چمن در ماه‌های گرم سال بسیار دشوار است (Tehranifar *et al*., 2009; Amiri & Eslamian, 2010) و همچنین پیش‌بینی‌شده که کشور ایران در سال ۲۰۲۵ میلادی، جزء کشورهای روبه‌رو با بحران آب خواهد بود (Alcamo *et al*., 2000). در چمن پوآی چندساله، تنش خشکی سبب افزایش میزان نشت الکترولیت و مالون دی آلدهید شده است (Jinrong *et al*., 2008). تنش خشکی رشد شاخساره و میزان سبزینهٔ (کلروفیل) برگ چمن پوآ را کاهش ولی نشت یونی را افزایش داده است (Tatari *et al*., 2013). بهره‌وری مصرف فیزیولوژیکی آب (نسبت نورساخت یا فتوسنتز به تعرق) در لولیوم چندساله ۱۵ درصد بیش از فستوکای پابلند است، در نتیجه فستوکای پابلند مصرف‌کننده و لولیوم چندساله ذخیره‌کنندهٔ آب در تنش خشکی است (Butler, 2008).

قارچ‌های قارچ‌ریشه (میکوریزا) بخش جدایی‌ناپذیر قسمت‌های کاربردی ریشه‌های گیاهان همزیست با آن‌ها هستند و با افزایش سطح جذب ریشه و تغییر سرعت حرکت آب در خارج و درون گیاهان میزبان، جذب آب توسط گیاه را بهبود بخشیده و تحمل آن‌ها به تنش خشکی را افزایش داده است (Auge, 2001). قارچ‌های وزیکولار آربوسکولار میکوریزا در سال‌های اخیر برای رویارویی با کم‌آبی و خشکی در بسیاری از گیاهان استفاده شده‌اند (Song, 2005). گونه‌های گراس در دوره‌های رشدی و کسب مواد غذایی به میزان زیادی از قارچ‌ریشه سود می‌برند و چمن‌های فصل سرد از جمله گونه‌های بنت گرس با قارچ‌ریشه به‌ویژه هنگامی‌که میزان فسفر خاک پایین باشد، ارتباط زیادی برقرار کرده‌اند (Gemma *et al*., 2008). گونه‌های گلوموس موسهآ و گلوموس اینترارادیسز (*Glomus intraradices*) ارتباط خوبی با چمن لولیوم چندساله برقرار کرده و میزان سبزینه، وزن تر و خشک ریشه را افزایش داده‌اند (Kafi *et al*., 2013).

قارچ قارچ‌ریشه کارایی مصرف آب گراس اگروپیرون تحت تنش خشکی را افزایش داده است (Di & Allen, 1991). قارچ‌ریشه در چمن زیست‌تودهٔ بیشتری در سطح زمین ایجاد کرده و همچنین گونهٔ گلوموس اینترارادیسز مقاومت به خشکی را در چمن اگروستیس افزایش داده است (Pelletier & Dionne, 2004). قابلیت گونه‌های مختلف قارچ قارچ‌ریشه برای همزیستی با چمن‌های اگروستیس و لولیوم چندساله متفاوت است (Gollotte *et al*., 2004). قارچ میکوریزا شاخص‌های رشد رویشی و محتوای نسبی آب گیاه مرزه را در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به‌طور معنی‌داری افزایش داد و درمجموع سبب افزایش مقاومت به تنش خشکی در گیاه مرزه شد (Esmaeelpour *et al*., 2013). با کاهش میزان رطوبت خاک، ارتفاع بوته، شمار و سطح برگ، مادهٔ تر و خشک و میزان سبزینه در گیاه ریحان کاهش‌یافته و گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ‌های قارچ‌ریشه در مقایسه با گیاهان مایه‌کوبی‌نشده رشد و عملکرد بیشتری هم در شرایط تنش خشکی و هم در شرایط بدون تنش داشتند. تأثیر گلوموس موسهآ در کاهش تأثیر خشکی بیشتر از قارچ گلوموس اینترارادیسز است (Aslani *et al*., 2011). در گیاه گندم محتوای سبزینهٔ برگ با حضور قارچ قارچ‌ریشه نسبت به شاهد افزایش چشمگیری داشته و با افزایش سطح تنش خشکی از ۱۰۰ به ۲۵ درصد ظرفیت زراعی، محتوای سبزینهٔ کل کاهش معنی‌داری نشان داده ولی این کاهش در شرایط حضور قارچ قارچ‌ریشه نسبت به شاهد بسیار کمتر بوده است (Saedmoocheshi & Heidari, 2011). در نتایج پژوهش‌های موجود، اطلاعات درزمینهٔ واکنش‌های ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) و

Archive of SID

www.SID.ir

فیزیولوژیکی گراس‌های چمنی نسبت به تنش خشکی و تأثیر همزیستی قارچ‌ریشه بر کاهش تنش خشکی در گراس‌ها بسیار محدود است. لذا در این پژوهش، تأثیر سه گونه قارچ قارچ‌ریشه، در شرایط تنش خشکی بر ویژگی‌های گیاهی چهار جنس گراس چمنی سردسیری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل با سه عامل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. عامل اول شامل چهار جنس گراس‌های چمنی لولیوم چندساله (*Lolium perenne* cv.Grassland Nui)، پوآی چندساله (*Poa pratensis* cv. Shadegan)، فستوکای پابلند (*Festuca aurandiancea* cv.Asterix) و اگروپیرون (*Agropyron elongatum* (Host). Beauv.) و عامل دوم شامل سه گونهٔ قارچ قارچ‌ریشه‌ای گلوموس فسیکولاتوم (*Glomus fasiculatum*)، گلوموس کلاروم (*Glomus clarum*)، گلوموس موسهآ (*Glomus mosseae*) و بدون تلقیح و عامل سوم شامل سه سطح تنش خشکی (۸۰ درصد، ۵۵ درصد و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بود. که درمجموع با ۴۸ تیمار در سه تکرار انجام گرفت. بستر کشت که خاکی با بافت شنی لومی بود در دمای ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۱/۵ ساعت اتوکلاو شد و آنگاه ۵۰ گرم مایهٔ تلقیح قارچ قارچ‌ریشه (که حاوی ۲۵۰ تا ۳۵۰ زادمایه یا پروپاگول بود)، پیش از پر کردن کامل ظرف‌های کشت (از جنس پلی‌اتیلن با قطر دهانهٔ ۱۶ و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر) در عمق فعالیت ریشه‌ها ریخته شد و در تیمار بدون تلقیح میزان یکسانی از مایهٔ تلقیح اتوکلاو شده ریخته شد. پس از پر کردن کامل ظرف‌های کشت، بذرهای گراس متناسب با سطح ظرف و گونهٔ گراس توزین و به‌صورت دستی کاشته شدند. روی بذرها به ارتفاع حدود ۰/۵ سانتی‌متر با پیت پوشیده و تا سبز شدن بذرها، بر پایهٔ ظرفیت نگهداری رطوبتی خاک، روزانه آبیاری شدند و پس از سبز شدن بذرها خاک تا ۸۰ درصد ظرفیت زراعی آبیاری شد. گراس‌ها نخستین بار پس از رسیدن به ارتفاع ۷ سانتی‌متر سرزنی شدند و پس از آن سرزنی گراس‌ها به‌صورت هفتگی انجام شد. کوددهی یک ماه پس از تاریخ کاشت آغاز و پس از هر بار سرزنی با کود کامل (۲۰-۲۰-۲۰) انجام شد. پس از استقرار کامل گراس‌ها که حدود ۶۰ روز طول کشید، گراس‌ها بر پایهٔ تیمارهای تعریف‌شده در شرایط تنش خشکی قرار گرفتند. زمان آبیاری با استفاده از کلش‌سنج (تانسیومتر) و بلوک گچی تعیین شد. ضریب‌های مدیریت آبیاری بر پایهٔ منحنی رطوبتی خاک که پیش از آغاز آزمایش با به‌کارگیری کلش‌سنج و بلوک‌های گچی رسم شده بود مشخص شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش که از نظر آبیاری و زراعی اهمیت دارند در جدول ۱ آمده است. در هر نوبت آبیاری خاک تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شد. میزان آبی که در هر نوبت آبیاری به ظرف‌های کشت داده شد، بر پایهٔ رابطهٔ ۱ محاسبه شد (Alizadeh, 2004).

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

V_n میزان آب داده شده به هر ظرف کشت در هر نوبت آبیاری (میلی‌لیتر). Fc رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد). PWP نقطهٔ 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 (رطوبت موجود در خاک در زمان آبیاری ۸۰ درصد حد ظرفیت زراعی بود)، در تنش ملایم ۰/۴۵ (رطوبت موجود در خاک در زمان آبیاری ۵۵ درصد حد ظرفیت زراعی بود) و در تنش شدید ۰/۷ (رطوبت موجود در خاک در زمان آبیاری ۳۰ درصد حد ظرفیت زراعی بود) در نظر گرفته شد.

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این بررسی

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

Bulk density (g/cm^3)	Texture	Cla (%)	Silt (%)	Sand (%)	K (ava) (ppm)	P (ava) (ppm)	Total N (%)	Organic carbon (%)	pH	Ec (ds/m)
1.33	Sandy loam	10	14	76	56	6.4	0.053	0.27	7.3	0.39

Archive of SID

www.SID.ir

پس از اعمال تنش خشکی صفاتی مانند وزن تر و خشک شاخساره، شمار برگ، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، میزان سبزینه، کارتنوئید برگ و درصد پرگنه (کلنی)سازی اندازه‌گیری شد.

وزن تر و خشک شاخساره و شمار برگ زنده

شاخسارهٔ ده عدد گیاه (که به‌صورت تصادفی انتخاب شده بودند) از سطح بستر جدا و درون پلاستیک زیپ‌دار و روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. وزن تر آن‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و میانگین بر پایهٔ گرم گزارش شد. شمار برگ‌های سبز شاخساره‌ها، شمارش و میانگین گرفته شد. پس از آن شاخساره‌ها به پاکت‌های کاغذی منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجهٔ سلسیوس، خشک شدند و سپس وزن خشک آن‌ها با همان ترازو، اندازه‌گیری و میانگین بر پایهٔ گرم گزارش شد.

محتوای نسبی آب (RWC) برگ

برای اندازه‌گیری این صفت، در آغاز ده عدد برگ توسعه‌یافته به‌صورت تصادفی از گیاهچه‌های هر گلدان نمونه‌برداری و درون فالکون‌های درپوشدار روی یخ به‌سرعت به آزمایشگاه منتقل شد. ده عدد برگ به طول یکسان ۷ سانتی‌متر بریده و وزن تر آن‌ها (W_f) تعیین شد. به‌منظور تعیین وزن برگ در حالت آماس یا تورژسانس (W_t)، ده عدد برگ دوباره به فالکون‌ها منتقل و آب مقطر اضافه و به مدت ۴ ساعت در شدت نور کم و دمای ۱۰ درجهٔ سلسیوس درون سردخانه قرار گرفتند. سپس، برگ‌های آماس یافته، پس از خشک کردن آب سطحی آن‌ها (با دستمال‌کاغذی به‌آرامی و سریع) توزین شدند. به دنبال آن، برگ‌ها در دمای ۷۵ درجهٔ سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک و وزن خشک آن‌ها (W_d) نیز اندازه‌گیری شد و RWC (برحسب درصد) از رابطهٔ ۲ به دست آمد (Barrs & Weatherley, 1962).

$$RWC = [(W_f - W_d)/ (W_t - W_d)] \times 100 \qquad (۲)$$

نشت الکترولیت (EL)

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت ده عدد برگ از هر ظرف کشت نمونه‌برداری و با آب مقطر شسته و به طول ۵ میلی‌متر بریده شدند. ۰/۵ گرم از قطعه‌های برگ را به لولهٔ آزمایش منتقل و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی اولیه (EC_1) با استفاده از دستگاه هدایت الکتریکی (ECسنج) (Milwaukee Mi 306) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده و بعد تا دمای ۲۵ درجه خنک شدند، آنگاه هدایت الکتریکی ثانویه (EC_2) اندازه‌گیری شد و نشت الکترولیت با استفاده از رابطهٔ ۳ محاسبه شد (Blum & Ebercon, 1981; Valentovic *et al.*, 2006).

$$EL= (EC_1/EC_2) \times 100 \qquad (۳)$$

ویژگی‌های بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری میزان سبزینه، کارتنوئید و مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس‌های مورد آزمایش، میزانی برگ تازه در یک هاون چینی با حضور نیتروژن مایع ساییده شد تا به‌صورت تودهٔ یکنواختی درآمد. سپس ۰/۲۵ گرم از این پودر در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری و ۰/۱ گرم از آن در یک ریزلولهٔ ۲ میلی‌لیتری دیگر، توزین شد.

غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA)

برای سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدهید، به ریزلوله‌های حاوی ۰/۲۵ گرم پودر برگ، ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج اضافه و تکان داده (ورتکس) شد و آنگاه به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس، سانتریفوژ (Eppendorf centrifuge 5417 R) شدند. پس از پایان سانتریفوژ به ۵۰۰ میکرولیتر از عصارهٔ رویی، ۵۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید، اضافه شد. مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس در حمام آب گرم قرار گرفت و سپس لوله‌های آزمایش در یخ سرد و بی‌درنگ به مدت ده دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس سانتریفوژ شد.

Archive of SID

www.SID.ir

درنهایت جذب محلول رویی در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب رنگیزه‌های غیراختصاصی در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر تعیین و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر شد. برای محاسبهٔ غلظت مالون‌دی‌آلدهید از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد (Heath & Parker, 1968).

غلظت رنگیزه‌ها

برای اندازه‌گیری غلظت سبزینهٔ a، b و کاروتنوئید، به ریزلوله‌های حاوی ۰/۱گرم پودر برگ، ۱/۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد و آنگاه به مدت ده دقیقه در محیط تاریک قرار گرفتند. سپس عصارهٔ به‌دست‌آمده با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی برداشته و با استفاده از استون ۸۰ درصد طوری رقیق شد که عدد خوانده‌شده به‌وسیلهٔ طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) خیلی بالا نباشد و جذب نور در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر (سبزینهٔ a)، ۶۴۵ نانومتر (سبزینهٔ b) و۴۷۰ نانومتر (کاروتنوئیدها) توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (Specord ، مدل S-600) و با استفاده از استون ۸۰ درصد به‌عنوان شاهد (blank) خوانده شد. غلظت هر یک از رنگیزه‌ها در عصاره برحسب میکروگرم در میلی‌لیتر با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (Arnon, 1949; Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

$$Chl_a\ (\mu g/ml) = (12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})$$

$$Chl_b\ (\mu g/ml) = (22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})$$

$$Carotenoids\ (\mu g/ml) = (1000\ A_{470} - 2.27\ Chl_a - 81.4\ Chl_b)/229$$

درصد پرگنه‌سازی قارچ‌ریشه‌ای ریشه‌ها

برای تعیین درصد پرگنه‌سازی، ریشه‌های نمونه‌برداری شده با آب به‌خوبی شسته و پس از آن در محلول ۵۰ درصد الکل اتیلیک نگهداری شدند. پس از خارج کردن ریشه‌ها از محلول، سه بار با آب معمولی شسته و پس از اضافه کردن هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد، به مدت ۱۵ دقیقه برای لولیوم چندساله و فستوکای پابلند و ۲۰ دقیقه برای اگروپیرون و پوآی چندساله در دمای ۱۲۰ درجهٔ سلسیوس و فشار ۱/۲ اتمسفر، اتوکلاو شدند. پس از اتوکلاو، ریشه‌ها سه مرتبه با آب معمولی شسته شده و به مدت سه دقیقه در داخل کلریدریک اسید ۱ درصد قرار گرفتند. پس 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) به مدت ۴۸ ساعت و در دمای اتاق به‌منظور رنگ‌پذیری ساختمان‌های قارچی قارچ‌ریشه (آربوسکول، وزیکول و هیف) غوطه‌ور شدند (Philips & Hayman, 1970). سپس ریشه‌ها از محلول تریپان بلو خارج شده و شش قطعهٔ ۴ سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به‌صورت تصادفی انتخاب و روی دو عدد لام قرار گرفتند و پس از اضافه کردن گلیسرول۵۰ درصد و قرار دادن لامل روی آن‌ها، در زیرمیکروسکوپ مجهز به عدسی چشمی مدرج و با بزرگ‌نمایی ۲۰۰ برابر ارزیابی شدند. میزان کلنی‌سازی ریشه با برآورد طولی از ریشه، که به ساختمان‌های قارچی وزیکول و آرباسکول آلوده باشند به‌صورت درصد محاسبه شد (Mcgonigle *et al.*, 1990).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و MSTAT-C و رسم نمودار با استفاده از Excel و مقایسهٔ میانگین‌ها بر پایهٔ آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیک

وزن تر و خشک شاخساره و نسبت آن‌ها

نتایج گویای آن بود که با افزایش تنش خشکی وزن تر و خشک شاخساره به‌طور معنی‌دار کاهش، ولی نسبت وزن خشک به تر افزایش می‌یابد که این مطلب نشان‌دهندهٔ این نکته است که تنش خشکی رطوبت شاخساره را بیش از مادهٔ خشک آن کاهش می‌دهد (جدول ۳). قارچ قارچ‌ریشه بر وزن تر و خشک شاخساره تأثیر معنی‌داری داشت. به‌طوری‌که حضور قارچ قارچ‌ریشه سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک شاخساره شد و همچنین نسبت وزن خشک به وزن تر را افزایش داد گرچه معنی‌دار نبود (جدول ۲).

بیشترین وزن تر و خشک را پوآی چندساله و پس از

Archive of SID

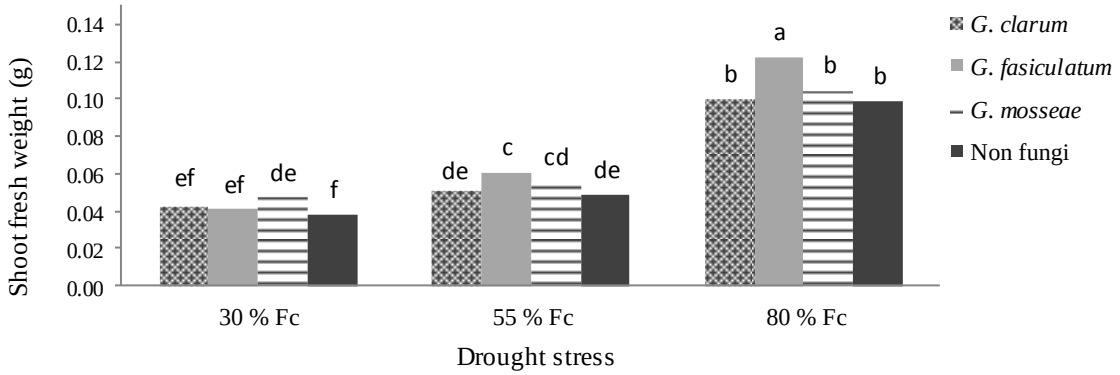
www.SID.ir

آن فستوکای پابلند و کمترین وزن را اگروپیرون داشت، ولی با بررسی نسبت وزن خشک به وزن تر بیشترین نسبت را اگروپیرون و پس از آن فستوکای پابلند و پوآی چندساله و کمترین نسبت را لولیوم چندساله داشت که بیانگر این مطالب است که کمترین میزان رطوبت شاخساره را اگروپیرون و بیشترین آن را لولیوم چندساله داشت. وزن تر و خشک شاخساره با افزایش شدت تنش در گراس لولیوم چندساله کمترین ولی در گراس اگروپیرون بیشترین کاهش معنی‌دار را نسبت به دیگر گراس‌ها نشان داد، ولی با بررسی نسبت وزن خشک به وزن تر شاخسارهٔ جنس‌های مختلف گراس در بالاترین سطح تنش خشکی مشخص شد که گراس فستوکا پابلند و اگروپیرون بیشترین نسبت را داشتند. ولی در شرایط رطوبتی تنش متوسط و بدون تنش بیشترین میزان را گراس اگروپیرون و کمترین آن را گراس لولیوم چندساله داشت (جدول ۳).

با بررسی اثر متقابل مشخص شد که اثر متقابل جنس گراس چمنی و تنش خشکی بر وزن تر و خشک شاخساره معنی‌دار بوده و گونهٔ قارچ قارچ‌ریشه تأثیر تنش خشکی برکاهش وزن تر شاخساره را کاهش داد. این تأثیر بر وزن تر در سطح دوم تنش خشکی یعنی ۵۵ درصد ظرفیت زراعی بیشتر نمایان بود ولی تأثیرش بر وزن خشک تنها در شرایط رطوبتی بدون تنش خشکی معنی‌دار شد (شکل ۱).

گونه‌های قارچ قارچ‌ریشه‌ای فسیکولاتوم و موسه‌آ وزن تر شاخساره را در گراس پوآی چندساله و لولیوم چندساله نسبت به عدم حضور قارچ به‌طور معنی‌دار افزایش داد. قارچ قارچ‌ریشه وزن خشک شاخساره را افزایش داد و این تأثیر تنها برای گراس اگروپیرون معنی‌دار نبود. از این نظر بین گونه‌های مختلف قارچ تفاوت معنی‌دار وجود داشت و بیشترین تأثیر مربوط به گونهٔ فسیکولاتوم و کمترین مربوط به گونهٔ کلاروم بود که احتمال دارد به‌شدت پرگنه‌سازی (کلونیزاسیون) مربوط باشد (جدول ۲).

بنابر نتایج این تحقیق تنش خشکی سبب کاهش وزن تر و خشک شاخساره شد که با نتایج تحقیقات انجام‌شده توسط دیگر محققان همخوانی داشت (Amiri Nasab *et al*., 2015; Tatari *et al*., 2013). از تأثیر آشکار تنش خشکی کاهش وزن اندام‌های هوایی گیاهان است (Amiard *et al*., 2003). در بیشتر چمن‌ها کاهش اندام‌های هوایی یک سازوکار برای سازگاری با تنش خشکی است (Estill *et al*., 1991). تنش خشکی باعث گسترش ریشه به بخش‌های عمیق‌تر و مرطوب‌تر خاک شده و ضمن جلوگیری از توسعهٔ برگ میزان مصرف انرژی در اندام‌های هوایی را کاهش داده و مادهٔ پرورده (آسمیلات) بیشتری را به ریشه برای جذب آب و مواد کانی بیشتر می‌فرستد (Banwarie *et al*., 1994).



شکل ۱. اثر متقابل گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر وزن تر شاخسارهٔ گراس. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 1. Interaction between mycorrhizal fungi species and drought stress (% FC) on shoot fresh weight of grasses. Bars with the same letters are not significantly different at 5 % probability level using Duncan test.

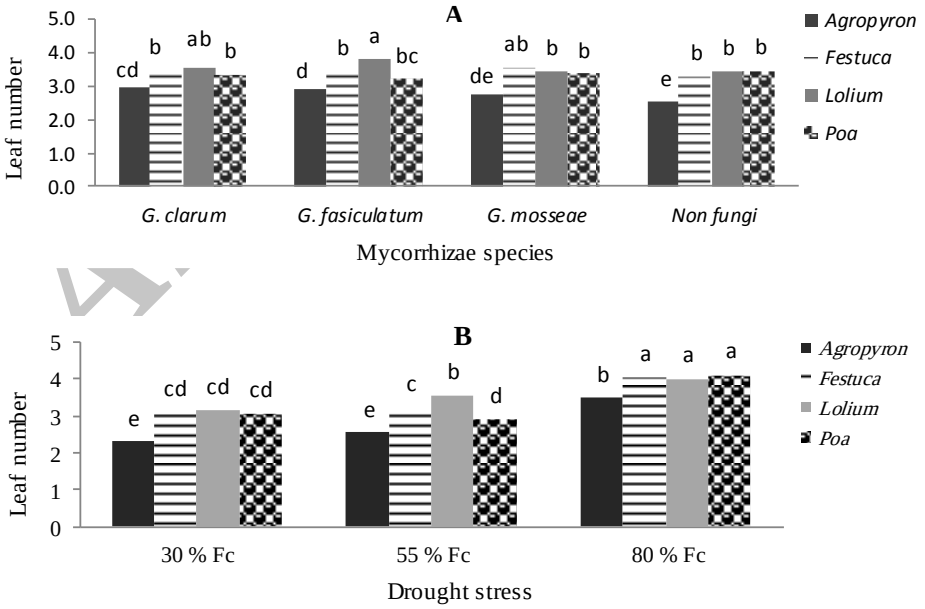
Archive of SID

www.SID.ir

کاهش در وزن تر اندام‌های گیاه تحت تنش آبی می‌تواند در نتیجهٔ نداشتن دسترسی کافی به آب برای آماس یاخته‌ها باشد. کاهش سطح رویشی سبب می‌شود تا توانایی گیاه برای جذب نور و در نهایت تولید مواد نورساختی کاهش یابد که خود دلیلی بر کاهش وزن اندام‌ها است. قارچ قارچ‌ریشه وزن تر و خشک شاخساره را افزایش داد که با نتایج دیگر محققان بر چمن همخوانی داشت (Pelletier & Dionne, 2004). تنش خشکی ضمن کاهش شمار تارهای کشندهٔ ریشه، به ریشه صدمه وارد کرده که نتیجهٔ آن کاهش جذب عنصرهای غذایی است در این زمان ریسه (هیف)های قارچ جانشین شبکهٔ آسیب‌دیدهٔ ریشه شده و به جذب عنصرهای غذایی و آب کمک می‌کند (Wu & Zou, 2009). همزیستی قارچ‌ریشه‌ای سبب گسترش بیشتر اندام هوایی و سطح برگ گیاه شد (Rejali *et al*., 2011).

شمار برگ زنده

با افزایش شدت تنش خشکی شمار برگ زنده به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. کاربرد گونه‌های قارچ قارچ‌ریشه‌ای شمار برگ زنده را افزایش داد. بیشترین شمار برگ را گراس پوآی چندساله با میانگین ۴/۳۳ برگ و کمترین شمار مربوط به گراس اگروپیرون بود. اثر متقابل جنس چمن و قارچ قارچ‌ریشه‌ای سبب شد که گراس لولیوم چندساله بیشترین شمار برگ را داشته باشد. در بین گونه‌های مختلف قارچ قارچ‌ریشه‌ای، گراس‌های همزیست با گونهٔ کلاروم با میانگین ۴/۰۲ برگ بیشترین شمار برگ را داشتند. با بررسی اثر متقابل بین جنس‌های مختلف گراس و گونه‌های مختلف قارچ مشخص شد که در گراس اگروپیرون، قارچ‌های کلاروم و فسیکولاتوم سبب افزایش معنی‌دار شمار برگ شدند. گراس لولیوم چندسالهٔ همزیست با قارچ فسیکولاتوم نسبت به دیگر گونه‌های قارچ برگ بیشتری تولید کرد. در فستوکای پابلند، قارچ قارچ‌ریشه‌ای سبب افزایش شمار برگ شد ولی بین گونه‌های مختلف قارچ تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. در گراس پوآی چندسالهٔ قارچ قارچ‌ریشه‌ای سبب افزایش شمار برگ نشد (شکل ۲).



شکل ۲. اثر متقابل جنس‌های گراس و گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای بر شمار برگ (A) و اثر متقابل جنس‌های گراس و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر شمار برگ (B). ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 2. Interaction between the grass genera and mycorrhizal fungi species on leaf number (A), the interaction of grass species and drought stress (% FC) on leaf number (B). Bars with the same letters are not significantly different at 5 % probability level using Duncan test.

www.SID.ir

بنابر نتایج این تحقیق تنش خشکی سبب کاهش شمار برگ زنده در گراس شد. پیری فرایندی فیزیولوژیکی است که نتیجهٔ آن مرگ و در نهایت ریزش برگ است. پیری برگ یکی از پاسخ‌های گیاه در برابر تنش خشکی است، که سودمندی‌های مانند انتقال مادهٔ پرورده و عنصرهای غذایی به برگ‌های جوان‌تر و ریشه‌ها را دارد و در نهایت با ریزش برگ‌های پیر، میزان تعرق گیاه کاهش می‌یابد. فرایند پیری برگ تحت کنترل هورمون‌های گیاهی است به‌طوری‌که افزایش میزان هورمون آبسزیک اسید، پیری برگ را افزایش ولی افزایش میزان سیتوکنین پیری را کاهش می‌دهد (Munné-Bosch & Alegre, 2004). در این تحقیق، کاهش سطح رویشی سبب شد تا توانایی گیاه برای جذب نور و در نهایت تولید مواد نورساختی کاهش یابد. قارچ قارچ‌ریشه‌ای شمار برگ زنده را افزایش داد که با نتایج بررسی‌های دیگر محققان در ریحان همخوانی داشت (Aslani *et al*., 2011). قارچ‌ریشه با افزایش میزان سایتوکنین و همچنین فسفر گیاه، پیری برگ‌ها را به تأخیر انداخته و اثر سوء تنش خشکی بر پیری برگ را کاهش داده است (Goicoechea *et al*., 1995).

صفات فیزیولوژیکی

محتوای نسبی آب (RWC) برگ

بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ در گراس لولیوم چندساله (با میانگین ۷۸/۲۸ درصد) و کمترین میزان آن در گراس پوآی چندساله (با میانگین ۶۷/۰۵ درصد) مشاهده شد و پس از لولیوم چندساله به ترتیب اگروپیرون و فستوکای پابلند قرار داشتند (شکل ۳). قارچ قارچ‌ریشه بر محتوای نسبی آب برگ در سطح ۵ درصد تأثیر معنی‌دار داشت. از این نظر بین گونه‌های مختلف آن نیز تفاوت معنی‌دار وجود داشت. به‌طوری‌که گونهٔ موسه‌آ سبب بیشترین افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ گراس‌های مورد آزمایش شد (شکل ۴).

تنش خشکی میزان محتوای نسبی آب برگ گراس را از ۹۵/۹ درصد در رطوبت ۸۰ درصد ظرفیت زراعی تا ۴۸/۳ درصد در بیشترین سطح تنش یعنی رطوبت ۳۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش داد. تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ گراس لولیوم چندساله را با کمترین شیب یعنی ۱۷/۳ درصد و به کمترین میزان یعنی ۴۸/۳ درصد نسبت به شرایط بدون تنش کاهش داد. ولی روند این کاهش در پوآی چندساله با بیشترین شیب یعنی ۲۷/۷ درصد بود و به بیشترین میزان یعنی ۵۵/۴ درصد نسبت به شرایط بدون تنش بود (شکل ۳).

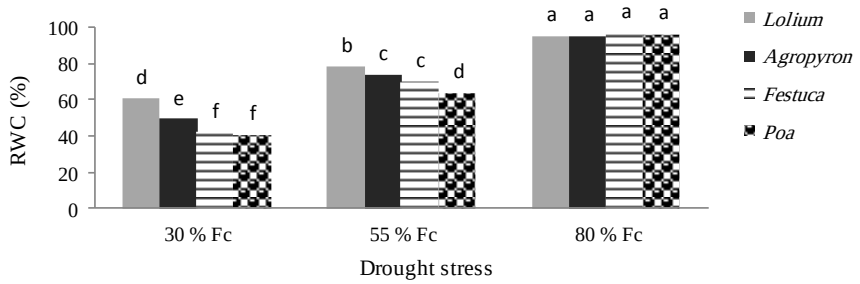
نشت یونی (EL)

تنش خشکی نشت یونی برگ را به‌طور معنی‌داری افزایش داد و بین جنس‌های مختلف گراس از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود داشت (شکل ۶). قارچ قارچ‌ریشه نشت یونی برگ را کاهش داد و بین گونه‌های آن، گونهٔ موسهآ سبب بیشترین کاهش معنی‌دار شد (شکل ۵). در بالاترین سطح تنش، گراس‌ها با میانگین ۳۴/۵ درصد نسبت به تنش متوسط و شرایط بدون تنش، بیشترین میزان نشت یونی را داشتند. بین جنس‌های مختلف گراس چمنی کمترین نشت یونی را به ترتیب گراس لولیوم چندساله و فستوکا و بیشترین میزان نشت یونی را پوآی چندساله داشت. با بررسی اثر متقابل جنس گراس و تنش خشکی مشخص شد که در شرایط بدون تنش بیشترین نشت یونی را اگروپیرون و در شرایط تنش شدید بیشترین نشت یونی را گراس پوآی چندساله با ۴۳/۷ درصد داشت (شکل ۶).

تنش خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ و افزایش نشت یونی شد که با نتایج تحقیقات دیگر محققان در گراس (Amiri Nasab *et al*., 2015; Molaahmad Nalousi *et al*., 2014). همخوانی داشت. محتوای نسبی آب برگ یکی از شاخص‌های شناسایی رقم‌های مقاوم یا حساس به تنش خشکی است. محتوای نسبی آب بالاتر به معنای توانایی برگ در حفظ مقادیر بیشتر آب در شرایط تنش است. گونه‌های مقاوم در رویارویی با خشکی محتوای آب یاخته‌های خود را در حد بالاتری حفظ می‌کنند (Kafi *et al*., 2009). ضخیم بودن پوست (کوتیکول) یکی از عامل‌های مهم حفظ محتوای نسبی آب برگ است و رقم‌هایی که برگ‌های آن‌ها ضخامت پوستی بیشتری داشته باشند، در شرایط خشکی میزان آب بیشتری را در برگ‌های خود حفظ کرده و در برابر خشکی مقاوم‌تر هستند (Arve *et al*., 2011).

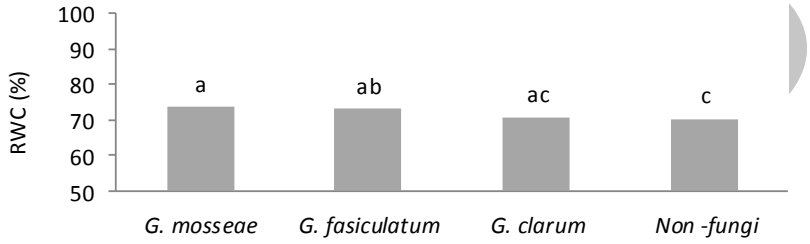
Archive of SID

www.SID.ir



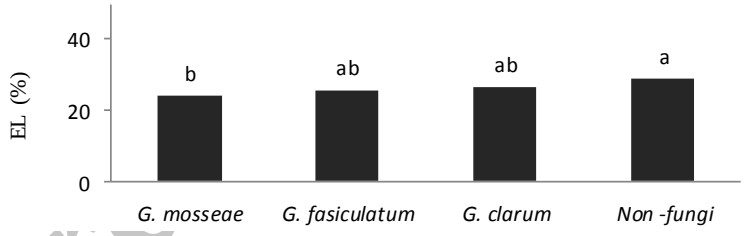
شکل ۳. اثر متقابل جنس‌های گراس و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر محتوای نسبی آب برگ گراس. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 3. Interaction between the grass genera and drought stress (% FC) on relative water content (RWC) of grass leaves. Bars with the same letters are not significantly different at 5 % probability level using Duncan test.



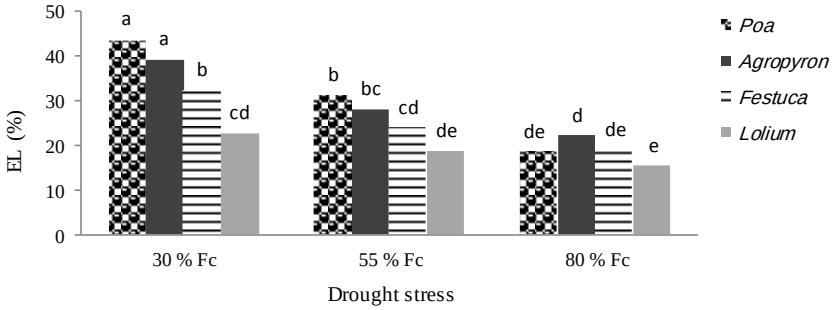
شکل ۴. تأثیر گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای بر محتوای نسبی آب برگ گراس. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 4. The effect of mycorrhizal fungi species on relative water content (RWC) of grass leaf. Bars with the same letters are not significantly different at 5 % probability level using Duncan test.



شکل ۵. تأثیر گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای بر نشت یونی. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 5. The effect of mycorrhizal fungi species on electrolyte leakage (EL). Bars with the same letters are not significantly different at 5 % probability level using Duncan test.



شکل ۶. اثر متقابل جنس‌های گراس و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر نشت یونی. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 6. Interaction between the grass genera and drought stress (% FC) on electrolyte leakage (EL). Bars with the same letters are not significantly different at 5 % probability level using Duncan test.

www.SID.ir

محتوای نسبی آب بالاتر در برگ‌ها ممکن است از طریق قابلیت تنظیم اسمزی و یا توانایی ریشه در جذب آب به دست آید (Schonfeld *et al*., 1998). به نظر می‌رسد که محتوای نسبی آب شاخص مناسب‌تری برای گزینش در جهت مقاومت به خشکی در مقایسه با پتانسیل آب برگ باشد. با افزایش تنش خشکی در گندم محتوای نسبی آب کاهش پیدا می‌کند و به‌طورمعمول ولی نه همیشه رقم‌های مقاوم به خشکی محتوای نسبی آب بالاتری در شرایط تنش خشکی دارند (Schonfeld *et al*., 1998). رقم‌های مختلف گندم در نتیجهٔ اعمال تنش رطوبتی در شرایط گلخانه و مزرعه تفاوت معنی‌داری درزمینهٔ محتوای نسبی آب داشتند، ولی رقم‌های مقاوم به خشکی برتری قابل توجهی را در این زمینه از خود نشان ندادند (Khazaei & Kafi, 2003). میزان نشت یونی با افزایش سطح تنش افزایش یافت و همبستگی منفی با محتوای نسبی آب داشت، این موضوع نشان داد، کاهش محتوای نسبی آب سبب آسیب‌پذیری غشاء و آزادسازی الکترولیت‌های بیشتر شد (Molaahmad Nalousi *et al*., 2014). میزان محتوای نسبی آب چمن لولیوم چندساله در شرایط تنش خشکی بالاتر و نشت یونی آن کمتر از دیگر گونه‌های مورد تحقیق بود. سازوکار مقاومت به خشکی در گراس شامل گریز و تحمل است. اجتناب عبارت از توانایی گراس در به تأخیر انداختن بی‌آب شدن با کاهش تعرق یا افزایش جذب. فستوکای پابلند شبکهٔ ریشه‌ای عمیق داشته که به‌وسیلهٔ آن از خشکی اجتناب می‌کند، ولی هنگامی‌که آب خاک کاهش یابد با توجه به اینکه میزان تبخیر و تعرق آن حدود ۲۰ درصد بیش از دیگر گراس‌های فصل سرد است در معرض خشکی طولانی قرارگرفته و قابل ترمیم نیست. گراس لولیوم چندساله زیرا که ریشهٔ کم‌عمق دارد توانایی جذب آب بالایی ندارد ولی میزان تبخیر و تعرق آن به دلیل تراکم و رشد افقی برگ و همچنین ضخامت موم روی پوست آن پایین است (Huang & Fry, 2000; Huang & Fry, 2004). لذا در شرایطی که عمق خاک محدود باشد لولیوم چندساله به دلیل داشتن میزان تبخیر و تعرق پایین توانایی خوبی برای اجتناب از خشکی دارد.

بین گونه‌های قارچ تنها موسهآ محتوای نسبی آب را افزایش داد ولی همهٔ گونه‌های مورد آزمایش نشت یونی را کاهش دادند که موسهآ از بقیه مؤثرتر بود و این نتیجه با نتایج دیگر محققان بر مرزه و ریحان (Aslani *et al*., 2011; Esmaeelpour *et al*., 2013) همخوانی داشت. با توجه به یکسان نبودن گرایش به همزیستی گونه‌های مختلف گراس با قارچ قارچ‌ریشه‌ای (Gollotte *et al*., 2009) می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر همزیستی بین گونه‌های قارچ و گراس بر اجتناب از خشکی، بستگی به نوع و شدت آن دارد.

میزان سبزینه و کارتنوئید برگ

پاسخ جنس‌های مختلف گراس به تنش خشکی به لحاظ محتوای سبزینه و کارتنوئید برگ متفاوت بود. در گراس لولیوم چندساله با افزایش تنش خشکی میزان سبزینهٔ a و b کاهش یافت ولی این کاهش برای سبزینهٔ b معنی‌دار نبود. میزان کارتنوئید گراس لولیوم چندساله به‌رغم افزایش در تنش متوسط در تنش شدید کاهش یافت. در دیگر جنس‌های گراس چمنی با افزایش تنش میزان سبزینهٔ a، b و کارتنوئید کاهش نیافت. گراس لولیوم چندساله در شرایط بدون تنش نسبت به دیگر گراس‌ها سبزینهٔ a و b کمتر ولی کارتنوئید بیشتری داشت درحالی‌که در گراس پوآی چندساله برعکس لولیوم چندساله در شرایط بدون تنش نسبت به دیگر گراس‌ها سبزینه بیشتر ولی کارتنوئید کمتری داشت. در بین جنس‌های گراس در بالاترین سطح تنش گراس لولیوم چندساله کمترین میزان کارتنوئید را داشت (جدول۳).

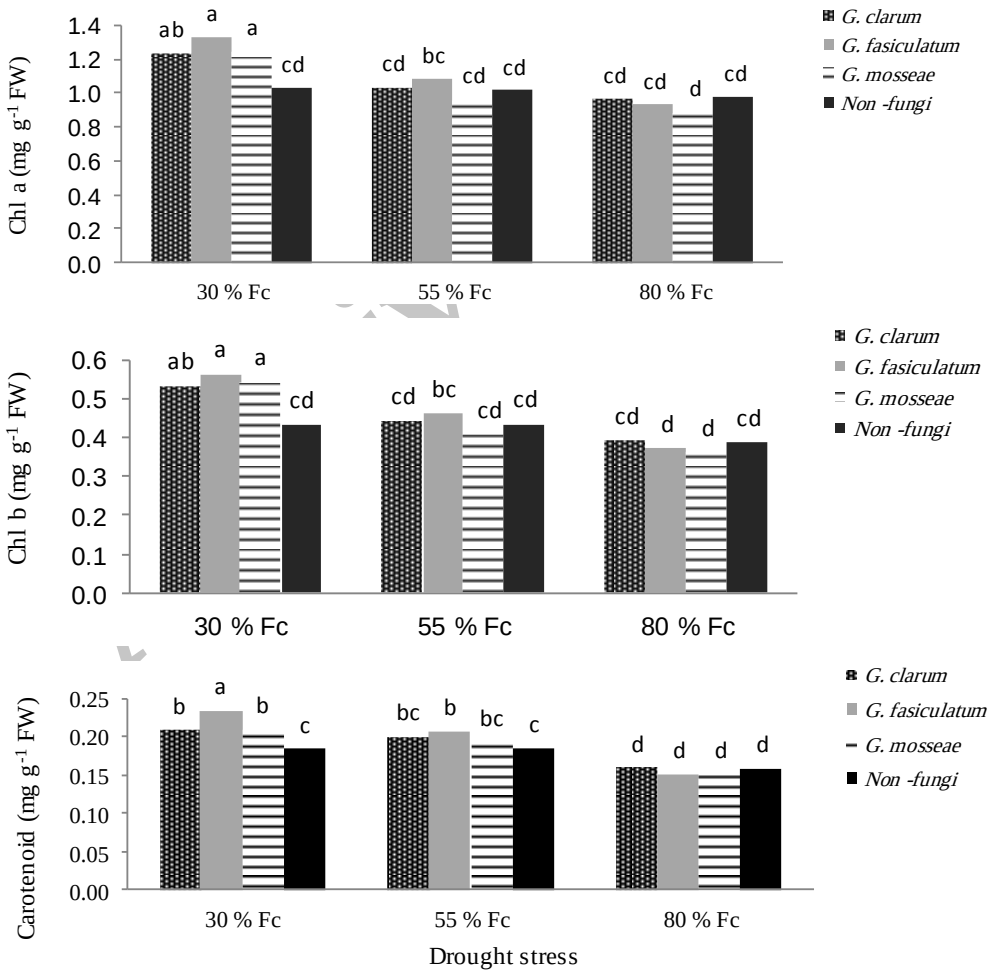
تأثیر گونه‌های مختلف قارچ قارچ‌ریشه‌ای بر میزان سبزینه و کارتنوئید برگ گونه‌های مختلف گراس متفاوت بود. در گراس پوآی چندساله قارچ قارچ‌ریشه‌ای نتوانست میزان سبزینه و کارتنوئید برگ را افزایش دهد. در جنس‌های لولیوم چندساله و اگروپیرون قارچ میزان سبزینه را افزایش داد ولی معنی‌دار نبود و همچنین میزان کارتنوئید برگ این دو گراس را افزایش داد ولی تنها تأثیر گونهٔ فسیکولاتوم بر اگروپیرون معنی‌دار بود. بیشترین تأثیر قارچ قارچ‌ریشه‌ای بر میزان سبزینه و کارتنوئید برگ در

Archive of SID

www.SID.ir

گراس فستوکای پابلند دیده شد که در این زمینه گونهٔ فسیکولاتوم مؤثرتر بود (جدول۲). با بررسی اثر متقابل قارچ قارچ‌ریشه‌ای و سطوح مختلف تنش خشکی مشخص شد که قارچ میزان سبزینهٔ a، b و کارتنوئید برگ گراس را در شرایط تنش خشکی افزایش داده و این افزایش در شرایط تنش شدید معنی‌دار بود و در این زمینه بیشترین تأثیر را گونهٔ فسیکولاتوم و موسه‌آ داشتند (شکل ۷).

تنش خشکی سبب کاهش میزان سبزینهٔ a، b، کل و کارتنوئید برگ لولیوم چندساله بر پایهٔ وزن تر شد درحالی‌که میزان این رنگیزه‌ها در برگ دیگر جنس‌های گراس چمنی مورد آزمایش کاهش پیدا نکرد. شواهدی در دست است مبنی بر آنکه تنش آبی میزان سبزینهٔ برگ را کاهش می‌دهد (Tatari *et al.*, 2013). درحالی‌که در نتایج تحقیقات دیگر چنین کاهشی در سبزینه در شرایط تنش مشاهده نشده است. تنش آبی کوتاه‌مدت تأثیری روی سبزینهٔ برگ نداشته ولی نسبت سبزینهٔ a/b را افزایش داد (Ahmadi & Baker, 2000). افزایش نسبت سبزینهٔ a/b دلیل تیره شدن برگ‌ها است (Estill *et al.*, 1991). در گندم محتوای سبزینه در واکنش به تنش خشکی افزایش یافت (Salehi *et al.*, 2003). تنش خشکی در گیاهان علوفه‌ای با کاهش آماس یاخته‌ای و به‌احتمال باعث افزایش شمار یاخته و در نتیجه افزایش میزان سبزینه در واحد وزن تر برگ شده است.



شکل ۷. اثر متقابل گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر میزان سبزینهٔ a، سبزینهٔ b و کارتنوئید برگ گراس. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 7. Interaction between mycorrhizal fungi species and drought stress (% FC) on chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid of grass leaf. Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test.

www.SID.ir

کاروتنوئیدها دومین گروه مهم رنگیزه‌های گیاهی هستند که افزون بر نقشی که در جذب نور دارند با توجه به نقش پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) آن‌ها در شرایط تنش، توانایی خنثی کردن تأثیر زیانبار گونه‌های واکنشگر اکسیژن برای محافظت از سبزینه را دارند (Sircelj *et al*., 1999). بنابر نتایج این تحقیق تغییر میزان کارتنوئید برگ چمن‌های مورد آزمایش بستگی به جنس گراس داشت.

از کاهش کارتنوئید برگ لولیوم چندساله و کاهش نیافتن آن در پوآی چندساله در شرایط تنش خشکی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که پوآی چندساله و دیگر گونه‌هایی که کارتنوئید و همچنین سبزینهٔ برگ آن‌ها تحت تنش خشکی کاهش نیافته، توانسته‌اند با این سازوکار تأثیر زیانبار تنش خشکی را کاهش داده و در برابر آن مقاومت نشان دهند. لذا بسته به جنس گراس، شدت و مدت تنش خشکی و عامل‌های دیگر ممکن است غلظت رنگیزه‌های گروه کاروتنوئیدها افزایش یا کاهش‌یافته و یا بدون تغییر باقی بماند. به‌طور مثال غلظت کاروتنوئید نه گیاه چمنی و سه نوع غله در رویارویی با تنش خشکی کاهش نیافت (Price & Hendry, 1991). از سوی دیگر قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای با افزایش جذب عنصرهای ضروری در زیست‌ساخت (بیوسنتز) سبزینه‌ها (شامل منیزیم) می‌توانند موجب افزایش ساخت این رنگیزه‌ها شوند (Rahmatzadeh *et al*., 2013). البته افزایش میزان کارتنوئید برگ در گیاهان همزیست با قارچ‌ریشه‌ها تحت تنش خشکی، عامل مهمی برای کاهش تخریب سبزینه است.

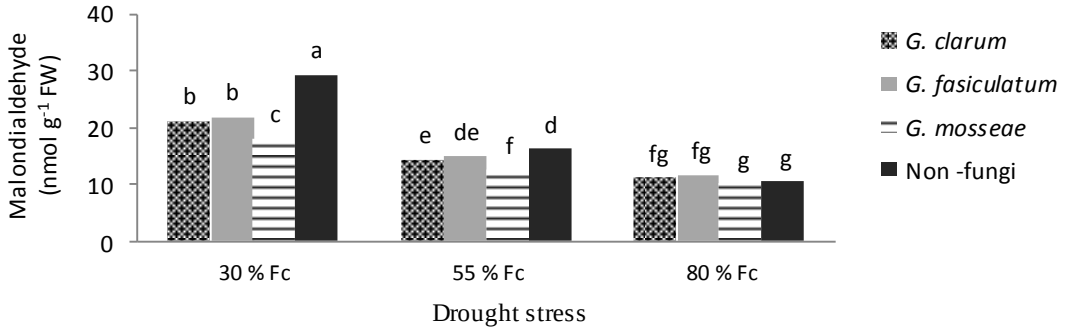
غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA)

میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس‌های مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌دار نشان داد. به‌طوری‌که در بالاترین سطح تنش (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس‌های مورد آزمایش ۱/۵ برابر شرایط تنش ملایم (۵۵ درصد ظرفیت زراعی) و ۲/۱ برابر شرایط بدون تنش بود. میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس فستوکای پابلند در همهٔ سطوح تنش پایین‌تر از دیگر جنس‌های گراس بود (شکل۹). قارچ قارچ‌ریشه‌ای سبب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس‌های مورد آزمایش به‌ویژه در شرایط تنش شدید خشکی شد. بین گونه‌های مختلف قارچ، گونهٔ موسهآ سبب شد که میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ در بالاترین سطح تنش خشکی بیش از ۳۸ درصد و در تنش متوسط بیش از ۲۳ درصد نسبت به شرایط بدون قارچ کاهش یابد و از این نظر نسبت به دیگر گونه‌های قارچ مؤثرتر بود (شکل۸).

پراکسیداسیون چربی‌ها و تولید محصولی مانند مالون‌دی‌آلدهید نتیجهٔ حملهٔ رادیکال‌های فعال اکسیژن به اسیدهای چرب غیراشباع بوده که شاخصی زیستی برای سنجش میزان تأثیر تنش اکسایشی (اکسیداتیو) در گیاهان است (Sharma *et al*., 2012). میزان مالون‌دی‌آلدهید 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 (Tatari *et al*., 2013). در یک‌گونهٔ لوبیای مقاوم به خشکی (*Phaseolus acutifolius*) در مقایسه با گونهٔ حساس به خشکی (*Phaseolus vulgaris*) فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده بالاتر و میزان پراکسیداسیون چربی پایین‌تر بوده است (Turkan *et al*., 2005). میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گیاهان زوفا (*Hyssopus officinalis*) با افزایش تنش آبی در همهٔ تیمارهای بدون قارچ‌ریشه نسبت به زوفای همزیست با قارچ‌ریشه 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 به ترتیب ۱۱۴/۱، ۱۰۶/۳ و ۱۲۶/۹ نانومول بر گرم وزن تازهٔ برگ بوده است (Soleymani & Pirzad, 2015). میزان مالون‌دی‌آلدهید موجود در برگ ذرت‌های همزیست با قارچ‌ریشه در شرایط تنش خشکی ۱۷/۵ درصد کمتر از ذرت‌های غیر همزیست بوده است (Zhu *et al*., 2001). نتایج بیانگر این مطلب است که در گیاهان همزیست با قارچ‌ریشه تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن کمتر است.

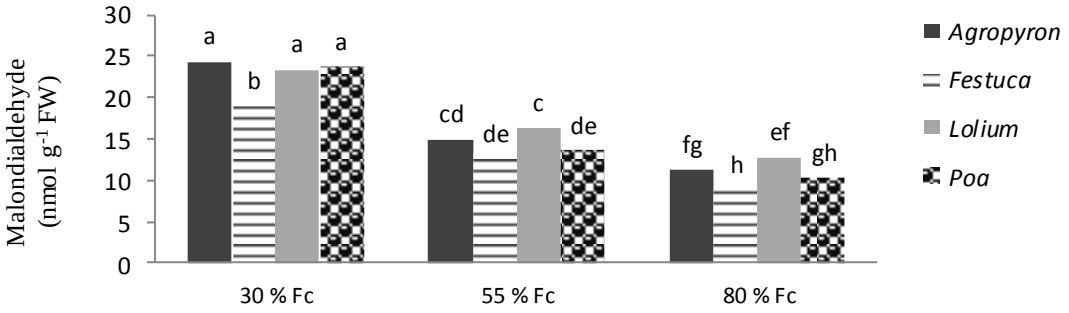
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۸. اثر متقابل گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 8. Interaction between mycorrhizal fungi species and drought stress (% FC) on Malondialdehyde content of grass leaf. Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test.



شکل ۹. اثر متقابل جنس‌های گراس و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 9. Interaction between grass genera and drought stress (% FC) on Malondialdehyde content of grass leaf. Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test.

جدول ۲. اثر متقابل جنس‌های گراس و گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای بر میزان سبزینهٔ a، سبزینهٔ b، کارتنوئید، وزن تر و خشک شاخساره و نسبت وزن خشک به وزن تر شاخساره

Table 2. Interaction between the grass genera and mycorrhizal fungi species on chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, shoot dry and fresh weight and ratio of dry to fresh weight

Turfgrass genera	Mycorrhizae	Chl a (mg g^{-1} FW)	Chl b (mg g^{-1} FW)	Carotenoid (mg g^{-1} FW)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Dry to fresh weight ratio (%)
Agropyron	*G. clarum*	1.165 ab	0.467 abcd	0.191 bc	0.038 ij	0.013 ef	36.68 abc
	G. fasiculatum	1.230 a	0.502 ab	0.199 ab	0.044 hi	0.014 def	36.08 abc
	G. mosseae	1.176 ab	0.471 abc	0.191 bc	0.036 ij	0.013 ef	39.81 a
	Non- fungi	1.090 ab	0.442 abcd	0.172 cd	0.032 j	0.011 f	37.17 abc
Festuca	*G. clarum*	1.132 ab	0.466 abcd	0.201 ab	0.073 de	0.025 bc	37.72 abc
	G. fasiculatum	1.254 a	0.518 a	0.218 a	0.077 cd	0.027 b	39.07 ab
	G. mosseae	1.016 bc	0.417 abcd	0.188 bc	0.077 cd	0.024 bc	34.74 cd
	Non- fungi	0.876 cd	0.357 e	0.162 d	0.070 def	0.022 c	36.12 abc
Lolium	*G. clarum*	0.838 cd	0.390 cde	0.181 bcd	0.060 fg	0.018 d	31.36 de
	G. fasiculatum	0.879 cd	0.403 bcde	0.191 bc	0.071 def	0.018 d	26.99 f
	G. mosseae	0.770 d	0.356 e	0.181 bcd	0.063 efg	0.016 de	28.68 ef
	Non- fungi	0.823 cd	0.370 de	0.177 bcd	0.054 gh	0.015 def	29.90 ef
Poa	*G. clarum*	1.192 ab	0.501 ab	0.184 bcd	0.085 bc	0.026 b	35.50 bc
	G. fasiculatum	1.097 ab	0.440 abcd	0.181 bcd	0.106 a	0.035 a	36.41 abc
	G. mosseae	1.180 ab	0.505 a	0.177 bcd	0.095 b	0.032 a	36.53 abc
	Non- fungi	1.25 a	0.51 a	0.192 bc	0.091 b	0.028 b	35.11 bcd

Means in each column, values followed by same letters are not significantly different according to the Duncan test at P = 0.05.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. اثر متقابل جنس‌های گراس و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر میزان سبزینهٔ a، سبزینهٔ b، کارتنوئید ، وزن تر و خشک شاخساره و نسبت وزن خشک به وزن تر شاخساره

Table 3. Interaction between the grass genera and drought stress (% FC) on chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, shoot fresh and dry weight and ratio of dry to fresh weight

Turfgrass genus	Drought stress	Chl a (mg g^{-1} FW)	Chl b (mg g^{-1} FW)	Carotenoid (mg g^{-1} FW)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Dry to fresh weight ratio (%)
Agropyron	30 % FC	1.350 b	0.549 b	0.223 a	0.022 f	0.010 h	45.80 a
	55 % FC	1.196 bcd	0.499 bc	0.192 cd	0.027 f	0.011 h	39.77 b
	80 % FC	0.949 efg	0.363 d	0.149 g	0.064 d	0.017 fg	26.74 e
Festuca	30 % FC	1.205 bc	0.498 bc	0.221 a	0.044 e	0.021 de	47.48 a
	55 % FC	1.044 cde	0.442 cd	0.201 bc	0.063 d	0.024 cd	38.24 bc
	80 % FC	0.960 ef	0.379 d	0.155 fg	0.117 b	0.029 b	25.02 ef
Lolium	30 % FC	0.786 g	0.374 d	0.172 ef	0.041 e	0.015 g	35.21 c
	55 % FC	0.832 fg	0.383 d	0.210 abc	0.058 d	0.017 fg	30.47 d
	80 % FC	0.865 fg	0.382 d	0.166 efg	0.086 c	0.019 ef	22.02 f
Poa	30 % FC	1.506 a	0.650 a	0.219 ab	0.057 d	0.026 bc	45.61 a
	55 % FC	1.038 de	0.425 cd	0.180 de	0.067 d	0.026 bc	37.76 bc
	80 % FC	0.996 ef	0.390 d	0.152 g	0.158 a	0.038 a	24.28 ef

Means in each column, values followed by same letters are not significantly different according to the Duncan test at P = 0.05.

درصد پرگنه‌سازی ریشه

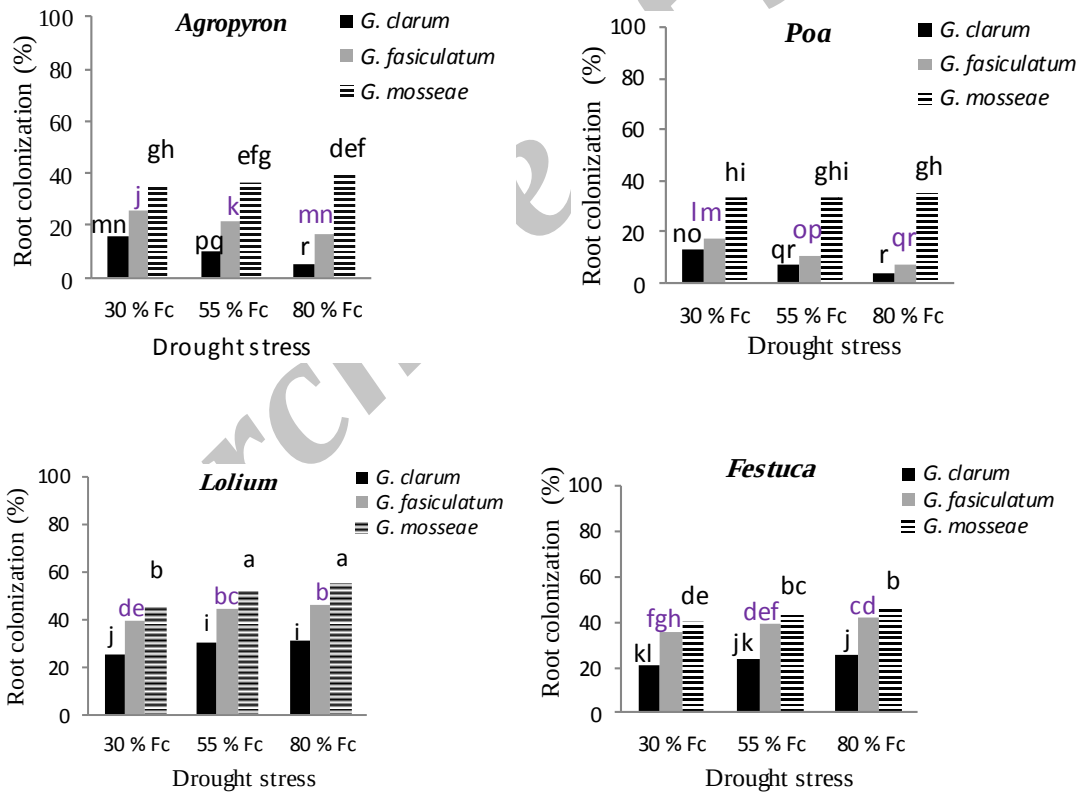
نتایج بررسی‌ها نشان داد، جنس‌های گراس و تنش خشکی بر درصد پرگنه‌سازی ریشه به‌وسیلهٔ قارچ قارچ‌ریشه‌ای اثر متقابل دارند. درصد پرگنه‌سازی گونه‌های مختلف قارچ با ریشهٔ گراس لولیوم چندساله و تغییرات آن تحت تنش خشکی همسان گراس فستوکای پابلند بود. درحالی‌که گراس اگروپیرون وضعیتی همسان گراس پوآی چندساله داشت. درصد پرگنه‌سازی ریشهٔ گراس‌های لولیوم چندساله و فستوکای پابلند همزیست با گونه‌های مختلف قارچ در همهٔ سطوح تنش خشکی بیش از گراس اگروپیرون و پوآی چندساله بود (شکل۱۰). گونهٔ موسهآ نسبت به دیگر گونه‌های قارچ در همهٔ سطوح تنش خشکی، بیشترین درصد پرگنه‌سازی ریشه را با گراس‌های مورد آزمایش نشان داد و در بین جنس‌های گراس این‌گونه با ۵۵/۲۷ درصد، بیشترین پرگنه‌سازی را با ریشهٔ گراس لولیوم چندساله در شرایط بدون تنش خشکی داشت (شکل۱۰). گونهٔ کلاروم در همهٔ سطوح تنش و نسبت به دیگر گونه‌های قارچ کمترین درصد پرگنه‌سازی ریشه را با گراس‌های مورد آزمایش نشان داد و از این نظر با ۴/۱۳ درصد، کمترین میزان پرگنه‌سازی را با ریشهٔ گراس پوآی چندساله در شرایط بدون تنش خشکی نشان داد. تنش خشکی درصد پرگنه‌سازی هر سه گونهٔ قارچ با ریشهٔ گراس‌های لولیوم چندساله و فستوکای پابلند را کاهش داد ولی این کاهش در سطح رطوبتی ۵۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به سطح رطوبتی ۸۰ درصد ظرفیت زراعی معنی‌دار نبود (شکل۱۰). تنش خشکی درصد پرگنه‌سازی ریشهٔ گراس‌های آگروپیرون و پوآی چندساله با قارچ‌های کلاروم و فسیکولانوم را افزایش داد به‌طوری‌که درصد پرگنه‌سازی کلاروم با ریشهٔ گراس پوآی چندساله را با ۲۲۰/۳۴ درصد افزایش، از ۴/۱۳ درصد به ۱۳/۲۳درصد رساند. درصد پرگنه‌سازی موسهآ با ریشهٔ گراس‌های مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی کاهش نشان داد. به‌طوری‌که در بالاترین سطح تنش، درصد پرگنه‌سازی این‌گونه با ریشهٔ گراس لولیوم چندساله از۵۵/۲۷ درصد به ۴۵/۸۷ درصد کاهش یافت (شکل۱۰). قابلیت گونه‌های قارچ قارچ‌ریشه‌ای برای همزیستی با گراس‌های اگروستیس و لولیوم چندساله متفاوت بوده است (Gollotte *et al*., 2004). نتایج این آزمایش نیز نشان داد، گرایش به همزیستی و قابلیت گونه‌های قارچ برای همزیستی با گراس‌های مورد آزمایش بسیار متفاوت است. با توجه به ظریف‌تر بودن ریشهٔ گراس‌های لولیوم چندساله و فستوکای پابلند نسبت به اگروپیرون و پوآی چندساله احتمال دارد پرگنه‌سازی بیشتر ریشهٔ آن‌ها به همین ساختار ریشه ربط داشته باشد. توانایی گونه‌های مختلف قارچ به‌ویژه تحت تنش‌های محیطی در آلوده‌سازی گیاه میزبان متفاوت است (Jacobsen, 1992). برخی از گونه‌های قارچ قارچ‌ریشه می‌توانند به‌سرعت با تنش خشکی سازگار شده و گیاه میزبان را از برتری‌های خود

Archive of SID

www.SID.ir

بهره‌مند سازند (Wu *et al*., 2013). تأثیر تنش خشکی بر درصد پرگنه‌سازی ریشهٔ گیاهان توسط قارچ‌ریشه، به دوره و شدت تنش، شرایط کاشت (مزرعه‌ای یا گلدانی) گونهٔ گیاه و گونهٔ قارچ بستگی دارد (Auge, 2001). میزان تولید اسپور و همچنین غنای گونه‌ای قارچ قارچ‌ریشه‌ای در اقلیم‌های خشک کمتر از دیگر اقلیم‌ها است و تولید اسپور با افزایش خشکی، کاهش بیشتری یافته است (Auge, 2001). با کاهش رطوبت خاک کمیت و کیفیت ترشحات ریشه‌ای تغییر می‌کند که بر تندش اسپور مؤثر است و کاهش رطوبت خاک همچنین به‌طور مستقیم بر تندش اسپور مؤثر است (Smith & Read, 2008). تأثیر رطوبت خاک بر جوانه زدن اسپور در گونه‌ها و جنس‌های مختلف قارچ قارچ‌ریشه متفاوت است (Giovannetti, 2000).

پتانسیل رطوبتی ۰/۵- تا ۲/۲- مگا پاسکال از جوانه‌زنی اسپور گونه‌های موسه‌آ و اینترارادیسز جلوگیری کرده است (Douds & Schenck, 1991). در شرایط تنش خشکی دسترسی به فسفر برای گیاه مشکل‌تر است لذا گرایش گیاه برای همزیستی با قارچ‌ریشه در چنین شرایطی بیشتر است (Auge, 2001). به‌احتمال علت افزایش درصد پرگنه‌سازی ریشهٔ اگروپیرون و پوآی چندسالهٔ همزیست با گونه‌های کلاروم و فسیکولاتوم تحت تنش خشکی ناشی از نیازمندی بیشتر گیاه به قارچ برای تأمین فسفر مورد نیاز خود باشد و اما کاهش درصد پرگنه‌سازی گراس‌هایی که همزیستی خوبی با قارچ‌ریشه داشتند می‌تواند به جهت کاهش میزان کربوهیدرات در دسترس و همچنین کاهش میزان تولید و جوانه‌زنی اسپور قارچ باشد.



شکل ۱۰. اثر متقابل جنس‌های گراس، گونه‌های قارچ‌های قارچ‌ریشه‌ای و تنش خشکی (درصد ظرفیت زراعی) بر درصد کلون‌سازی ریشه. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Figure 10. Interaction between the grass genera, mycorrhizal fungi species (Scientific name) and drought stress (% FC) on root colonization percent. Bars with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan test.

www.SID.ir

نتیجه‌گیری کلی

هر چهار جنس گراس با گونه‌های قارچ همزیست شدند. بالاترین درصد پرگنه‌سازی ریشه را گراس لولیوم چندساله با گونهٔ موسهآ و کمترین درصد پرگنه‌سازی را گراس پوآی چندساله با گونهٔ کلاروم داشتند. گراس‌هایی که در شرایط بدون تنش خشکی گرایش به همزیستی بالا با گونه‌های قارچ داشتند با افزایش شدت تنش، درصد پرگنه‌سازی ریشهٔ آن‌ها کاهش یافت ولی گراس‌هایی که در شرایط بدون تنش، گرایش به همزیستی آن‌ها با گونه‌های قارچ پایین بود، با افزایش شدت تنش درصد پرگنه‌سازی در ریشهٔ آن‌ها افزایش یافت. تنش خشکی سبب کاهش وزن تر و خشک شاخساره، شمار برگ زنده، محتوای نسبی آب برگ و افزایش میزان نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید و کارتنوئید برگ گراس‌های مورد بررسی شد. تنش خشکی میزان سبزینه را تنها در برگ گراس لولیوم چندساله کاهش داد. بین جنس‌های گراس، لولیوم چندساله در بالاترین سطح تنش بیشترین محتوای نسبی آب برگ را داشت، لذا می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل داشتن میزان تبخیر و تعرق پایین‌تر از دیگر جنس‌ها و در شرایطی که عمق ریشه محدود باشد، توانایی خوبی برای گریز از خشکی دارد. کمترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در بالاترین سطح تنش در برگ گراس فستوکای پابلند مشاهده شد که نشان‌دهندهٔ مقاومت بالای یاخته‌ای این‌گونهٔ گراس در برابر تنش خشکی است. قارچ قارچ‌ریشه وزن تر و خشک شاخساره، شمار برگ زنده، محتوای نسبی آب برگ، میزان سبزینه و کارتنوئید برگ را افزایش ولی میزان نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس‌های تحت تنش خشکی را کاهش داد. قارچ‌های فسیکولاتوم و موسهآ، سبزینه و کارتنوئید برگ گراس‌های همزیست با آن‌ها را در بالاترین سطح تنش، بیش از ۳۸ درصد افزایش دادند. بین گونه‌های قارچ، گونهٔ موسهآ سبب بیشترین افزایش محتوای نسبی آب برگ و کاهش میزان نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید برگ گراس‌های تحت تنش خشکی شد. درمجموع قارچ قارچ‌ریشه با افزایش جذب آب، شمار برگ زنده و همچنین افزایش میزان سبزینه و کارتنوئید برگ توانست تأثیر سوء تنش خشکی بر ویژگی‌های گیاهی گراس‌های مورد بررسی مانند نشت یونی و پراکسیداسیون چربی را کاهش دهد. با توجه به اینکه گرایش به همزیستی و تأثیر گونه‌های این قارچ بر جنس‌های مختلف گراس چمنی در شرایط تنش خشکی متفاوت بود، لذا استفاده از مایهٔ تلقیح حاوی هر دو گونهٔ فسیکولاتوم و موسهآ به‌منظور افزایش کارایی قارچ در همزیست شدن با گراس‌ها، برای کاهش هرچه بیشتر تأثیر سوء تنش خشکی، پیشنهاد می‌شود.

REFERENCES

1. Ahmadi, A. & Baker, A. D. (2000). Stomatal and nonstomatal limitations of photosynthesis under water stress conditions in wheat plant. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 31(4), 813-825. (in Farsi)
2. Alcamo, J., Herichs, T. & Rosch, T. (2000). World water in 2025: Global modeling and scenario analysis for the world commission on water for the century. *Center for Environmental Systems Research. Report A0002*. University of Kassel, Germany.
3. Alizadeh, A. (2004). *Soil and plant water relations.* Imam Reza University Press. Mashhad. (in Farsi)
4. Aslani, Z., Hassani, A., Rasooli Sadaghiyani M., Sefidkon, F. & 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. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(3), 471-486. (in Farsi)
5. Amiard, V., Bertrand, A. M., Billard, J. P., Huault, C., Keller, F. & Prudhomme, M. P. (2003). Fructans, but not the sucrosyl-galactosides, Raffinose and loliose, are affected by drought stress in perennial ryegrass. *Journal Plant Physiology*, 132, 2218-2229.
6. Amiri, M. J. & Eslamian, S. S. (2010). Investigation of climate change in Iran. *Journal of Environmental Science and Technology*, 3, 208-216.
7. Amiri Nasab, K., Zakizadeh, H., Ghasemnezhad, M. & Biglouei, H. (2015). The effect of drought preconditioning on increasing drought stress tolerance in two turfgrass creeping bentgrass (*Agrostis Stolonifera* cv. Palustris) and tall fescue (*Festuca Arundinacea* cv. Greystone). *Journal of Crops Improvement*, 16(3), 599-611. (in Farsi)

Archive of SID

www.SID.ir

8. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
9. Arve, L. E., Torre, S., Olsen, J. E. & Tanino, K. K. (2011). Stomatal responses to drought stress and air humidity. In: Shanker A. (Ed.), *Abiotic stress in plants - Mechanisms and adaptations*. InTech Publication. pp. 267-280.
10. Auge, R. M. (2001). Water relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11, 3-42.
11. Banwarie, L., Kaushik, S. K. & Gautam, R. C. (1994) Effect of soil moisture regime, kaolin spray and phosphorus fertilizer on nodulation, P uptake and water use of lentil (*Lense culinaris*). *Indian Journal of Agronomy*, 39, 241-245.
12. Barrs, H. D. & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 413-428.
13. Blum, A. & Ebercon, A. (1981). Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*, 21, 43-47.
14. Butler, T. R. (2008). *Physiological effects of drought on perennial ryegrass* (*Lolium perenne* L.) *and tall fescue* (*Festuca arundinacea* Schreb.). Lincoln University. MSc. Dissertation.
15. Di, J. J. & Allen, E. B. (1991). Physiological responses of six wheatgrass cultivars to mycorrhizae. *Journal of Range Management*, 44, 336-341.
16. Domiri Ganji, H., Babaei, S., Mataji, A. & Rashidi, F. (2011) Evaluation of the trend of changes in green Space of district 2 of Tehran by using aerial photographs and satellite data. *Natural Resources, Science and Technology*, 5(2), 13-24. (in Farsi)
17. Douds, D. D. & Schenck, N. C. (1991). Germination and hyphal growth of vam fungi during and after storage in soil at five matric potentials. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(2), 177-183.
18. Esmaeelpour, B., Jalilv, P. & Hadian J. (2013). Effect of drought stress and mycorrhizal fungi on some morpho-physiological traits and performance of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Agroecology*, 5(2), 169-177. (in Farsi)
19. Estill, K., Delany, R. H., Smith, W. K. & Ditterline, R. L. (1991). Water relations and productivity of alfalfa leaf chlorophyll variants. *Crop Science*, 31, 1229-1233.
20. Gazanchian, A., Hajheidari, M., Khosh Kholgh Sima, N. A. & Salkadeh, G. H. (2007). Proteom response of *Elymus elongatum* to sever water stress and recovery. *Journal of Experimental Botany*, 58, 291-300.
21. Gemma, J. N., Koske, R. E., Roberts, E. M., Jackson, N. & De Antonis, K. M. (1997). Mycorrhizal fungi improve drought resistance in creeping bentgrass. *Journal of Turfgrass Science*, 73, 15-29.
22. Giovannetti, M. (2000). Spore Germination and Pre-Symbiotic Mycelial Growth. In Y. Kapulnik & D.D. Douds (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (pp. 47-68). Dordrecht: Springer Netherlands.
23. Goicoechea, N., Dolezal, K., Antolin, M. C., Strnad, M. & SanchezDiaz, M. (1995). Influence of mycorrhizae and rhizobium on cytokinin content in drought-stressed alfalfa. *Journal of Experimental Botany*, 46, 1543-1549.
24. Gollotte, A., van Tuinen, D. & 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.
25. Heath, R. L. & Parker, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stiochiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
26. Huang, B. & Fry, J. D. (2004). *Applied turfgrass science and physiology*. 1th Ed. John Wiley, New York. 320 p.
27. Huang, B. & Fry, J. D. (2000). Turfgrass Evapotranspiration. *Journal of Crop Production: Agricultural Management in Global Context*, 2(2), 317-333.
28. Jacobsen, I., Abbott, L. K. & 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 Phytologist*, 120, 371-380.
29. Jinrong L., Xiaorong X., Jianxiong D., Jixiong S. & Xiaomin B. (2008). Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Horticulturae*, 115, 190-195.
30. Kafi, M., Daneshvar Hakimi Meybodi, N., Nikbakht, A., Rejali, F. & Deneshkhah, M. (2013). Effect of humic acid and mycorrhiza fungi on some characteristics of "Speedy green" perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 4(13), 49-59. (in Farsi)
31. Kafi, M., Borzouei, A., Salehi M., Kamandi, A., Masoumi, A. & Nabati, J. (2009). *Environmental stress physiology in plants*. Jihad-e-Daneshgahi Mashhad Press, Mashhad. 502p. (in Farsi)
32. Kafi, M. & Kaviani, S. H. (2002). *Establishment management and turf maintenance*. Cultural & Artistic Institution Shaghayegh Rusta, Pp: 230. (in Farsi)

Archive of SID

www.SID.ir

33. Khazaei, H. & Kafi, M. (2003). The role of relative water content (RWC) and stomatal resistance to drought resistance in wheat and their relationship with grain yield under greenhouse and field. *Journal of Agricultural Sciences and Technology*, 16(2), 125 -115. (in Farsi)
34. Khorshidi, M., Bicharanlou, B. & Bagheri, M. (2014). Elevated the tolerance of maize plants to temperature changes through symbiosis with three Species of Mycorrhiza. *Sustainable Agriculture and Production science*, 23(4.1), 187-200. (in Farsi)
35. Lichtenthaler, H. K. & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-592.
36. Molaahmad Nalousi, A., Hatamzadeh, A., Ghasemnezhad, M. & Biglouei, H. (2014). Effects of exogenous sodium nitroprusside on drought resistance of creeping bentgrass and tall fescue. *Journal of Horticultural Science and Technology*. 16(3), 427-438. (in Farsi)
37. Mcgonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L. & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective-measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3), 495-501.
38. Munné-Bosch, S. & Alegre, L. (2004). Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology*, 31, 203-216.
39. Pelletier, S. & 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 Science*, 44(1), 335-338.
40. Philips, J. M. & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, 158-161.
41. Price, A. H. & Hendry, G. A. F. (1991). Iron-catalyzed oxygen radical formation and its possible contribution to drought in nine native grasses and three cereals. *Plant, Cell and Environment*, 14, 477-484.
42. Rahmatzadeh, S., Khara, J. & 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. *Iranian Journal of Plant Biology*, 5(16), 27-40. (in Farsi)
43. Rejali, F., Mardoukhi, B. & Malakouti, M. (2011). The effect of mycorrhizal symbiosis on WUE, proline accumulation and nutrient uptake of wheat in saline conditions. *Water Research in Agriculture*, 24 (2), 111-122. (in Farsi)
44. Saedmoocheshi, A. & Heidari, B. (2011). Alleviation of drought damages on chlorophyll content and biological yield in wheat cultivars by means of mycorrhizal symbiosis. *The fifth national conference on new ideas in agriculture*. Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch. (in Farsi)
45. Salehi, M., Koochaki, A. & Nassiri Mahalati, M. (2003). Leaf nitrogen and spad reading as indicator for drought stress in wheat. *Journal of Iranian Field Crop Research*, 1(2), 199-204. (in Farsi)
46. Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. F. & Mornhinweg, D. W. (1988) Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sciences*, 28, 526-531.
47. Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 26.
48. Sircelj, H., Batic, F. & Stampar, F. (1999). Effects of drought stress on pigment, ascorbic acid and free amino acids content in leaves of two apple tree cultivars. *Phyton (Austria)*, 39, 97-100.
49. Smith, S. E. & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis.* Academic Press, London.
50. Soleymani, F. & Pirzad, A. (2015). The effect of mycorrhizal fungi on malondialdehyde concentration and some metabolic processes in hyssop (*Hyssopus officinalis*) under water deficit stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 7, 15-26. (in Farsi)
51. Song, H. (2005). Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its Mechanisms. *Electronic Journal of Biology*, 1(3), 44-48.
52. Tatari, M., Fotouhi Ghazvini, R., Etemadi, N., Ahadi, A. M. & Mousavi, A. (2013). A study of morphological, physiological and biochemical responses of *Poa pratensis* L. (Kentucky bluegrass) cv. 'Barimpala'to drought stress conditions. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 44(3), 329-340. (in Farsi)
53. Tehranifar, A., Selahvarzi, Y., Gazanchian, A. & Arooei, H. (2009). Drought resistance mechanisms of native and commercial turfgrasses under drought stress: II. Shoot responses. *Journal of Horticulture Science*, 23(1), 1-9. (in Farsi)
54. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. & 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 Science*, 168:223-231.

Archive of SID

www.SID.ir

55. Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L. & Gasparikova, O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil Environment*, 52(4), 186-191.
56. Wu, Q. S., Srivastava, A. K. & Zou, Y. N. (2013). AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: A review. *Scientia Horticulturae*, 164, 77-87.
57. Wu, Q. S. & Zou, Y. N. (2009). Mycorrhiza has a direct effect on reactive oxygen metabolism of drought-stressed citrus. *Soil Environmental and Atmospheric Sciences*, 55(10), 436-442.
58. Zhu, X., Song, F. & Liu, S. (2001). Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(2), 583-587.

Archive of SID

www.SID.ir