

اثر تنش خشکی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی (*Pistacia vera* L.)

توران فیضی کمره^۱، رامین رحمانی^{۲*}، حسن سلطانیلو^۳ و محمد متینی‌زاده^۴

^۱دانشجوی دکتری جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۲دانشیار گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۳دانشیار گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نبات، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۴دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۲۵)

چکیده

تنش خشکی سبب محدود کردن رشد و تولید گیاهان می‌شوند. تغییر جهانی اقلیم موجب تشدید و توسعه تنش خشکی در سطح جهان شده است. همزیستی میکوریزی می‌تواند مقاومت گیاهان به تنش خشکی را بهبود دهد. در این پژوهش، تنش خشکی در نهال‌های پسته جنگلی تلقیح‌شده با قارچ میکوریزی *Funneliformis mosseae*، از طریق قطع آبیاری اعمال شد. تأثیر این تنش بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بررسی شد. تأثیر قارچ میکوریزی بر مشخصه‌های رویشی نهال‌ها (طول ساقه، قطر ساقه، طول شاخه و شاخص سطح برگ) در سطح ۱ درصد و اثر تنش خشکی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. هرچند که از نظر میانگین قطر ریشه و تعداد انشعاب ساقه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که همزیستی با قارچ میکوریزی سبب کاهش تراکم کلروفیل a و b و کلروفیل کل در نهال‌های پسته جنگلی نسبت به نهال‌های بدون میکوریز شد، تنش خشکی به افزایش محتوای کلروفیل (a، b و کل) نهال‌های میکوریزی و کاهش آن در نهال‌های بدون میکوریز منجر شد. درصد کلونیزاسیون قارچ در طی تنش خشکی کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) در نهال‌های میکوریزی کمتر از نهال‌های بدون میکوریز بود. تنش خشکی به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در نهال‌های بدون میکوریز منجر شده بود، اما این افزایش فعالیت در نهال‌های میکوریزی زمانی اتفاق افتاده بود که ارتباط قارچ با گیاه به حداقل خود رسیده بود. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که کمیت رویش نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از نهال‌های غیرمیکوریزی است. یافته‌ها حاکی از آن است که نهال‌های میکوریزی در مقایسه با نهال‌های بدون میکوریز عملکرد بهتری داشتند و می‌توانند در احیای رویشگاه‌های خشک و مخروطه پسته جنگلی اثر چشمگیری داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، جنگل پسته، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، کلروفیل.

مقدمه و هدف

پسته متعلق به خانواده Anacardiaceae است. این گیاهان درختی و به‌ندرت درختچه‌ای با برگ‌های مرکب شانه‌ای و خزان‌کننده، گل‌آذین خوشه‌مانند هستند و میوه از نوع شفت و گل‌ها دوجنسی‌اند. این جنس دارای ۱۱ گونه (Atatashafrooz *et al.*, 2015) است، که سه گونه شامل پسته جنگلی (*Pistacia vera* L.)، خینجوک (*Pistacia khinjuk* Stocks)، پسته وحشی، بنه یا چاتلانقوش (*Pistacia atlantica* Desf.) با دو زیرگونه *mutica* و *kurdica* در رویشگاه‌های طبیعی ایران یافت شد (مظفریان، ۱۳۸۳). پسته جنگلی به‌صورت طبیعی در استان‌های خراسان و گلستان یافت می‌شود. گونه‌های گلابی وحشی (*Pyrus glabra* Boiss.)، سیب وحشی (*Malus orientalis* Uglitzk. ex Juz.)، زالزالک (*Crataegus* sp.)، انجیر (*Ficus carica* L.) و پده (*Populus euphratica* Oliv.) به همراه این گونه دیده می‌شوند.

مجموعه گزارش‌های موجود در خصوص پسته، حاکی از آن است که رویشگاه‌های بسیار گسترده آن در ایران به‌علل گوناگون تخریب شده و مجموعه حیات گیاهی و جانوری در این رویشگاه‌ها و زیستگاه‌ها در معرض تهدید است. تنش‌های غیرزنده محیطی از عوامل مهم در محدودیت رشد و تولید گیاه است. تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری در حال حاضر در جهان شدیدتر و گسترده‌تر شده است. آسیب‌های ناشی از تنش‌های غیرزنده در سطح سلولی و مولکولی، سبب اختلالات مختلف مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان می‌شوند (Wang *et al.*, 2006). تنش خشکی از طریق کاهش نرخ فتوسنتز، مقدار آب قابل استفاده و حجم کل کلروفیل، تخریب سامانه انتقال الکترون‌ها و تغییر شکل اکسیژن فعال سبب پژمردگی گیاهان می‌شود (Saraswathi and Paliwal, 2011).

امروزه شواهد زیادی مبنی بر اهمیت همزیستی

قارچ‌های میکوریز در بهبود کیفیت فیزیکی خاک (از طریق ریشه خارجی)، بهبود خصوصیات شیمیایی خاک (از طریق افزایش جذب مواد غذایی) و بهبود وضعیت زیستی خاک وجود دارد (Saranya and Kumutha, 2011).

استفاده از قارچ‌های میکوریز آربسکولار می‌تواند فناوری مناسبی برای استقرار نونهال‌ها باشد. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که تولید نهال‌های میکوریزی موجب افزایش رشد، قطر ساقه، ارتفاع ساقه، سطح برگ، فتوسنتز، حجم ریشه و جذب فسفر، کلسیم و منیزیم شده است (Birhane *et al.*, 2015). نتیجه پژوهش‌های انجام‌گرفته روی گونه‌های *P. vera* (میرزایی و Abbaspour *et al.*, 2012) و *P. khinjuk* (همکاران، ۱۳۹۰) نشان داد که تلقیح نهال‌ها با قارچ‌های میکوریزی آربسکولار موجب افزایش ارتفاع، قطر یقه، زیست‌توده، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه شده است. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مقدار متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر تنش‌های محیطی است. واکنش آنزیم‌ها و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان به شدت تنش و مدت زمان اعمال آن، نوع گونه و ژنوتیپ، همچنین سن و مرحله رشد گیاه بستگی دارد (Mishra *et al.*, 2006). آنزیم پراکسیداز، گلیکوپروتئین‌هایی هستند که در سیتوسول، دیواره سلولی و واکوئل قرار دارند و از اکسیداسیون ترکیبات فنلی مانند گایاکول برای سم‌زدایی و تجزیه H_2O_2 استفاده می‌کنند. از طرف دیگر، محتوای کلروفیل برگ عاملی مهم در تعیین ظرفیت فتوسنتزی برگ محسوب می‌شود و کاهش محتوای کلروفیل به‌عنوان یک عامل غیرروزی‌ای می‌تواند سبب کاهش ظرفیت فتوسنتزی برگ شود. مقدار کلروفیل کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ترتیب جزو مشخصه‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مهمی هستند که به‌عنوان عامل‌های متغیر تحت تأثیر تنش‌های مختلف محیطی می‌توانند معیار مناسبی

فاصله نزدیک‌ترین ایستگاه سینوپتیک از منطقه قازان‌قایه ۴۰ کیلومتر (مراوه‌تپه) است. درون این منطقه، یک ایستگاه باران‌سنجی قرار دارد. براساس آمار ایستگاه سینوپتیک شهرستان مراوه‌تپه (۱۳۷۲ تا ۱۳۸۴)، میانگین درجه حرارت سالانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد است. گرم‌ترین و سردترین ماه‌های سال به ترتیب مرداد با میانگین ۲۹ درجه سانتی‌گراد و دی با میانگین ۷/۲ درجه سانتی‌گراد هستند. میانگین بارش سالانه ۳۷۰/۱ میلی‌متر است. میانگین بارش در مرطوب‌ترین ماه (اسفند) ۴۹/۳ میلی‌متر و در خشک‌ترین ماه (مرداد) ۱۲/۶ میلی‌متر است. مقدار تبخیر سالانه ۱۷۳۹ میلی‌متر است. براساس داده‌های ایستگاه باران‌سنجی قازان‌قایه، میانگین بارش سالانه ۲۴۲ میلی‌متر است. طول فصل خشک حدود ۷/۵ ماه (از فروردین تا نیمه آبان) است. ضریب خشکی دومارتن، اقلیم مراوه‌تپه را نیمه‌خشک نشان می‌دهد. درحالی‌که براساس داده‌های ایستگاه باران‌سنجی قازان‌قایه (تقسیمات اقلیمی کوپن)، رویشگاه پسته جنگلی دارای اقلیم خشک است.

شیوه اجرای پژوهش

به‌منظور تولید نهال، دو کیلوگرم بذر از بخش‌های مختلف تاج پنج درخت مادری جمع‌آوری شد. این درختان به‌طور تصادفی در یک توده خالص پسته جنگلی انتخاب شدند. در آزمایشگاه بذره‌های نارس و آسیب‌دیده (توسط حشرات و عوامل دیگر) جدا شدند. بذره‌های سالم در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سطح بذره‌های سالم با محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به‌مدت پنج دقیقه ضدعفونی شد. سپس بذرها با آب مقطر شسته شدند. بذرها به‌منظور جوانه‌زنی به‌مدت پنج ماه (از آبان تا اسفند ۹۲) در بستری از ماسه اتوکلاو شده (در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد با فشار ۲۰ اتمسفر به‌مدت ۲۰ دقیقه، بدون احتساب زمان لازم برای رسیدن به دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد) کاشته شدند. این بستر در

برای تشخیص تنش باشند (Baek and Woo, 2010). یکی از مؤثرترین راه‌های غلبه بر مشکل خشکی، استفاده از نهال‌های میکوریزی است. امروزه می‌توان از قارچ‌های میکوریزی برای بهبود وضعیت جنگلکاری گونه‌های درختی در مناطق خشک استفاده کرد. استقرار و رشد بیشتر گونه‌های گیاهی به کمک همزیستی با قارچ‌های میکوریزی به‌عنوان یک روش زیستی مؤثر به اثبات رسیده است (Reis et al., 2012). بنابراین با توجه به ارزش اقتصادی و اکولوژیک پسته جنگلی (*Pistacia vera*) و همچنین با توجه به پراکنش این گونه در مناطق خشک و نیمه‌خشک، امید است استفاده از قارچ‌های میکوریز روش مناسبی برای استقرار موفق‌تر آن در جنگلکاری‌ها باشد. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تنش خشکی در نهال‌های پسته جنگلی تلقیح‌شده با قارچ میکوریزی *Funneliformis mosseae*، از طریق قطع آبیاری و اندازه‌گیری رشد نهال‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

معرفی منطقه

توده‌های پسته جنگلی منطقه قازان‌قایه در مجاورت روستایی به همین نام در فاصله ۲۸ تا ۵۰ کیلومتری شرق و شمال شرقی شهر مراوه‌تپه، در منطقه‌ای تپه‌ماهوری مشرف به مرز ایران و ترکمنستان قرار دارند. براساس تقسیم‌بندی مبین و تره‌گوبو (۱۳۴۸)، این توده‌ها در ناحیه ایران و تورانی واقع شده‌اند. جنگل‌های طبیعی پسته در حوضه آبریز اترک در گستره‌ای بالغ بر ۲۰ هزار هکتار به‌صورت توده‌های تنک و به‌ندرت نیمه‌انبوه در هفت‌هزار هکتار به‌صورت توده‌های انبوه مشاهده می‌شوند (کریمی‌دوست، ۱۳۷۹). منطقه قازان‌قایه با داشتن توده‌های طبیعی پسته جنگلی (*Pistacia vera*)، بانک ژنتیکی مهمی از این نوع گونه در ایران به‌شمار می‌آید (کریمی‌دوست، ۱۳۷۹).

فضای باز (خارج از گلخانه) قرار داده شد. به‌منظور تولید نهال میکوریزی پسته جنگلی، بذرهاى تازه جوانه‌زده، همراه با ۱۰۰ گرم مایه تلقیح تجاری که حاوی ۳۳۰۰ اسپور قارچ *Funneliformis mosseae* بود، در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۳ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر کاشته شد. پس از گذشت ۳۴ روز از تلقیح با قارچ میکوریزی، نهال‌ها به گلدان‌های پلاستیکی بزرگ‌تر به قطر ۱۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر حاوی خاک اتوکلاو شده انتقال داده شدند. نهال‌های میکوریزی و شاهد برای طی مراحل رویش در فضای باز (خارج از گلخانه) در نهالستان مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور قرار داده شدند.

با توجه به اینکه در منطقه قازان‌قابه تنش خشکی در طول فصل خشک و در فاصله زمانی بین دو بارندگی پدید می‌آید، ایجاد تنش خشکی در نهال‌های دوساله پسته جنگلی در تیر ماه ۱۳۹۴، از طریق قطع آبیاری (به‌صورت نرمال یعنی سه بار در هفته بود) صورت گرفت. پس از مشاهده علائم پژمردگی در برگ بیشتر نهال‌ها (بیش از ۵۰ درصد نهال‌ها)، دوباره آبیاری انجام گرفت (ریکاوری). در این مرحله از برگ و ریشه نهال‌ها برای اندازه‌گیری مشخصه‌های زیستی در زمان‌های کنترل (بدون اعمال تنش خشکی)، چهار، شش و نه روز بعد از تنش خشکی ایجادشده نمونه‌برداری شد. در نهایت بعد از آبیاری مجدد نهال‌ها (ریکاوری) نیز نمونه‌برداری انجام گرفت.

نتایج

صفات مورفولوژیک

تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین نهال‌های میکوریزی و نهال‌های بدون میکوریز برای صفات بررسی‌شده وجود دارد (جدول ۱). این مقایسه نشان می‌دهد که رشد نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی از نظر طول ساقه، قطر ساقه، طول ریشه و مساحت برگ نسبت به نهال‌های شاهد بیشتر است، اما بین صفات مربوط به قطر ریشه و پدیده چندشاخگی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). تنش خشکی نیز تأثیر معنی‌داری بر صفات اندازه‌گیری‌شده هم در نهال‌های میکوریزی و هم در نهال‌های بدون میکوریز گذاشت و سبب کاهش صفات شد (جدول ۱).

مقدار کلروفیل a، b و کل در شرایط بدون تنش خشکی در نهال‌های بدون میکوریز بیشتر از نهال‌های میکوریزی بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اختلاف معنی‌داری را بین نهال‌های میکوریزی و بدون میکوریز نشان داد (جدول ۱)، تنش خشکی سبب

مهم‌ترین ویژگی‌های مورفولوژیک مؤثر بر استقرار نهال‌ها در عرصه‌های طبیعی شامل طول ساقه، قطر یقه، طول ریشه، قطر قطورترین قسمت ریشه، تعداد انشعابات ساقه و مساحت برگ اندازه‌گیری شد (Green et al., 2005; Huat et al., 2002; Kung'u et al., 2008). درصد کلونیزاسیون قارچ به روش Biermann and Linderman (1981) تعیین شد.

با استفاده از نمونه برگ نهال‌ها، مقدار کلروفیل شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل

در نهال‌های بدون تنش (۸۰ درصد) و کمترین درصد در نهال‌های تحت تنش خشکی مشاهده شد (جدول ۱).

کاهش کلروفیل a، b و کل در نهال‌های بدون میکوریز و افزایش آنها در نهال‌های میکوریزی شد (جدول ۱). تنش خشکی منجر به کاهش درصد کلونیزاسیون قارچ در گیاه شده بود. بیشترین درصد

جدول ۱- مقایسه مشخصه‌های زیستی نهال‌های میکوریزی و شاهد پسته جنگلی در شرایط تنش خشکی و بدون تنش خشکی

نهال‌های پسته جنگلی				مشخصه‌های زیستی
در معرض تنش خشکی		بدون تنش خشکی		
شاهد	میکوریزی	شاهد	میکوریزی	
* ۹	* ۱۸	** ۱۲	** ۲۴	طول ساقه (سانتی‌متر)
* ۲/۵	* ۴	** ۳/۵	** ۷/۵	قطر ساقه (میلی‌متر)
* ۳۰	* ۳۸	** ۳۵/۵	** ۴۷	طول ریشه (میلی‌متر)
ns ۳	ns ۲/۵	ns ۴	ns ۴	قطر ریشه (میلی‌متر)
ns ۲	ns ۳	ns ۲	ns ۳	تعداد انشعاب ساقه
** ۲/۷۴	** ۱۳/۹۰	** ۸/۰۳	** ۲۱/۸۲	مساحت برگ (سانتی‌متر مربع)
** ۰/۵۵۳	* ۰/۵۰۴	** ۰/۷۸۳	** ۰/۴۲۸	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم برگ)
* ۱/۳۵	** ۱/۲۳	** ۱/۶۹	** ۰/۷۹۴	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم برگ)
ns ۲/۱۳۳	* ۱/۶۵۸	ns ۲/۲۴۳	** ۱/۲۹۸	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم برگ)
-	۳	-	۸۰	کلونیزاسیون قارچ میکوریز (درصد)

** معنی‌داری در سطح ۱ درصد؛ * معنی‌داری در سطح ۵ درصد؛ ns نبود تفاوت معنی‌دار.

شد، یعنی درست زمانی که ارتباط بین گیاه و قارچ میکوریز به کمترین حد خود (۳ درصد) رسید (شکل ۱ و جدول ۱).

روند فعالیت آنزیم کاتالاز نیز همانند آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نهال‌های میکوریزی و بدون میکوریز پسته جنگلی بود، به طوری که این فعالیت در نهال‌های بدون میکوریز بیشتر از نهال‌های میکوریزی بود (شکل ۲).

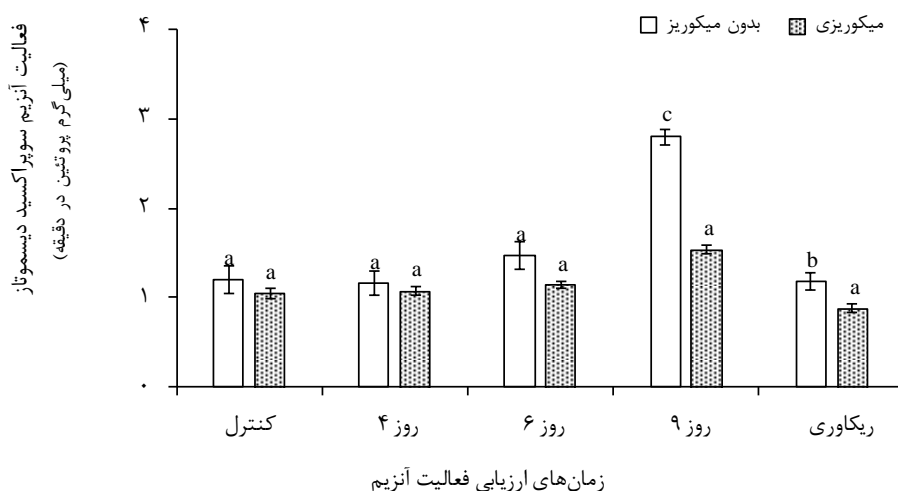
تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های بدون میکوریز شد، اما اختلاف معنی‌داری بین ششمین و نهمین روز بعد از اعمال تنش مشاهده نشد (شکل ۲). فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی در نهال‌های میکوریزی فقط در نه روز بعد از اعمال تنش نسبت به دیگر تیمارها معنی‌دار بود (شکل ۲). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های

صفات بیوشیمیایی

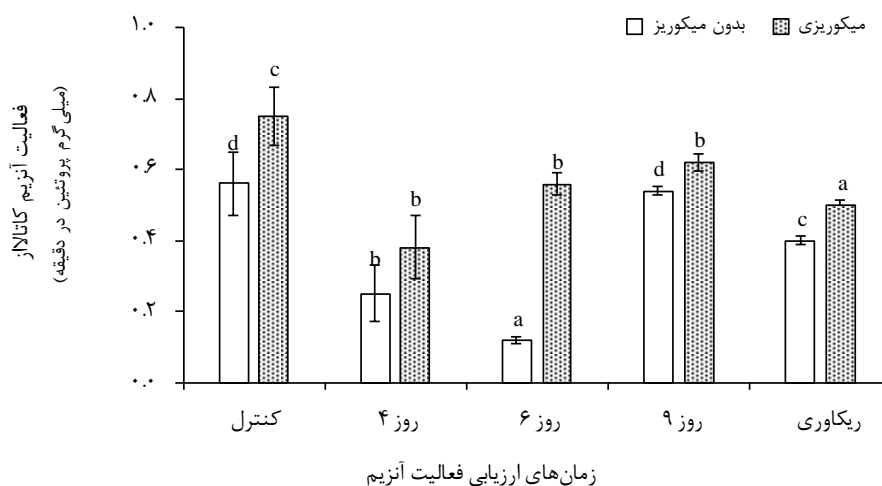
نتایج مقایسه میانگین بین نهال‌های میکوریزی و بدون میکوریز نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نهال‌های بدون میکوریز در همه تیمارها (کنترل، چهار، شش و نه روز بعد از اعمال تنش خشکی و آبیاری مجدد) بیشتر از نهال‌های میکوریزی بود، اما فقط در تیمار شش و نه روز بعد از اعمال تنش خشکی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (شکل ۱). تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ششمین و نهمین روز بعد از اعمال تنش خشکی در نهال‌های بدون میکوریز (به ترتیب ۱/۴۷ و ۲/۸ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) شد، در حالی که در نهال‌های میکوریزی تنها در نه روز بعد از اعمال تنش خشکی (۱/۵۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها دیده

جنگلی در زمان کنترل (بدون تنش خشکی) مشاهده شد (شکل ۲).

میکوریزی و بدون میکوریز به ترتیب ۰/۶۲ و ۰/۸۲ میلی گرم پروتئین در دقیقه بود (شکل ۱). کمترین مقدار این فعالیت در هر دو گروه نهال‌های پسته



شکل ۱- فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در نهال‌های پسته جنگلی طی دوره تنش خشکی حروف لاتین بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۱ درصد است. خطای معیار در بالای ستون مربوط نشان داده شده است.



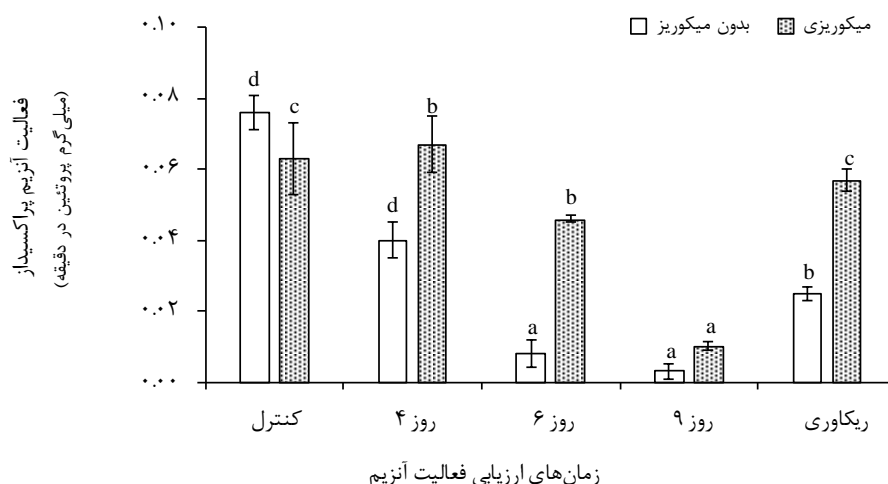
شکل ۲- فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های پسته جنگلی طی دوره تنش خشکی حروف لاتین بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۱ درصد است. خطای معیار در بالای ستون مربوط نشان داده شده است.

به طور معنی‌داری بیشتر از نهال‌های میکوریزی بود (شکل ۳). تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم

فعالیت آنزیم پراکسیداز نهال‌های بدون میکوریز در همه تیمارها به جز تیمار کنترل (بدون تنش)

معنی داری بین آنها وجود نداشت (شکل ۳). بیشترین مقدار این فعالیت در نهال‌های میکوریزی (۰/۰۵۷ میلی گرم پروتئین در دقیقه) در نهمین روز بعد از اعمال تنش خشکی بود (شکل ۳).

پراکسیداز در هر دو گروه نهال پسته جنگلی (میکوریز و بدون میکوریز) شد (شکل ۳). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در نهال‌های بدون میکوریز در شش و نه روز بعد از اعمال تنش خشکی (۰/۰۶۷ و ۰/۰۷۶ میلی گرم پروتئین در دقیقه) بود که اختلاف



شکل ۳- فعالیت آنزیم پراکسیداز در نهال‌های پسته جنگلی طی دوره تنش خشکی

حروف لاتین بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۱ درصد است. خطای معیار در بالای ستون مربوط نشان داده شده است.

اندازه سطح برگ به افزایش زی‌وزن نهال‌ها کمک می‌کند. (Liu *et al.* (2015) افزایش زی‌وزن نهال‌های میکوریزی صنوبر را نسبت به نهال‌های بدون میکوریز در شرایط بدون تنش خشکی و تحت تنش خشکی گزارش کردند. آنها اشاره کردند که طول ساقه نهال‌های بدون میکوریز تحت تنش خشکی کاهش یافت. (Khalvati *et al.* (2005) نشان دادند که هیف‌های نازک قارچ‌های میکوریزی آربسکولار با دسترسی به فضاهای ریز خاک، که ریشه‌های موئین قادر به نفوذ در آنها نیستند، سبب جذب آب موجود در این فضاهای ریز می‌شوند. بنابراین انتقال آب از این فضاهای خاک به ریشه گیاهان تحت تنش خشکی، در رشد بهتر آنها تأثیر بسیار مهم و چشمگیری دارد. (Augé *et al.* (2015) اشاره کردند که میکوریزها علاوه بر کمک به جذب آب و مواد

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که قارچ‌های میکوریزی آربسکولار قادر است تأثیر مثبتی بر رشد نهال‌های پسته جنگلی تحت تنش خشکی داشته باشد. ارزیابی صفات مورفولوژیک نشان داد که بین نهال‌های میکوریزی و بدون میکوریز پسته جنگلی از نظر میانگین طول ساقه، قطر ساقه، طول ریشه و مساحت برگ در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌دار وجود دارد. نتایج این پژوهش همسو با یافته‌های (Birhane *et al.* (2015) شامل تنش خشکی و تلقیح قارچ میکوریز روی نهال‌های آکاسیا بود. در پژوهش اخیر شاخص‌های رشد در نهال‌های میکوریزی همواره بزرگ‌تر از نهال‌های بدون میکوریز بود. همچنین زی‌وزن نهال‌های میکوریزی بیشتر از نهال‌های بدون میکوریز بود. بیشتر بودن مقدار جذب عناصر غذایی و

در تحمل به تنش آبی به‌خوبی برای گیاهان متعددی گزارش شده است (Sánchez-Romera *et al.*, 2016). در این پژوهش تنش خشکی به کاهش درصد کلونیزاسیون قارچ در نهال‌های پسته جنگلی منجر شد. زمانی که شرایط محیطی بسیار نامساعد باشد، جوانه‌زنی اسپورها و توسعه هیفاها و اندام‌های تکثیر قارچ نیز محدود می‌شود و در نتیجه توانایی همزیستی میکوریزی (کلونیزاسیون) کاهش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های (Barea *et al.*, 2011). Lara-Pérez (2014). *et al.* و (Urgiles *et al.*, 2014) همسوست.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) در نهال‌های بدون میکوریز بیشتر از نهال‌های میکوریزی بود. تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌ها در نهال‌های بدون میکوریز شد. آنزیم‌ها و دیگر عوامل آنتی‌اکسیدانت در این شرایط برای نهال‌ها نقش دفاعی دارند. به همین دلیل می‌توان نتیجه گرفت که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مختلفی به‌منظور هوموستازی مناسب در غلظت‌های زیاد H_2O_2 با همدیگر هماهنگ می‌شوند. به‌طور کلی آنزیم‌ها تأثیر مهمی در سازوکارهای دفاعی در شرایط شدید تنش دارند (Gill and Tuteja, 2010). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که در شرایط تنش افزایش می‌یابد، اولین آنزیمی است که در چرخه آنتی‌اکسیدانی فعال می‌شود (Chakraborty and Pradhan, 2012). این آنزیم به‌عنوان اولین خط دفاعی سیستم آنتی‌اکسیدانی در مقابل فرم‌های مولکولی فعال اکسیژن فعال می‌شود و موجب تبدیل رادیکال‌های آزاد به H_2O_2 می‌شود. در ادامه H_2O_2 ایجادشده به مولکول آب و اکسیژن تجزیه می‌شود که این عمل توسط آنزیم کاتالاز و پراکسیداز انجام می‌گیرد (Gratao *et al.*, 2005). نتایج این پژوهش نشان داد همزیستی میکوریزی با نهال‌های پسته جنگلی سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان طی تنش خشکی شد. به این ترتیب می‌توان بیان داشت که

غذایی سازوکارهای مختلفی را به‌منظور کاهش تنش خشکی فعال می‌کنند. برای مثال، بهبود عملکرد روزنه‌ها سازوکاری است که به کمک میکوریزها فعال شده و با افزایش بازده مصرف آب موجب کاهش آسیب اکسیداتیو می‌شود.

در بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریزی آربسکولار مشخص شد که میکوریز سبب افزایش بردباری گیاه میزبان در برابر تنش خشکی و اثرهای منفی آن می‌شود. سازوکارهای دفاعی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در برابر صدمات ناشی از استرس خشکی با همزیستی میکوریزی افزایش می‌یابد (Silva *et al.*, 2015). در این پژوهش، همزیستی نهال‌های پسته جنگلی با قارچ میکوریزی سبب کاهش مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل کل در طی تنش خشکی نسبت به نهال‌های بدون میکوریز شد، اما نتایج مطالعه (Abbaspour *et al.*, 2012) در نهال‌های پسته جنگلی مقدار کلروفیل را در نهال‌های میکوریزی بیشتر از نهال‌های بدون میکوریز نشان داد. محتوای کلروفیل برگ، عاملی مهم در تعیین ظرفیت فتوسنتزی برگ محسوب می‌شود و کاهش محتوای کلروفیل به‌عنوان یک عامل غیرروشنه‌ای می‌تواند سبب کاهش ظرفیت فتوسنتزی برگ شود (Saranya and Kumutha, 2011) بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً قارچ‌های میکوریزی با کاهش مقدار کلروفیل در طی تنش خشکی موجب کاهش تولید فرم‌های مولکولی فعال اکسیژن می‌شوند و از این طریق خسارت سیستم فتوسنتزی گیاه را کاهش می‌دهند. در طول دوره تنش خشکی، کاهش مقدار کلروفیل و کم بودن مقادیر آن در اثر کاسته شدن فرم‌های مولکولی فعال اکسیژن، ممکن است صفت مفیدی باشد (Kranter *et al.*, 2002).

محققان، تنظیم خواص هیدرولیکی ریشه به‌کمک کلونیزاسیون قارچ میکوریزی را گزارش کرده‌اند (Barzana *et al.*, 2012; Sánchez-Romera *et al.*, 2016). نقش کلونیزاسیون قارچ میکوریزی آربسکولار

منابع

کریمی‌دوست، اسدالله، ۱۳۷۹. بررسی کمی و کیفی توده‌های طبیعی پسته در منطقه مراوه‌تپه شرق استان گلستان، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، ۷۵ ص.

مبین، صادق و تره‌گوبو، ۱۳۴۸. راهنمای نقشه‌رویشی ایران، دانشگاه تهران، تهران، ۴۰ ص.

مظفریان ولی‌الله، ۱۳۸۳. درختان و درختچه‌های ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۹۹۱ ص.

میرزایی، جواد، مسلم اکبری‌نیا، ابراهیم محمدی گل‌تپه، مظفر شریفی، یونس رضایی دانش، ۱۳۹۰. تأثیر قارچ‌های میکوریز آربسکولار بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک نهال‌های خنجوک (*Pistacia khinjuk*) تحت تنش خشکی، تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۹ (۲): ۲۹۱-۳۰۰.

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

Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants, *Agronomy Journal*, 23: 112-121.

Atatahafrooz, R., S.M.R. Khoshru, and A. Tajabadipour, 2015. Study of the diversity in different cultivars of *Pistacia vera* L. resistant to drought and salinity: Comparing protein patterns using SDS-PAGE method, *Journal of Nuts*, 6(1): 47-55.

Augé, R.M., H.D. Toler, and A.M. Saxton, 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis, *Mycorrhiza*, 25(1):13-24.

Baek, S.G., and S.Y. Woo, 2010. Physiological and biochemical responses of two tree species in urban areas to different air pollution levels, *Photosynthetica*, 48(1): 23-29.

نهال‌ها تنش خشکی را دیرتر احساس کرده‌اند. این روند تا زمانی که ارتباط بین گیاه و قارچ فراهم است، ادامه دارد. با ادامه یافتن تنش خشکی، مقدار ارتباط بین قارچ و گیاه (درصد کلونیزاسیون) به کمترین مقدار می‌رسد، سپس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در نهال‌های پسته جنگلی افزایش می‌یابد. در این پژوهش کمترین ارتباط قارچ با گیاه در نهمین روز بعد از اعمال تنش خشکی اتفاق افتاد، یعنی درست زمانی که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیشترین فعالیت را نشان دادند. یکی از دلایل احتمالی این پدیده این است که قارچ‌های میکوریزی آربسکولار جذب آب توسط گیاهان را بهبود می‌بخشند و مقاومت گیاه به خشکی را افزایش می‌دهند. این نتایج با یافته‌های Yadav et al. (2012) و Abbaspour et al. (2015) که درباره مقاومت نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی به تنش خشکی تحقیق کرده بودند، همخوانی دارد. برای غلبه بر مشکل خشکی حاکم بر رویشگاه‌های بررسی شده و احیای آنها، استفاده از نهال‌های میکوریزی پسته جنگلی پیشنهاد می‌شود. مقاومت این نهال‌ها در برابر خشکی به سبب همزیستی با قارچ‌های میکوریزی بیشتری است. با توجه به مطالعات گذشته در مورد همزیستی قارچ‌های میکوریزی با گیاهان و بر اساس یافته‌های این پژوهش نتیجه می‌گیریم که نهال‌های میکوریزی به سبب بهره‌مندی از مزایای همزیستی با قارچ، از طریق افزودن جذب حداقل آب موجود در خاک به واسطه هیف‌های قارچ و همچنین کاهش مقدار از دست دادن آب از طریق کاهش سطح برگ و کاهش محتوی کلروفیل و در نهایت کاهش نرخ فتوسنتز در طول دوره تنش اعمال شده، مقاومت بیشتری نسبت به نهال‌های بدون میکوریز نشان داده‌اند و به این ترتیب در بهبود و احیای رویشگاه‌های خشک و مخروبه پسته جنگلی می‌توان از آنها استفاده کرد.

- Bai, B.Z., S.Q. Yu, W.X. Tian, and J.Y. Zhao, 1996. Plant physiology, China Agricultural Science Press; China.
- Barea, J.M., R. Azcón, and C. Azcón-Aguilar, 2011. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81: 343-351.
- Bárzana, G., R. Aroca, J.A. Paz, F. Chaumont, M.C. Martínez-Ballesta, M. Carvajal, and J.M. Ruiz-Lozano, 2012. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions, *Annals of Botany*, 109(5): 1009-1017.
- Biermann, B., and R.G. Linderman, 1981. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization, *New Phytologist*, 87(1): 63-67.
- Birhane, E., T.W. Kuyper, F.J. Sterck, K. Gebrehiwot, and F. Bongers, 2015. Arbuscular mycorrhiza and water and nutrient supply differently impact seedling performance of dry woodland species with different acquisition strategies, *Plant Ecology and Diversity*, 8(3): 387-399.
- Chakraborty, U., and B. Pradhan, 2012. Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H₂O₂ accumulation, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24(2): 117-130.
- Eising, R., and B. Gerhardt, 1989. Catalase synthesis and turnover during peroxisome transition in the cotyledons of *Helianthus annuus*, *Plant Physiology*, 89(3): 1000-1005.
- Gill, S.S., and N. Tuteja, 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(21): 909-930.
- Gratão, P.L., A. Polle, P.J. Lea, and R.A. Azevedo, 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier, *Functional Plant Biology*, 32(6): 481-494.
- Green, J.J., J.A. Baddeley, J. Cortina, and C.A. Watson, 2005. Root development in the Mediterranean shrub *Pistacia lentiscus* as affected by nursery treatment, *Journal of Arid Environment*, 61(1): 1-12.
- Huat, O.K., K. Awang, A. Hashim, and N.M. Majid, 2002. Effects of fertilizers and vesicular-arbuscular mycorrhizas on the growth and photosynthesis of *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs seedlings, *Forest Ecology and Management*, 158: 51-58.
- Khalvati, M.A., Y. Hu, A. Mozafar, and U. Schmidhalter, 2005. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress, *Plant Biology*, 7: 706-712.
- Kranner, I., R.P. Beckett, S. Wornik, M. Zorn, and H.W. Pfeifhofer, 2002. Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidants status, *The Plant Journal*, 31(1): 13-24.
- Kung'u, J.B., R.D. Lasco, L.U. Dela Cruz, R.E. Dela Cruz, and T. Husain, 2008. Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of *Senna spectabilis*, *Pakistan Journal of Botany*, 40(5): 2217-2224.
- Lara-Pérez, L.A., J.C. Noa-Carranza, S. Hernández-González, E. Alarcón-Gutiérrez, L.R. Sánchez-Velásquez, R. Zulueta-Rodríguez, L. Lara-Capistrán, and A. Andrade-Torres, 2014. Diversity and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in the tree fern *Alsophila firma* in rainy and dry season, *Symbiosis*, 62(3): 143-150.
- Liu, T., M. Sheng, C.Y. Wang, H. Chen, Z. Li, and M. Tang, 2015. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, water status, and photosynthesis of hybrid poplar under drought stress and recovery, *Photosynthetica*, 53 (2): 250-258.
- McCord, J.M., and I. Fridovich, 1969. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, 244(22): 6049-6055.
- Mishra, S.H., C.M. Shelley, D.J. Barrow, M.K. Darby, and M.W. Germann, 2006. Solution structures and characterization of human immunodeficiency virus Rev responsive element IIB RNA targeting zinc finger proteins, *Biopolymers*, 83(4): 352-364.

- Reis, F.S., Isabel C.F.R. Ferreira, and A. Martins, 2012. Effect of the mycorrhizal symbiosis time in the antioxidant activity of fungi and *Pinus pinaster* roots, stems and leaves, *Industrial Crops and Products*, 35: 211-216.
- Sánchez-Romera, B., J.M. Ruiz-Lozano, A.M. Zamarreño, J.M. García-Mina, and R. Aroca, 2016. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and methyl jasmonate avoid the inhibition of root hydraulic conductivity caused by drought, *Mycorrhiza*, 26(2):111-22.
- Saranya, K., and K. Kumutha, 2011. Standardization of the substrate material for large scale production of arbuscular mycorrhizal inoculums, *International Journal of Agriculture Sciences*, 3(1): 71-77.
- Saraswathi, S.G., and K. Paliwal, 2011. Drought induced changes in growth, leaf gas exchange and biomass production in *Albizia lebbek* and *Cassia siamea* seedlings, *Journal of Environmental Biology*, 32(2): 173-178.
- Silva, E.M., L.C. Maia, K.M.S. Menezes, M.B. Braga, N.F. de Melo, and A.M.Y. Melo, 2015. Water availability and formation of propagules of arbuscular mycorrhizal fungi associated with sorghum, *Applied Soil Ecology*, 94: 15-20.
- Urgiles, N., A. Straub, P. Loján, and A. Schüßler, 2014. Cultured arbuscular mycorrhizal fungi and native soil inocula improve seedling development of two pioneer trees in the Andean region, *New Forests*, 45(6): 859-874.
- Wang, F.Y., X.G. Lin, R. Yin, and L.H. Wu, 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth of *Elsholtzia splendens* and *Zea Mays* and the activities of phosphatase and urease in a multi-metal-contaminated soil under unsterilized conditions, *Applied Soil Ecology*, 31: 110-119.
- Yadav, A., V.K. Suri, A. Kumar, A.K. Choudhary, and A.L. Meena, 2015. Enhancing plant water relations, quality, and productivity of Pea (*Pisum sativum* L.) through arbuscular mycorrhizal fungi, inorganic phosphorus, and irrigation regimes in a Himalayan acid alfisol, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 46(1): 80-93.

Effect of water stress on the growth and antioxidant enzymes activities of pistachio mycorrhiza seedlings (*Pistacia vera L.*)

T. Feizi Kamareh¹, R. Rahmani^{*2}, H. Soltanloo³, and M. Matinizade⁴

¹PhD student, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, I. R. Iran

²Associate Prof., Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, I. R. Iran

³Associate Prof., Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, I. R. Iran

⁴ Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(Received: 13 June 2016; Accepted: 16 October 2016)

Abstract

Abiotic environmental stress is an important factor in the limitation of plant growth and production. At the same time, environmental stresses such as drought and salinity become more widespread globally. One of the resistance mechanisms against the stress is symbiosis with soil microorganisms, including arbuscular mycorrhizal. In order to evaluate the effect of water stress on the growth and antioxidant enzymes activities of Pistachio mycorrhiza seedlings (*Pistacia vera L.*) inoculated seedlings with mycorrhizal fungi with *Funneliformis mosseae* produced. In this study the vases irrigated for two years to complete establishment seedling for (three time in weeks), then drought stress was imposed in during nine days. After measuring growth factors, the effect of the fungus growth factors such as stem length stem diameter, branch length, branch diameter and leaf area index was statistically significant different in mycorrhizal seedlings ($P < 0.01$). However, in diameter of branches and ramifications phenomenon any significant difference was not observed. The results showed that mycorrhizal fungi symbiosis resulted to reduce the amount of chlorophyll a and b and total chlorophyll in seedlings during drought stress in compare with reference. The CAT, POD activity and total protein were higher in mycorrhiza seedling than non-mycorrhiza seedling in drought condition, but it was no significant effect in SOD activity. The antioxidant activities have significant impacts on stress tolerance and reducing the damage. It seems that, when plants are close to permanent wilting point, the majority of biochemical systems of plants is affected and reaches to lowest point such as enzyme activity. Drought stress is caused to creation of simulated natural conditions and the actual performance of mycorrhizal fungi on seedlings determined. According to these results, we can say the arbuscular mycorrhizal fungi had useful effect and mycorrhizal seedlings can be used for improving and restoring the degraded areas of Pistachio.

Keywords: CAT, Chlorophyll, Pistachio forest, POD, SOD.