DOI: https://doi.org/10.30466/jfrd.2023.54759.1671
DOR: https://dorl.net/20.1001.1.24763551.1403.10.1.4.6

پژوهش و توسعه جنگل
جلد ۱۰، شماره ۱، صفحه ۷۱-۵۷، (۱۴۰۳)

مقالهٔ پژوهشی

تأثیر قارچ مایکوریزا بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و جذب عناصر غذایی نهال‌های پالونیا فورتونی (*Paulownia fortunei*) تحت تنش خشکی

الهام حسنی[۱]، سعید جلالی هنرمند[۲]، مرتضی پوررضا*[۳] و علی بهشتی آل‌آقا[٤]

۱- کارشناسی ارشد علوم و مهندسی جنگل، گروه مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. (elhamhasani.2868@gmail.com)
۲- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. (sjhonarmand@yahoo.com)
۳- استادیار، گروه مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. (pourreza@razi.ac.ir)
٤- دانشیار، گروه مهندسی علوم خاک، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. (beheshtiali97@gmail.com)

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۰٤/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۷/۲۵

چکیده

مقدمه و هدف: تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در جهان و از شایع‌ترین تنش‌های غیرزیستی است. به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک، استقرار و رشد نهال‌های جوان، کاملاً تحت‌تاثیر کمبود آب و تنش خشکی است. در این شرایط استفاده از همزیستی میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه قارچ‌های مایکوریزایی، می‌تواند با کمک به افزایش جذب آب و عناصر غذایی، اثر تنش خشکی را کاهش دهد. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش، شناسایی اثر تلقیح قارچ مایکوریزا آربسکولار بر جذب برخی عناصر غذایی ماکرو و میکرو و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گونه پالونیا فورتونی (*Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl) به‌عنوان یک گونه تندرشد بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش گلدانی، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو عامل انجام گرفت. عامل اول شامل چهار سطح تنش خشکی (بدون تنش با آبیاری کامل ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی، تنش ضعیف با آبیاری در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، تنش متوسط با آبیاری در ٦۰ درصد ظرفیت زراعی و تنش شدید با آبیاری در ٤۰ درصد ظرفیت زراعی) و عامل دوم شامل دو سطح بدون و با قارچ‌های مایکوریزا آربسکولار بود. اعمال تیمارهای تنش‌خشکی بر اساس روش وزنی انجام شد. ویژگی‌های مورد بررسی شامل اندازه‌گیری پروتئین محلول، آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و همچنین جذب عناصر غذایی همچون فسفر، نیتروژن، پتاسیم، روی، آهن و منگنز بود. پس از دسته‌بندی داده‌ها، پراکنش نرمال و همگنی واریانس داده‌ها به‌ترتیب با آزمون شاپیرو ویلک و آزمون لوون بررسی شد. از

* نویسنده مسئول شمارهٔ تماس: ۰۹۱۸۷۲۹٤۵۸٤

تحلیل واریانس دو طرفه برای بررسی معنی‌داری اثر ساده و متقابل عامل‌ها استفاده شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها، از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و مایکوریزا بر هیچ یک از صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود. اثر ساده مایکوریزا بر تغییرات آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بوده ولی بر دیگر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار نشد. نتایج نشان داد که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش مقدار پروتئین محلول، فعالیت آنزیم پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین غلظت پروتئین محلول مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۳۸/۹۵ و کمترین آن مربوط به تیمار بدون تنش (شاهد) با میانگین ۳۱/٤٥ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ است ولی مابین تیمارهای تنش ضعیف، متوسط و تنش شدید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در مورد غلظت آنزیم کاتالاز مابین تیمارهای تنش متوسط و تنش شدید، همچنین تیمار تنش ضعیف و تنش متوسط اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین غلظت آنزیم پراکسیداز مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۳/۷۷ میلی گرم برمول بر دقیقه برمیلی‌گرم پروتئین و کمترین آن مربوط به تیمار بدون تنش (شاهد) با میانگین ۳/۲۱ میلی گرم بر مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بوده ولی، مابین تیمارهای تنش متوسط و تنش شدید و همچنین مابین تیمارهای تنش ضعیف و تنش متوسط اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین غلظت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۰/۱۷٦ و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد یا بدون تنش با میانگین ۰/۱۰۸ میلی‌گرم برمول بر دقیقه برمیلی‌گرم پروتئین بود. غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار با مایکوریزا با میانگین ۰/۱۵۹ میلی‌گرم برمول بر دقیقه برمیلی‌گرم پروتئین و به طور معنی‌داری بیشتر از غلظت این آنزیم در تیمار بدون مایکوریزا با میانگین ۰/۱٤۰ میلی‌گرم بر مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد. تنش خشکی همچنین باعث کاهش کلیه عناصر غذایی اندازه‌گیری شده شد؛ درحالی‌که تلقیح با قارچ مایکوریزا سبب افزایش عناصر غذایی به جز نیتروژن در کلیه سطوح تنش خشکی شد.

نتیجه‌گیری کلی: گرچه با افزایش سطوح تنش خشکی، جذب عناصر غذایی ماکرو و میکرو توسط نهال‌های پالونیا فورتونی کاهش می‌یابد ولی کاربرد قارچ مایکوریزا می‌تواند در شرایط تنش خشکی، جذب عناصر غذایی ماکرو و میکرو را به‌دلیل جذب بهتر آب توسط هیف‌های گسترش‌یافته در اطراف ریشه‌ها بهبود بخشد. بنابراین به نظر می‌رسد که قارچ مایکوریزا در جذب و متابولیسم عناصر مورد نیاز نهال‌های پالونیا فورتونی به‌ویژه در شرایط تـنش اهمیت زیادی دارد. همچنین، تلقیح قارچ مایکوریزا باعث افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) شد که می‌تواند مقاومت نهال را در برابر تنش خشکی افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پروتئین محلول، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز.

مقدمه

پالونیا فورتونی (*Paulownia forotoni* L.)، یکی از تندرشدترین گونه‌های جنس پالونیا است که در مناطقی از چین، لائوس و ویتنام با متوسط بارندگی ۷۷۰ میلی‌متر به شکل طبیعی رشد می‌کند. گونه‌های جنس پالونیا برای رشد و عملکرد مناسب در مناطقی با بارندگی کمتر از رویشگاه طبیعی، به آبیاری منظم کافی و با شوری کم نیاز دارند (Nodeh *et al.*, 2021; Sheikh *et al.*, 2017). کاهش منابع چوبی و افزایش نیاز به چوب سبب ایجاد جنگلکاری با گونه‌های تندرشد شده است (Swamy et al., 2006). پالونیا فورتونی از گونه‌های تندرشد غیربومی است که علاوه بر تولید چوب در زیباسازی فضای سبز شهری نیز استفاده می‌شود. چوب این گونه به دلیل سبکی و مقاومت بسیار زیاد، کاربردهای فراوانی در صنایع تولیدی دارد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای چوب نراد، تیک، ساچ و سرخ‌چوب باشد (Bahrinejad and Khazaeian, 2013).

تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در جهان و از شایع‌ترین تنش‌های غیرزیستی است. تنش خشکی، تنشی چندبعدی است که طیف وسیعی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی را در گیاهان تحریک می‌کند (Moayedinezhad et al., 2020). از مهم‌ترین اثرهای تنش خشکی، اختلال در جذب عناصر غذایی است (Hu and Schemidhalter , 2005) که هر کدام از این عناصر وظایف مهمی را در گیاهان برعهده دارند. با توجه به اینکه کلیه عناصر غذایی در گیاهان به شکل محلول در آب جذب می‌شوند، جذب عناصر در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد (Hussain et al., 2018; Askari et al., 2019). تنش خشکی به‌طورکلی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان تحت‌تأثیر قرار داده و به شکل قابل توجهی رشد آن‌ها را کاهش می‌دهد (Ghanbari et al., 2020; Saeidi Abueshaghi et al., 2023) و سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز در گیاه می‌شود (Zafari et al., 2020).

تلقیح گیاهان با انواع مختلف قارچ‌های مفید خاکزی، از استراتژی‌های مقابله با تنش‌خشکی به‌شمار می‌رود (Ghadirnezhad Shiade et al., 2023). قارچ‌های مایکوریزا آربسکولار پراکنش وسیعی داشته و با بیشتر گونه‌های گیاهی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک همزیستی دارند (Zamani kebrabadi et al., 2020). این قارچ‌ها سبب افزایش مقاومت بیشتر درختان در مقابل تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی می‌شوند، چرا که همزیستی مایکوریزایی منجر به افزایش هدایت آب در ریشه می‌شود (Ostadi et al., 2023; Zamani kebrabadi et al., 2021). به‌طورکلی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارای اثر مستقیم با همزیستی مایکوریزا آربسکولار در پاسخ به تنش‌خشکی در گیاه میزبان است، به‌صورتی‌که با تلقیح مایکوریزا فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی، افزایش پیدا می‌کند (Qiu-shuang et al., 2022; Spinoso-Castillo et al., 2023; wu et al., 2013; Jia et al., 2015). پروتئین‌های محلول در شرایط تنش خشکی سبب کمک به رشد گیاه و پایداری غشا در شرایط تنش می‌شوند (Bartels and Salamini, 2001). تلقیح مایکوریزایی سبب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز می‌شود (Alguacil et al., 2003). عملکرد قارچ‌های مایکوریزا شامل افزایش سطح مؤثر ریشه و به تبع آن توانایی افزایش جذب فسفر، افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز و ترکیبات آلی حل‌کننده فسفات نامحلول خاک، سبب شده است که این قارچ‌ها به‌عنوان کودهای زیستی

استفاده شود (Mohammadi et al., 2019; Begum et al., 2019). گزارش شده است که همزیستی با قارچ مایکوریزا علاوه بر اینکه جذب عناصر غذایی همچون نیتروژن، فسفر، آهن و پتاسیم در گیاه را افزایش می‌دهد، سبب کاهش اثرهای ناشی از سوء فقر عناصر غذایی و تنش‌های خشکی و شوری می‌شود (Abbaspour et al., 2012; Begum et al., 2019; Dutt et al., 2013; Geneva et al., 2010; Polcyn et al., 2019).

در پژوهشی که توسط Naheeda et al. (2022) بر روی گیاه تنباکو انجام شد، مشاهده شد که همزیستی مایکوریزایی در شرایط تنش خشکی سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و وضعیت تغذیه‌ای گیاه تنباکو شده‌است. در پژوهش Ashraf et al. (2010) نیز مشخص شد که گیاهان همزیست با مایکوریزا دارای غلظت بیشتری از عنصر پتاسیم نسبت به گیاهان غیرهمزیست هستند. در پژوهش دیگری توسط Aghababaei et al. (2011) درباره اثر همزیستی قارچ مایکوریزا بر ژنوتیپ‌های مختلف بادام نشان داده شد که این همزیستی منجر به کاهش غلظت نیتروژن در اندام‌های هوایی و زیرزمینی بادام شد. به‌صورت کلی جذب عناصر غذایی متحرک همچون نیتروژن، به نسبت تبخیر و تعرق و حرکت توده‌ای بستگی دارد. به‌طوری‌که هر چه این نسبت بزرگتر شود، مقدار جذب این عناصر نیز بیشتر می‌شود اما برای جذب عناصر غیرمتحرک مثل فسفر و روی، ویژگی‌های ریشه گیاه همچون سرعت رشد طولی و طول کل ریشه، سرعت جذب عناصر توسط ریشه و سطح جذب ریشه موثرند و به همین دلیل همزیستی با قارچ مایکوریزا سبب افزایش غلظت فسفر در ریشه و اندام‌های هوایی بادام می‌شود. Zhang et al. (2019) اثر قارچ مایکوریزا آربسکولار را در بهبود رشد و تحمل به خشکی نهال *Zenia insignis* بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد که گیاهان همزیست با قارچ مایکوریزا در شرایط خشکسالی تاثیر مثبتی بر زیست‌توده این گیاه، اسمولیت‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داشته و محتوای فسفر شاخه‌ها در گیاهان مایکوریزایی نیز افزایش می‌یابد. در پژوهشی دیگر، Ghanbary et al. (2020) تأثیر قارچ مایکوریزا و ریزوباکتری محرک رشد بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در نهال‌های استبرق در شرایط تنش خشکی موردبررسی قرار دادند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که تلقیح مایکوریزا و ریزوباکتریایی سودوموناس در شرایط تنش‌خشکی به‌صورت معنی‌داری غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد. با توجه به نبود اطلاعات کافی در خصوص چگونگی پاسخ نهال‌های تلقیح‌شده گونه پالونیا با قارچ‌های همزیست، به تنش خشکی، هدف از انجام این پژوهش، شناسایی تاثیر کاربرد قارچ مایکوریزا آربوسکولار در شرایط تنش خشکی بر غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جذب غلظت برخی عناصر پرمصرف و کم‌مصرف بر گونه پالونیا فورتونی است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش برای تعیین تاثیر همزیستی قارچ مایکوریزا بر جذب عناصر غذایی پرمصرف (نیتروژن، پتاسیم و فسفر)، عناصر کم‌مصرف (آهن، روی و منگنز) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش خشکی بر روی نهال پالونیا فورتونی در سال ۱۴۰۱-۱۳۹۹ در گلخانه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی استان کرمانشاه اجرا شد. این آزمایش گلدانی، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و دو عامل انجام گرفت. عامل اول شامل چهار سطح تنش‌خشکی (بدون تنش با آبیاری کامل ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی، تنش ضعیف با آبیاری در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، تنش متوسط با آبیاری در ۶۰ درصد

ظرفیت زراعی و تنش شدید با آبیاری در ٤٠ درصد ظرفیت زراعی) و عامل دوم شامل دو سطح بدون و با قارچ‌های مایکوریزا آربسکولار بود. قارچ مایکوریزای تجاری به نام مایکوروت، حاوی سویه‌های *Glomus mosseae, Glomus intradices* و *Glomus etuncatum* با تعداد (CFU/g) 10^{7} تا 10^{8}بود که توسط شرکت دانش‌بنیان زیست فناور پیشتاز واریان با تایید موسسه آب و خاک کشور تولید شده‌بود. بذرهای پالونیا به مدت یک هفته در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سرمادهی شده و ٢٤ ساعت قبل از کشت در آب خیسانده شدند، سپس در دو سینی کشت، به‌صورت جداگانه برای تولید نهال کاشته شد. یک سینی با بذرهایی که قبل از کاشت، مرطوب و سپس با قارچ مایکوریزا بذرمال شده بودند و سینی دیگر که با بذرهای تلقیح نشده (شاهد)، پر شدند. بسترهای کشت در محیط گلخانه و در دمای بین ٢٢ تا ٢٦ درجه سانتی گراد با آبیاری منظم تا زمان جوانه‌زنی نگهداری شد. پس از تولید، نهال‌ها در مرحله چهاربرگی به گلدان منتقل شدند. بستر کشت گلدان‌ها ترکیبی از خاک مزرعه، ماسه و کمپوست برگ با نسبت‌های دو: یک: یک، آماده و به‌طور مساوی در گلدان‌ها تقسیم شد. پس از انتقال نهال‌ها به گلدان به مدت یک ماه هر هفته از کود ترکیبی نیتروژن، فسفر و پتاسیم (NPK) هر یک به مقدار ٢٠ درصد استفاده شد (Khaleghi et al., 2019). اعمال تنش‌های خشکی به مدت چهل روز انجام شد.

تعیین ظرفیت زراعی

اعمال تیمارهای تنش‌خشکی بر اساس روش وزنی انجام شد. ابتدا یکی از گلدان‌ها از خاک مورد استفاده پر و با استفاده از ترازو وزن شد. سپس با افزودن آب، خاک گلدان را تا درجه اشباع رسانده و به مدت چندین ساعت اجازه داده شد تا گلدان پس از زهکشی آب اضافی، به ظرفیت زراعی مزرعه برسد. در این مرحله گلدان را به سرعت توزین شده و خاک آن در آون با دمای ١٠٥ درجه به مدت ٤٨ ساعت کاملاً خشک شد. سپس با مشخص شدن درصد وزنی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی، مقدار رطوبت موجود در خاک برای اعمال تیمارهای خشکی مختلف مشخص شد (Sanjari Mijani et al, 2015). همچنین با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج خاک (مدل-LUTRON PMS 714) به موازات روش وزنی استفاده شد.

کلونیزاسیون ریشه

پس از اتمام دوره تنش از قسمت‌های جوان ریشه در کلیه تیمارها حدود یک گرم جدا کرده و برای تعیین کلونیزاسیون قارچ مایکوریزا از روش Phillips and Hayman (1970) با اندکی تغییر استفاده شد.

تعیین جذب عناصر غذایی

مقدار یک گرم از نمونه‌های برگ آسیاب شده و مخلوط شده تکرارهای هر تیمار (قبل و بعد از تنش) را به‌صورت مجزا در بوته‌چینی قرار داده و در دمای ٥٥٠ تا ٦٠٠ درجه سانتی‌گراد درون کوره به مدت ١٠ ساعت حرارت داده شد تا به‌صورت خاکستر درآید. بعد از سرد شدن خاکستر نمونه‌ها، به هر نمونه مقدار ١٠ میلی لیتر HCL دو نرمال اضافه شد و توسط دستگاه جذب اتمی، غلظت برخی عناصر غذایی شامل پتاسیم، آهن، روی و منگنز اندازه‌گیری شد (Emami, 1996). برای اندازه‌گیری غلظت نیتروژن از روش Bozkurt and Yarilga (2003) به کمک دستگاه کجلدال استفاده شد. برای اندازه‌گیری فسفر نیز پس از تهیه محلول‌های استاندارد، مقدار ١٠ سی‌سی از عصاره‌های برگ و شاهد (اسید سولفوسالیسیلیک)، در بالن ژوژه ٥٠ میلی‌لیتری ریخته و مقدار ١٠ سی‌سی از محلول آمونیوم مولیبدات وانادات به آن اضافه شد و به حجم رسانده شد. در این مرحله، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ٤٧٠ نانومتر

به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Carry به روش رنگ‌سنجی تعیین شد (Chapman and Pratt, 1961).

سنجش غلظت پروتئین کل

برای استخراج پروتئین کل ۲۵۰ میلی‌گرم از نمونه‌های پودر شده را توزین و در میکروتیوپ‌ها ریخته و یک میلی‌لیتر از بافر استخراج به آن اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شد. برای سنجش غلظت پروتئین محلول، مقدار ۰۱٪ گرم ماده کوماسی برلیانت بلو G-250 در پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد در تاریکی کامل حل شد، در ادامه ۱۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد آرام آرام به محلول اضافه و کاملا همگن شد و در انتها حجم آن به کمک آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس در چاهک‌های پلیت، ۲۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی و ۱۸۰ میکرولیتر از معرف ریخته و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، مقدار جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه الایزا خوانده شد (Brradford, 1976).

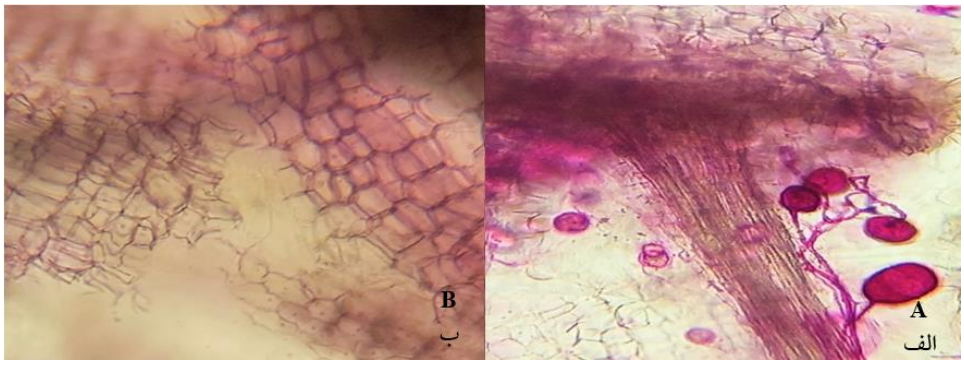
سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

پس از آماده‌سازی عصاره پروتئینی به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با اندکی تغییر از روش Sinha (1972)استفاده و در طول موج ۵۷۰ نانومتر مقدار جذب نوری قرائت شد. برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز با کمی تغییر از روش Chance and Maehly (1995) با جذب نوری ٤٧٠ نانومتر استفاده شد و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از روش Beauchamp and Fridovich (1970) به کمک دستگاه الایزا مقدار جذب نور آن در طول موج ٥٦٠ نانومتر قرائت شد.

پس از دسته‌بندی داده‌ها، پراکنش نرمال و همگنی واریانس داده‌ها به‌ترتیب با آزمون شاپیرو ویلک و آزمون لوون بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه آماری SPSS استفاده شد و از آنالیز واریانس دو طرفه برای بررسی معنی‌داری اثر ساده و متقابل عامل‌ها استفاده شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها، در صورت معنی‌دارشدن نتیجه آنالیز واریانس، از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به بررسی کلونیزاسیون ریشه نهال‌های پالونیا با قارچ‌های مایکوریزا نشان داد که کلونیزاسیون قارچ مایکوریزا به خوبی با ریشه نهال‌ها ایجاد شد. (شکل ۱). همانطور که در شکل ۱ (ب) مشاهده می‌شود، میسلیوم قارچ در اپیدرم و یاخته‌های قشر ریشه نفوذ یافته و تشکیل وزیکول گلابی شکل به‌صورت بین‌سلولی در بافت کورتکس ریشه داد.



شکل ۱- ریشه نهال مایکوریزایی (الف) و غیر مایکوریزایی (ب) گونه پالونیا فورتونی

Figure 1. Mycorrhizal root (A) and non-mycorrhizal root (B) of *Paulownia fortunei*

غلظت آنزیم‌ها آنتی‌اکسیدانی و پروتئین محلول

نتایج مربوط به تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل تنش خشکی و مایکوریزا بر هیچ یک از صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود (جدول ۱). از سویی دیگر، اثر ساده سطوح تنش خشکی بر تغییرات آنزیم پراکسیداز، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پروتئین محلول در سطح یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر ساده مایکوریزا بر تغییرات آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بوده ولی بر دیگر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار نشد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین غلظت پروتئین محلول مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۳۸/۹۵ و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد یا بدون تنش با میانگین ۳۱/٤٥ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ است و مابین تیمارهای تنش ضعیف، متوسط و تنش شدید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). در خصوص فعالیت آنزیم کاتالاز، نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین غلظت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۰/۰٤٥ و کمترین مقدار آن متعلق به تیمار بدون تنش با میانگین ۰/۰۳۲ میلی‌گرم برمول بر دقیقه برمیلی-گرم پروتئین است ولی، مابین تیمارهای تنش متوسط و تنش شدید، همچنین تیمار تنش ضعیف و تنش متوسط و در نهایت تیمار شاهد و تنش ضعیف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). درباره فعالیت آنزیم پراکسیداز، نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین غلظت آنزیم پراکسیداز مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۳/۷۷ میلی گرم برمول بر دقیقه برمیلی‌گرم پروتئین و کمترین آن مربوط به تیمار بدون تنش (شاهد) با میانگین ۳/۲۱ میلی گرم برمول بر دقیقه برمیلی‌گرم پروتئین بوده ولی مابین تیمارهای تنش متوسط و تنش شدید و همچنین مابین تیمارهای تنش ضعیف و تنش متوسط اختلاف معنی‌داری از نظر میانگین غلظت آنزیم پراکسیداز مشاهده نشد (جدول ۲). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، بیشترین غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار با مایکوریزا با میانگین ۰/۱۵۹ میلی‌گرم برمول بر دقیقه برمیلی‌گرم پروتئین و کمترین غلظت این آنزیم مربوط به تیمار بدون مایکوریزا با میانگین ۰/۱٤۰ میلی‌گرم بر مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد. همچنین مقایسه میانگین داده‌های آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مشخص کرد که، بیشترین غلظت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۰/۱۷٦ و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد یا بدون تنش با میانگین ۰/۱۰۸ میلی‌گرم برمول بر دقیقه برمیلی‌گرم پروتئین است و مابین تیمارهای تنش متوسط و تنش شدید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

غلظت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف

نتایج نشان داد جذب عناصر ماکرو و میکرو در برگ با مقدار آب دردسترس گیاه رابطه مستقیم دارد، به‌طوری‌که با افزایش سطح تنش خشکی مقدار جذب این عناصر نیز کاهش می‌یابد (شکل ۲، الف، ب، پ، ت،ث و ج). جذب عناصر فسفر، پتاسیم، آهن، روی و منگنز در تیمارهای همزیست با مایکوریزا در کلیه سطوح تنش افزایش یافت (شکل ۲، الف ب، پ، ت و ج). درحالی‌که در گیاهان همزیست با مایکوریزا در شرایط بدون تنش مقدار جذب عنصر نیتروژن افزایش

یافت اما در سطوح تنش ضعیف، متوسط و تنش شدید مقدار جذب این عنصر در گیاهان همزیست نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۲، ث). بیشترین غلظت عناصر یاد شده در تیمار بدون تنش یا شاهد مشاهده شد و کمترین غلظت آن‌ها مربوط به تیمار تنش شدید است (شکل ۲، الف، ب، پ، ت، ث و ج).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر مایکوریزا و تنش خشکی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بر نهال‌های پالونیا

Table 1. ANOVA (mean square) of mycorrhiza and drought stress effect on antioxidant enzymes on Paulownia seedlings

منابع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی df	آنزیم پراکسیداز Peroxidase	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	آنزیم کاتالاز Catalase	پروتئین محلول Soluble protein
مایکوریزا Mycorrhiza	1	0.408^{ns}	0.002^{**}	5.04^{ns}	16.20^{ns}
سطوح تنش Stress levels	3	2.42^{**}	0.006^{**}	0.010^{**}	60.50^{**}
اثر متقابل Interaction	3	0.118^{ns}	0.001^{ns}	2.63^{ns}	0.327^{ns}
خطا Error	16	0.219	0.00018	3.95	6.88
ضریب تغییرات Coefficient of variation	3	0.229	2.190	0.190	0.102

ns،* و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ و ۹۹ درصد.

ns, * and**: non-significant, significant at 95 and 99 percent confidential level, respectively

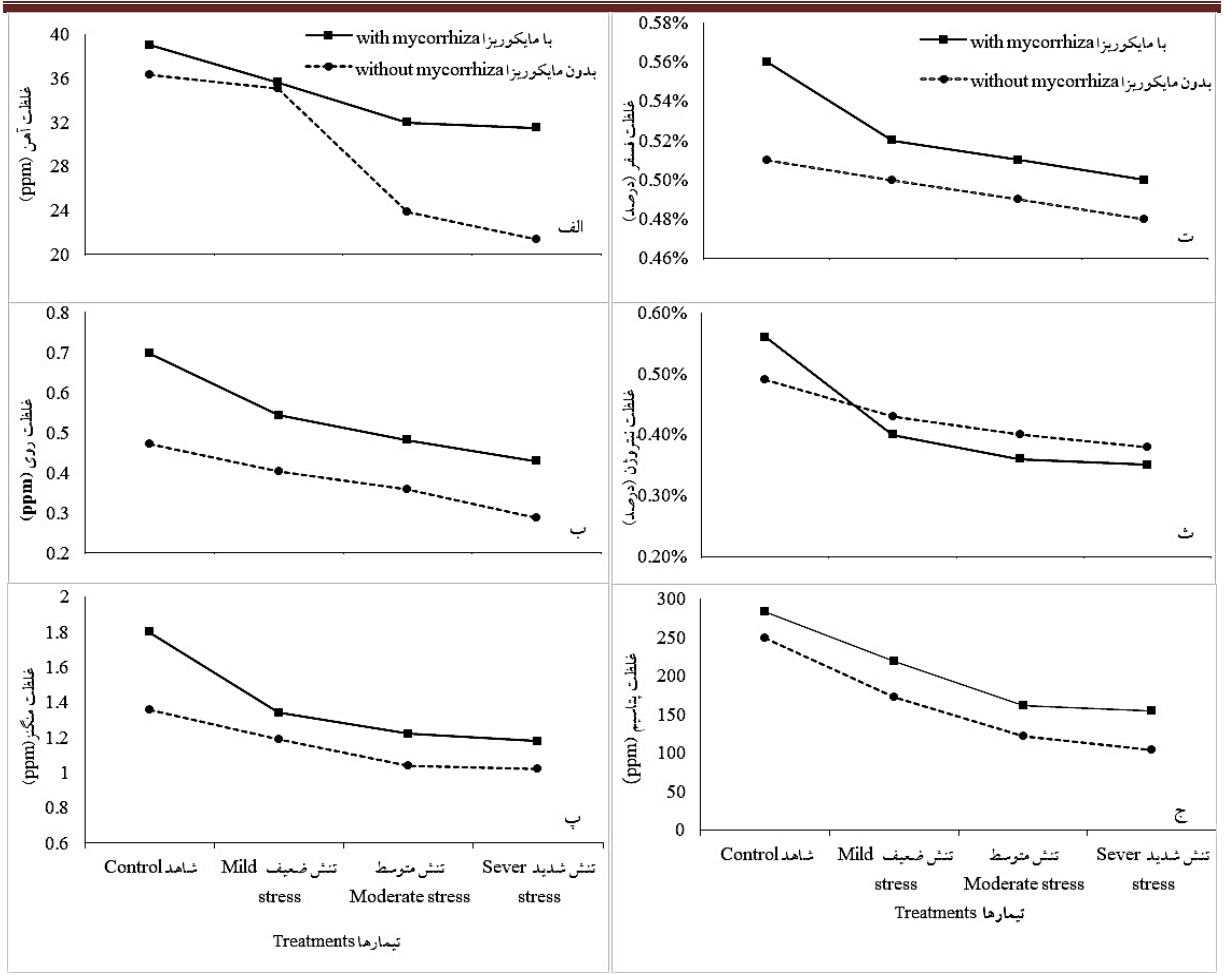
جدول ۲- مقایسه میانگین (± اشتباه معیار) اثرهای ساده تنش خشکی و مایکوریزا بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نهال‌های پالونیا

Table 2. Mean comparison (± standard error) of simple effects of drought stress and mycorrhiza on antioxidant enzymes of Paulownia Seedlings

عامل‌ها Factors	تیمار Treatment	آنزیم پراکسیداز (میلی‌گرم بر مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) Peroxidase (milli gr/mol/minute/milli gr protein)	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (میلی‌گرم بر مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) Superoxide dismutase (milli gr/mol/minute/milli gr protein)	آنزیم کاتالاز (میلی‌گرم بر مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) Catalase (milli gr/mol/minute/milli gr protein)	پروتئین محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) Soluble protein (mgr/gr Fresh weight of leaves)
تنش خشکی Drought stress	شاهد Control	$2.29^{c} \pm 0.147$	$0.108^{c} \pm 0.003$	$0.032^{c} \pm 0.000$	$31.45^{b} \pm 1.15$
	ضعیف Mild	$2.89^{b} \pm 0.103$	$0.141^{b} \pm 0.007$	$0.036^{bc} \pm 0.001$	$36.03^{a} \pm 0.947$
	متوسط Moderate	$3.36^{ab} \pm 0.273$	$0.171^{a} \pm 0.009$	$0.041^{ab} \pm 0.003$	$36.95^{a} \pm 0.803$
	شدید Sever	$3.77^{a} \pm 0.178$	$0.176^{a} \pm 0.008$	$0.045^{a} \pm 0.002$	$38.95^{a} \pm 1.16$
مایکوریزا Mycorrhiza	با مایکوریزا With mycorrhiza	2.95 ± 0.200	$0.159^{a} \pm 0.011$	0.038 ± 0.002	35.02 ± 1.07
	بدون مایکوریزا No mycorrhiza	3.21 ± 0.210	$0.140^{b} \pm 0.006$	0.039 ± 0.002	36.66 ± 1.03

حروف مشابه در هر ستون نشانه تفاوت غیرمعنی‌دار بین آنها است.

Similar letters in each column indicate non-significant differences between them.



شکل ۲- تغییرات غلظت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در برگ نهال‌های تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده پالونیا با مایکوریزا در شرایط تنش خشکی

Figure 2. Changes in the concentration of macro and micro-elements in the leaves of Paulownia seedlings inoculated and not inoculated with mycorrhiza under drought stress conditions

بحث

همزیستی مایکوریزایی علاوه بر بهبود تغذیه گیاه می‌تواند از روش‌های گوناگون مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Wu et al., 2013) و حفظ رنگیزه‌های کلروفیلی اثرهای منفی تنش‌های محیطی را در گیاه میزبان کاهش دهد. در این پژوهش نیز، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نهال‌های پالونیا در شرایط تنش خشکی افزایش یافت. همچنین تلقیح مایکوریزایی سبب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز شد که با نتایج Alguacil et al. (2003) مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گیاهان تلقیح‌شده با قارچ مایکوریزا در شرایط تنش خشکی در نهال‌های *Juniperus oxycedrus* مطابقت داشت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

همچون کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و مقدار پرولین در شرایط تنش خشکی افزایش پیدا می‌کند (Zafari et al., 2020). طبق پژوهش‌های پیشین، مابین مقدار پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رابطه‌ای مستقیم داشته و در واقع گیاه در تنش خشکی، با تجمع پروتئین‌ها مقدار سازگاری فیزیولوژیکی و تحمل به خشکی را افزایش می‌دهد (Bartels and Salamini, 2001; Hayat and Ahmad, 2007). همچنین با افزایش مقدار رادیکال‌های سوپراکسید در یاخته‌های تحت تنش خشکی، غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز افزایش پیدا می‌کند (Zafari et al., 2020).

کاهش جذب عناصر با افزایش سطوح تنش خشکی می‌تواند به دلیل کاهش رطوبت و به پیرو آن کاهش عناصر محلول در آب باشد. در این راستا، نتایج پژوهش Hu and Schemidhalter (2005) نشان داد که کاهش جذب عناصر در شرایط تنش‌خشکی بـه سبب ایجاد اختلال در مکانیسم‌های جـذب و انتقـال عناصر غذایی و در پی آن کاهش مقدار رطوبت خاک و ریشه است که با نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش جاری تطابق دارد. در واقع با کاهش رطوبت خاک، تحرک عناصر غذایی به ویژه فسفر و پتاسیم در اطراف سطح ریشه کمتر شده و سبب کاهش دسترسی گیاهان به این منابع غذایی می‌شود. زیرا عناصر غیرمتحرک تحت شرایط خشکی به ذرات رس موجود در خاک چسبیده و کمتر در اختیار گیاه قرار می‌گیرند (Hussain et al., 2018). از سویی دیگر، تنش‌خشکی تعداد تارهای کشنده گیاهان را کاهش داده و سبب آسیب به مورفولوژی و انشعابات ریشه می‌شود که این امر در نهایت جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر را توسط سیستم ریشه‌ای کاهش می‌دهد (Askari et al., 2019). قارچ‌های مایکوریزا قادرند با افزایش جذب فسفر توسط نهال، اثرهای منفی تنش خشکی را کاهش دهند. قارچ‌های مایکوریزا با افزایش سطح جذب ریشه‌ها و اسیدی کردن محیط ریزوسفر، سبب حل‌کردن عناصر کم‌تحرک شده و آن‌ها را برای گیاهان، قابل‌استفاده می‌نمایند (Begum et al., 2019; Mohammadi et al., 2019). همانطورکه گفته شد، مهم‌ترین عنصری که به‌وسیله قارچ مایکوریزا به‌طور فعال و در سطح وسـیع جـذب می‌شود، عنصر فسفر است که بهبود جذب آن در گیاهان مایکوریزایی در شرایط تنش خشکی گزارش شد (Mohammadi et al., 2019). در این راستا، نتایج Aghababaei and Raiesi (2011) نیز نشان داد که همزیستی نهال‌های بادام با مایکوریزا در شرایط تنش خشکی، سبب افزایش ٤٠ درصدی غلظت فسفر نسبت به شاهد شد که می‌تواند تاییدکننده نتایج بدست‌آمده از پژوهش جاری باشد. در مورد عنصر پتاسیم نیز با توجه به اینکه فقط شکل‌های محلول و تبادلی آن قابل استفاده گیاه است، جذب آن در گیاهان همزیست با مایکوریزا بیشتر از گیاهان غیرهمزیست است (Ashraf, 2010). افزایش جذب عناصر آهن، فسفر، نیتروژن و پتاسیم در اثر کاربرد مایکوریزا در گیاه ذرت (*Zea mays*) گزارش شده‌است (Polcyn et al., 2019). در پژوهش حاضر همزیستی با قارچ مایکوریزا در شرایط تنش خشکی بر مقدار جذب نیتروژن گیاهان تاثیر کمی داشته و این یافته‌ها با نتایج Aghababaei and Raiesi (2011) مبنی بر کاهش نیتروژن در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ مایکوریزا در نهال بادام تطابق داشت. کاهش غلظت آهن در شرایط تنش خشکی به‌علت اختلال در نفوذپذیری غشا و کاهش سرعت انتشار مواد غذایی از خاک به سطح ریشه است که تلقیح با قارچ مایکوریزا سبب افزایش مقدار جذب عناصر غذایی به‌ویژه آهن می‌شود (Geneva et al., 2010; Abbaspour et al., 2012). تخمین زده می‌شود که در گیاهان تلقیح‌شده با

مایکوریزا، حدود ۸۰ درصد جذب فسفر، توسط مایکوریزا انجام شده و علاوه بر جذب فسفر، مایکوریزا جذب نیتروژن، پتاسیم، منیزیم، مس، آهن و روی را نیز بهبود می‌دهد (Polcyn et al., 2019). در پژوهش Dutt et al. (2013) نیز افزایش جذب عناصر میکرو مانند روی، مس، منگنز و آهن در نهال‌های زردآلو که با قارچ مایکوریزا تلقیح شده‌بودند، به افزایش مقدار کلونیزاسیون ریشه بوده و به پیرو آن افزایش سطح جذب عناصر غذایی از ریزوسفر خاک نسبت داده شد که می‌تواند تاییدکننده نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش باشد.

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطوح تنش خشکی، جذب عناصر غذایی ماکرو و میکرو توسط گیاه کاهش یافت. با کاربرد قارچ مایکوریزا تحت شرایط تنش خشکی، جذب عناصر غذایی ماکرو و میکرو به دلیل جذب بهتر آب توسط هیف‌های گسترش‌یافته مایکوریزا در اطراف ریشه‌ها در نهال پالونیا فورتونی مشاهده شد. با توجه به نتایج پژوهش‌های دیگر، به نظر می‌رسد که قارچ مایکوریزا در جذب و متابولیسم عناصر مورد نیاز گیاه تـأثیر مهمـی داشته و مقدار این عناصر در گیاهان تلقیح‌شده افزایش یافت. این مهم به‌ویژه در شرایط تـنش برای گیاهان اهمیت زیادی دارد. همچنین، تلقیح قارچ مایکوریزا منجر به افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) شد. براساس نتایج به‌دست‌آمده می‌توان کاربرد قارچ مایکوریزا را به عنوان یک استراتژی، برای پایداری گیاه و کاهش اثرهای منفی خشکی و بهبود شرایط تغذیه‌ای تحت تنش خشکی معرفی کرد.

References

Aghababaei, F.; Raiesi, F.; Nadian, H., Influence of mycorrhizal symbiosis on the uptake of nutrients in some commercial genotypes of Almond in a sandy loam soil. *Iranian Journal of Soil Research* **2011**, *25* (2), 137- 147. (In Persian)

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

Alguacil, M. M.; Hernandez, J.A.; Caravaca, F.; Portillo, B.; Roldan, A., Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. *Physiologia Plantarum* **2003**, *118* (4), 562- 570.

Ashraf, M., Inducing drought tolerance in plants: recent advances. *Biotechnology Advances* **2010**, *28*, 169-183.

Askari, A.; Ardakani, M.R.; Paknejad, F.; Hosseini, Y., Effects of mycorrhizal symbiosis and seed priming on yield and water use efficiency of sesame under drought stress condition. *Scientia Horticulturae* **2019**, *257*, 108749.

Bartels, D.; Salamini, F., Desiccation tolerance in resurrection plant Craterostigma plantagineum. A contribution to the study of drought tolerance at the molecular level. *Plant Physiology* **2001**, *127*, 1346 -1353.

Bahrinejad, R.; Khazaeian, A., Industrial applications of *spruce poplar* and *palonium* fast growing species, Proceedings of the 2th National Conference on Sustainable Agriculture and Environment, *Hamadan, Iran* **2013**, 9 p. (In persain)

Beauchamp, C.; Fridovich, I., Superoxide dismutse: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* **1970**, *44* (1), 276- 287.

Begum, N.; Qin, C.; Ahanger, M.A.; Raza, S.; Khan, M.I.; Ashraf, M.; Ahmed, N.; Zhang, L., Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: Implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science* **2019**, *10*, 1068- 1085.

Bozkurt, M.A.; Yarilga, T., The effects of sewage sludge applications on the yield, growth, nutrition and heavy metal accumulation in apple trees growing in dry conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **2003**, *27*, 285- 292.

Bradford, M. A., rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Biochemistry* **1976**, *72*, 248-254.

Chapman, H.D.; Pratt P.F., *Methods of analysis for soils, plants and waters*. University of California, Riverside **1961**, p 309.

Chance, B.; Maehly, A.C., Assay of catalase and peroxidase. In *Methods in enzymology*; Culowic, and Kaplan, N.O., Eds. *Academic Press*. Inc. New York **1995**, pp 764- 765.

Dutt, S.; Sharma, S.D.; Kumar, P., Inoculation of apricot seedlings with indigenous arbuscular mycorrhizal fungi in optimum phosphorus fertilization for quality growth attributes. *Journal of Plant Nutrition* **2013**, *36*, 15– 31.

Emami, A., Soil and Water Research Institute. *Methods of plant analysis* **1996**, p 982. (In Persian)

Geneva, M. P.; Stancheva, I. V.; Boychinova, M. M.; Mincheva, N. H.; Yonova, P. A., Effects of foliar fertilization and arbuscular mycorrhizal colonization on Salvia officinalis L. growth, antioxidant capacity, and essential oil composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2010**, *90*, 696 -702.

Ghadirnezhad, Sh.; Fathi, R., A.; Taghavi Ghasemkheili, F.; Amiri, E., Plants responses under drought stress conditions: Effects of strategic management approaches- A review. *Journal of plant Nutrition* **2023**, *46* (9), 2198-2230.

Ghanbari, E.; Fathizadeh, O.; Tabari, M., The effect of mycorrhizal fungi and growth-promoting rhizobacteria on the activity of antioxidant enzymes of Calotrope Seedlings under drought Stress, *Journal of Forest Research and Development* **2020**, *6* (3), 477-489. (In Persian)

Hayat, S.; Ahmad, A., Salicylic Acid: A Plant Hormone. *Springer* **2007**, Pp, 97-,99.

Hu, Y.; Schemidhalter, U., Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **2005**, *168*, 541- 549.

Hussain, H. A.; Hussain, S.; Khaliq, A.; Ashraf, U.; Anjum, S.A.; Men, S.; Wang, L., Chilling and drought stresses in crop plants: Implications, cross talk, and potential management opportunities. *Frontiers in Plant Science* **2018**, *9*, 1- 21.

Jia, J.; Li, S.; Cao, X.; Li, H.; Shi, W.; Polle, A.; Liu, T.; Peng, C.; Luo, Z., Physiological and transcriptional regulation in poplar roots and leaves during acclimation to high temperature and drought, *Physiologia Plantarum* **2015**, *157* (1), 38- 53.

Khaleghi, A.; Naderi, R.; Brunetti, C.; Maserti, B.E.; Salami, S.A.; Babalar M., Morphological, physiochemical and antioxidant responses of Maclura pomifera to drought stress. *Scientific Reports* **2019**, *9*, 1-12.

Moayedinezhad, A.; Mohammadparast, B.; Hosseini Salekdeh, Gh.; Mohseni fard, E.; Ali Nejatian, M., Effects of drought stress on total phenolic, phenolic acids, polyamines and some organic acids in two important Iranian grapevine cultivars. *Journal of Plant Process and Function* **2020**, *8* (34), 19- 6.

Mohammadi, H.; Amirikia, F.; Ghorbanpour, M.; Fatehi, F.; Hashempour, H., Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well- watered and water stress conditions. *Industrial Crops and Products* **2019**, *129*, 561- 574.

Naheeda, B.; Ling, W.; Husain, A.; Rana Rov, A.; Ishfa Khan Tuaniie, M., Co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and the plant growth-promoting rhizobacteria improve growth and photosynthesis in tobacco under drouht stress by upregulating. *Microbial Ecology* **2022**, 1- 18.

Nodeh, M.; Aliarab, A. and Sadati, S. E., The effect of foliar application of growth regulators on survival and growth of *Paulownia fortunei* seedlings under drought stress. *Wood and Forest Science and Technology Research Journal* **2021**, *28* (3), 37- 51. (In Persian)

Ostadi, A.; Javanmard, A.; Amani Machini, M.; Kakaei, K., Optimizing Antioxidant Activity and Phytochemical Properties of Peppermint (*Mentha piperita L.*) by Integrative

Application of Biofertilizer and Stress-Modulating Nanoparticles. *Plants* **2023**, *12* (1), 151.

Phillips, J.M.; Hayman, D.S., Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesiculararbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* **1970**, *55* (1), 158- IN118.

Polcyn, W.; Paluch -Lubawa, E.; Lehman, T.; Mikula, R., Arbuscular mycorrhiza in highly fertilized maize cultures alleviates short-term drought effects but does not improve fodder yield and quality. *Frontiers in Plant Science* **2019**, *17*,10, 496.

Qiu-shuang, L.; Ya-Chao Xie, M.; Abeer, H.; Elsaved Fathi, A., Arbuscular mycorrhizal fungi and endopytic fungi activate leaf antioxidant defense system of lane late navel orange. *Journal of Fungi* **2022**, *8* (3), 282.

Saeidi Abueshaghi, Z.; Pilehvar, B.; Sayegena, S.V., Vegetative and physiological responses of purple in the face of water deficit stress. *Forest Research and Development* **2023**, *9* (3), 349-363. (In Persian)

Sanjari Mijani, M.; Sirousmehr, A.R.; Fakheri, B.A., The effects of drought stress and humic acid on some physiological characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Crops Improvement* **2015**, *17* (2), 403- 414. (In Persian)

Sheikh, H.; Ali-Arab, A. R.; Sadati, S. E., Effect of salinity on seed germination, growth and survival of *paulownia fortunei* seedlings under laboratory and greenhouse conditions. *Forest and Wood Products* **2017**, *70* (4), 649-658. (In Persian)

Sinha, A.K., Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry* **1972**, *47* (2), 389-394.

Spinoso- Castillo, J.; Rosario Moreno-Hernandez, M.; Mancilla- Alvarez. Lino, E., Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Improves Ex Vitro Acclimatization of Sugarcane Plantlets (*Saccharum spp*.) under Drought Conditions. *Plants* **2023**, *12* (3), 687.

Swamy, S. L.; Mishra, A.; Pur, S., Comparison of growth, biomass and nutrient distribution in five promising clones of *populus deltoids* under an agrisilviculture system. *Bioresource Technology* **2006**, *97* (1), 57- 68.

Wu, M.; Zhang, W. H.; Ma, C.; Zhou, J. Y., Changes in morphological, physiological, and biochemical responses to different levels of drought stress in chinese cork oak (*Quercus variabilis Bl*.) seedlings, *Russian Journal of Plant Physiology* **2013**, *60* (5), 681- 692.

Zafari, M.; Ebadi, A.; Jahanbakhsh, S.; Sedghi, M., Safflower (*Carthamus tinctorius L*.) biochemical properties, yield, and oil content affected by 24 -epibrassinosteroid and genotype under drought stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2020**, *68*, 6040 - 6047.

Zamani Kebraabadi, B.; Hojati, S.M.; Rejali, F.; Esmaeili sharif, M.; Rahmani. H.R., Effects and identification of inoculated Arbuscular Mycorrhizal fungi of resilience to lead and zinc on some morphological treats of *Cerasus mahaleb L. Mill. Journal of Forest Research and Development* **2020**. *6* (2), 295- 311. (In Persian)

Zamani Kebraabadi, B.; Hojati, S.M.; Rejali, F.; Esmaeili sharif, M.; Saboohi, R., Investigating the effect of mycorrhizal fungi on elderberry seedlings (*Elaeagnus angustifolia L*.) under water stress. *Forest Research and Development* **2021**, *7* (4), 623-638. (In Persian)

Zhang, ZH.; Zhang, J.; Xu, G.; Zhou, L.; Li, Y., Arbuscular Mycorrhizal fungi improve the growth and drought to lerance of zenia insignis seedlings under drowth stress. *New Forests* **2019**, *50* (4), 593- 604.

The effect of mycorrhizal fungi inoculation on the antioxidant response and nutrient absorption of *Paulownia fortunei* seedlings under drought stress

Elham Hasani[1], Saeid Jalali Honarmand[2], Morteza Pourreza[*3] and Ali Beheshti Ale-Agha[4]

1- MSc of Forest Science and Engineering, Department of Natural Resources, Razi University, Kermanshah, I. R. Iran. (elhamhasani.2868@gmail.com)
2- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetic, Razi University, Kermanshah, I. R. Iran. (sjhonarmand@yahoo.com)
3- Assistant professor, Department of Natural Resources, Razi University, Kermanshah, I. R. Iran. (pourreza@razi.ac.ir)
4- Associate Professor, Department of Soil Science and engineering, Razi University, Kermanshah, I. R. Iran. (beheshtiali97@gmail.com)

Received: 23 June 2023 Accepted: 17 October 2023

Abstract

Background and objectives: Drought stress is one of the most important factors limiting plant growth in the world and one of the most common abiotic stresses. Drought stress is a multidimensional stress that stimulates a wide range of physiological, biochemical and molecular responses in plants. In arid and semi-arid areas, the establishment and growth of young seedlings is completely affected by water deficit and drought stress. In this situation, the use of symbiosis of microorganisms, especially mycorrhizal fungi, can reduce the effect of drought stress via increasing the absorption of water and nutrients. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of mycorrhizal fungi symbiosis on the absorption of the on the absorption of some macro and micro nutrients as well as the activity of antioxidant enzymes of *Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl., known as a fast-growing species.

Methodology: This pot experiment was conducted in factorial form in a completely randomized design with three replications and two factors. The first factor included four levels of drought stress (no stress or control with full irrigation at 100% of crop capacity, mild stress with irrigation at 80% of crop capacity, moderate stress with irrigation at 60% of crop capacity and severe stress with irrigation at 40% of crop capacity) and the second factor which included two surfaces of using mycorrhiza (without and with arbuscular mycorrhizal fungi). Application of drought stress treatments was done based on the weight method. The investigated features included the measurement of soluble protein, catalase, peroxidase, superoxide dismutase enzymes, as well as the absorption of nutrients such as phosphorus, nitrogen, potassium, zinc, iron and manganese. The normal distribution and the homogeneity of the variance of the obtained data were checked using the Shapiro-Wilk test and Levene's test, respectively. Two-way analysis of variance was used to test the significance of the simple and interaction effect of the factors. Duncan's multiple range post-hoc test was used to compare the means.

Results: The results of analysis of variance showed that the interaction effect of drought stress and mycorrhiza was not statistically significant on any of the traits. The simple effect of mycorrhiza on the changes of superoxide dismutase enzyme was significant, but it was not significant on other measured traits. The results showed that drought stress significantly increased the amount of soluble protein, peroxidase and superoxide dismutase activity. The highest concentration of soluble protein was related to severe stress treatment with a mean value of 38.95 mg/g leaf wet weight, and the lowest is related to the control or no stress treatment with a mean value of 31.45 mg/g leaf wet weight. However, no significant difference was observed between mild, moderate and severe stress treatments. About catalase enzyme no significant difference was observed between moderate and severe stress treatments, as well as between mild and moderate stress treatments. The highest concentration of peroxidase enzyme was related to severe stress treatment with a mean value of 3.77 mg/min per mg of protein and the lowest mean value (3.21 mg/min per mg of protein) was related to non-stress treatment (control). No significant difference was observed between the treatments of moderate stress and severe stress, as well as between

[*] Corresponding author Tel: +989187294584

the treatments of mild and moderate stress in terms of the concentration of peroxidase enzyme. The highest concentration of superoxide dismutase enzyme was related to severe stress treatment with a mean value of 0.176 mg/mol/min per mg of protein and the lowest value (0.108 mg/min/mg of protein) was related to the control. The concentration of superoxide dismutase enzyme in the treatment with mycorrhiza with a mean value of 0.159 mg/mol/min per mg of protein was significantly higher than of it in the treatment without mycorrhiza with a mean value of 0.140 mg/mol/min per mg of protein. Drought stress also led to the reduction of all measured nutrients. While, inoculation with mycorrhizal fungi increased nutrients except nitrogen at all levels of drought stress.

Conclusion: It was concluded that although the absorption of macro and micro nutrients by the seedlings decreased with the increase of drought stress levels, the use of mycorrhizal fungi could increase the absorption of macro and micro nutrients in drought stress conditions due to the better absorption of water by the hyphae around the roots of *Paulownia* seedlings. Therefore, it seems that the mycorrhizal fungi are very important in the absorption and metabolism of elements required by *Paulownia* seedlings, especially in stress conditions. Also, the inoculation of mycorrhizal fungi led to an increase in the activity of the antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD), which can increase the resistance of seedlings against drought stress.

Keywords: Catalase, Peroxidase, Soluble protein, Superoxide dismutase.