تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۸ شماره ۱، بهار ۹۴

تأثیر همزیستی میکوریزایی بر رشد و میزان پرولین در تره فرنگی (*Allium porrum* L.) و دو توده تره ایرانی (*Allium ampeloprasum ssp. persicum* L.) تحت تنش خشکی

نسترن قاسم جوکار[1*]، حبیب اله نادیان[2]، بیژن خلیل مقدم[3]، مختار حیدری[4] و محمد حسین قرینه [5]

۱*- **نویسنده مسوول:** دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه خاکشناسی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
(nastaran_ghasemjokar@yahoo.com)

۲و۳- به ترتیب استاد و استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۴و۵- به ترتیب استادیار و دانشیار گروه باغبانی و گروه زراعت دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۱

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های زیستی نظیر همزیستی میکوریزایی جهت مقابله با تنش خشکی مورد توجه قرار گرفته است. بر این اساس در یک آزمایش گلدانی در سال ۱۳۸۹ و در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واکنش سه توده تره شامل تره فرنگی و دو توده تره ایرانی به سطوح خشکی و قارچ آربسکولار- میکوریزا مورد مقایسه قرار گرفت. این آزمایش با سه سطح رطوبتی خاک (آبیاری در زمانی که ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک تخلیه گردید)، دو سطح میکوریزا (وجود و عدم وجود قارچ *گلوموس اینترارادیس*) و سه توده تره (شادگان، اصفهان وکارنتان ۲) به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش شاخص‌های رشد نظیر ارتفاع گیاه، وزن ماده خشک برگ و ریشه و طول ریشه گیاهان گردید. با این وجود، کلونیزاسیون میکوریزایی در تمام سطوح تنش خشکی باعث افزایش این شاخص ها گردید. طول ریشه کلونی‌شده و درصد کلونیزاسیون ریشه توسط تنش خشکی کاهش یافت، اما درصد پاسخ رشد میکوریزایی در شرایط تنش خشکی افزایش یافت. در بین توده‌ها، تره شادگان با داشتن ریشه‌های کم‌انشعاب و کوتاه به کلونیزاسیون میکوریزایی بیشتر از دو توده دیگر وابسته بود. با افزایش شدت تنش خشکی، میزان پرولین برگ افزایش یافت، ولی میزان پرولین در گیاهان میکوریزایی کمتر بود که می‌تواند به دلیل کاهش تنش توسط قارچ میکوریزا در گیاه باشد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تره شادگان با سیستم ریشه‌ای ضعیف‌تر در تمام سطوح تنش خشکی دارای وابستگی میکوریزایی بیشتری در مقایسه با دو توده دیگر بود.

کلید واژه‌ها: تره، تنش خشکی، میکوریزا، پرولین

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی موثر بر تولیدات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک هم چون ایران است. این عامل بسیاری از خصوصیات آناتومیکی (کیویمانپ و همکاران[1]، ۲۰۰۳)، فیزیولوژیکی (علی‌آبادی فراهانی و همکاران[2]، ۲۰۰۸؛ مسعودی صادقیانی و همکاران[3]، ۲۰۱۱) و آنزیمی گیاه (نورانی آزاد و چوبینه، ۱۳۸۷) را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گیاهان دو ساز و کار عمده را برای مقابله با تنش خشکی از خود نشان می‌دهند: اجتناب و تحمل تنش خشکی. تنظیم اسمزی به عنوان جزئی مهم از ساز و

1 - Kivimaenpae *et al*.

2 - Aliabadi Farahani *et al*.

3 - Masoudi-Sadaghiani *et al*.

کار تحمل به تنش خشکی در گیاهان در نظر گرفته می‌شود (جلیلی مرندی، ۱۳۸۹). این پدیده شامل: تجمع مولکول‌های آلی از جمله قندهای محلول، الکل‌های قندی، گلایسین‌بتایین، پرولین، اسیدهای آلی و یون‌های معدنی همچون پتاسیم، کلسیم، کلرید و غیره می‌باشد. در شرایط کمبود آب در نتیجه تجمع این مواد تنظیم‌کننده اسمزی، پتانسیل اسمزی درون سلول کاهش یافته و آب به درون سلول کشیده می‌شود که به حفظ فشار تورژسانس کمک می‌کند (مسعودی صادقیانی و همکاران، ۲۰۱۱). در بین این مواد، احتمالاً پرولین فراوان‌ترین تنظیم‌کننده اسمزی به شمار می‌آید. هر چند پرولین در طول تنش در قسمت‌های مختلف گیاه جمع می‌شود، اما بیشترین مقدار آن در عموم گیاهان در برگ‌ها به وجود می‌آید (جلیلی مرندی، ۱۳۸۹؛ علی‌آبادی فراهانی و همکاران، ۲۰۰۸).

همزیستی میکوریزایی از وسیع‌ترین روابط همزیستی شناخته شده بین گیاهان ودسته‌ای خاص از قارچ‌ها است. آربسکولار میکوریزا[1] (*AM*) عمده‌ترین نوع میکوریزا هستند و اخیراً در یک شاخه قارچی مجزا به نام گلومرومایکوتا[2] طبقه‌بندی شده‌اند (اسچابلر و همکاران[3]، ۲۰۰۱). ریسه های خارجی این قارچ‌ها قادرند عناصر غذایی نظیر فسفر (نلسون و سفیر[4]، ۱۹۸۲)، پتاسیم، نیتروژن، مس، روی (نیومن و گئورک[5]، ۲۰۰۹) را جذب کرده و به گیاه میزبان منتقل کنند. همزیستی میکوریزایی اثرهای نامطلوب بسیاری از تنش‌های محیطی نظیر شوری (کایا و همکاران[6]، ۲۰۰۹)، غلظت عناصر سنگین (ووگل-میکوس و همکاران[7]، ۲۰۰۶)، تراکم خاک (کوتاری و سینگ[8]، ۱۹۹۶) و نیز تنش خشکی (نادیان، ۱۳۹۰؛ نیومن و گئورگه، ۲۰۰۹) در گیاه میزبان را کاهش می دهد.

میزان وابستگی گیاه میزبان به قارچ‌های میکوریزا به عوامل محیطی مانند شدت نور، دما، شرایط خاک و نیز به مشخصات ریخت‌شناسی ریشه و فیزیولوژیکی گیاه بستگی دارد (اسمیت و رید[9]، ۲۰۰۸). در بین این عوامل مشخصات ریخت‌شناسی ریشه گیاه میزبان از جمله عوامل مهم در برقراری همبستگی گیاه با قارچ میکوریزا می‌باشد. بر اساس فرضیه بیلیس، گیاهان با سیستم ریشه‌ای انبوه و پرانشعاب وابستگی میکوریزایی کمتری دارند تا گیاهان با سیستم ریشه‌ای ضعیف و کم انشعاب (بیلیس[10]، ۱۹۷۵).

ایران یکی از مراکز مهم تنوع گیاهی در دنیا محسوب می‌شود. این تنوع خصوصاً در مورد سبزی‌ها و از جمله سبزی‌های خانواده آلیاسه[11] چشمگیرتر از سایر محصولات است (دشتی و همکاران، ۱۳۸۲). تره ایرانی (*Persian leek*) به عنوان یک سبزی برگی پرمصرف از خانواده آلیاسه و جنس آلیوم[12] از سابقه کشت و کار طولانی در ایران برخوردار است. نام علمی این گیاه *Allium ampeloprasum ssp. persicum* L. می باشد و با مزه و ویژگی‌های ریخت‌شناسی خاص، جزء سبزی‌های پیازی محسوب می‌شود (نمپال سینگ و همکاران، ۱۳۸۶). تره فرنگی (*Allium porrum* L.) یک گیاه علفی، دوساله و یک عضو از خانواده آلیاسه است که از لحاظ اقتصادی یکی از مهمترین سبزی‌های مزرعه‌ای در اروپا است. این گیاه شبیه به پیاز است ولی برخلاف آن به جای غده، تولید ساقه طویل سفید رنگی نموده که با مقداری از برگ‌های سبز و نسبتاً پهن اطراف آن مورد استفاده غذایی قرار می‌گیرد (نمپال سینگ و همکاران، ۱۳۸۶).

1 - Arbuscular mycorrhiza
2 - Glomeromycota
3 - Schûbler *et al.*
4 - Nelson & Safir
5 - Neumann & George
6 - Kaya *et al.*
7 - Vogel-Mikuš *et al.*
8 - Kothari & Sing
9 - Smith & Read
10 - Baylis
11 - Alliaceae
12 - Allium

این دو گیاه به دو زیر گروه متمایز از گونه *ampeloprasum* تعلق دارند و خصوصیات مورفولوژی ریشه آنها متفاوت است. علی‌رغم اینکه تره ایرانی یکی از سبزی‌های برگی پرمصرف در کشور ما است، تحقیقات چندانی در زمینه تأثیر تنش‌های محیطی بر آن صورت نگرفته است. افزون بر این، تاکنون نقش مورفولوژی ریشه توده‌های مختلف تره ایرانی و تره فرنگی در مقابله با تنش خشکی و نیز پاسخ رشد میکوریزایی توده‌های مختلف تره ایرانی بررسی نگردیده است. لذا این آزمایش با هدف مطالعه اثر کلونیزاسیون میکوریزایی بر شاخص های رشد و میزان تجمع پرولین در تره فرنگی و دو توده مختلف تره ایرانی تحت سطوح مختلف تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در سال ۱۳۸۹ اجرا گردید. تیمارها شامل دو توده تره ایرانی (تره شادگان و تره اصفهان) و تره فرنگی (کارنتان ۲)، دو سطح میکوریزا (NM: عدم تلقیح با میکوریزا و M: تلقیح با میکوریزا) و تنش خشکی در سه سطح (T_1، T_2 و T_3 به ترتیب شامل آبیاری پس از تخلیه ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک) بود. برای اهداف این مطالعه یک خاک با غلظت فسفر قابل جذب کم (روش اولسن) انتخاب گردید. برخی از مهمترین خصوصیات خاک مورد آزمایش شامل پی‌اچ برابر با ۷/۶، هدایت الکتریکی در عصاره اشباع ۲/۲ دسی‌زیمنس بر متر، فسفر قابل جذب خاک ۳/۲ پی‌پی‌ام، در صد رطوبت در حد ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی به ترتیب ۱۳ و ۶ درصد است و بافت خاک شنی لومی بود.

سپس برای حذف عوامل پاتوژن، قارچ‌های بومی خاک و ایجاد یک محیط آزاد قارچی، خاک مورد آزمایش با استفاده از دستگاه اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و در فشار PSI ۱۵ به مدت ۱ساعت استریل گردید (نادیان، ۱۳۹۰). پس از استریل نمودن، خاک‌ها در کیسه‌های پلاستیکی در بسته تا زمان استفاده نگه‌داری گردیدند.

کشت گیاه و تلقیح آن با قارچ آربسکولار میکوریزا

بذرهای توده‌های مختلف تره ایرانی و فرنگی به ترتیب از شرکت کشت و صنعت دام اهواز و شرکت روزن سیدز هلند تهیه شد و سپس توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی گردید و بعد با آب مقطر شسته و در ژرمیناتور نگهداری شدند تا تمام بذور جوانه بزنند. پس از اینکه طول ریشه گیاهچه‌ها به حدود ۱/۵-۱ سانتی‌متر رسید، انتقال گیاهچه‌ها به گلدان صورت گرفت. به هر گلدان ۲۹۴۰ گرم خاک استریل شده اضافه گردید و سپس ۶ گیاهچه ۳ روزه منتقل گردید.

البته در یک آزمایش اولیه، بذور توده‌های مختلف تره ایرانی و فرنگی به منظور مطالعه و مقایسه رشد و ریخت‌شناسی ریشه‌ها کشت گردیدند. در این مطالعه اولیه ملاحظه گردید که تره اصفهان دارای ریشه‌های منشعب و بلند و تره شادگان با ریشه‌های کم انشعاب، کوتاه و نازک و تره فرنگی (کارنتان ۲) دارای ریشه‌های کم انشعاب و ضخیم می‌باشند.

در تیمارهای میکوریزایی، قبل از ایجاد حفره حدود ۵ سانتی‌متر از سطح خاک را برداشته و یک لایه از مایه تلقیح (خاک حاوی اسپور، ریسه های خارجی قارچ و ریشه گیاه شبدر کلونی‌شده با قارچ گلوموس اینترارادیسس[1] به وزن ۲۰۰ گرم را در این عمق قرار داده شد و دوباره وزن گلدان به ۲۹۴۰ گرم رسانیده شد.

در شروع هفته پنجم سطوح تنش خشکی به صورت وزنی اعمال گردید. افزایش آب مقطر به گلدان‌ها زمانی بود که ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد آب قابل استفاده گیاه در

1- *Glomus intraradices*

خاک تخلیه شده بود. درصد رطوبت خاک در دو سطح مکش ۰/۳۳ اتمسفر (نقطه ظرفیت مزرعه) و ۱۵ اتمسفر (نقطه پژمردگی دائم) توسط دستگاه صفحه فشار تعیین گردید. افزایش آب مقطر به گلدان‌ها از طریق توزین گلدان‌ها و جبران آب کاهش یافته در هر یک از سطوح رطوبتی فوق انجام شد. هر هفته مقدار ۱۰ میلی‌لیتر محلول غذایی بدون فسفر (اسمیت[1]، ۱۹۸۲) به گلدان‌ها اضافه گردید.

برداشت گیاه

گیاهان پس از پایان هفته دوازدهم برداشت گردیدند. برگ‌ها از سطح خاک قطع و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت درون آون خشک و توزین گردیدند. جهت تعیین میزان پرولین مقداری از برگ تازه به دقت توزین و مقدار آن در محاسبه وزن خشک برگ لحاظ گردید. ریشه ها تماماً از خاک خارج شده، با آب به دقت شسته و پس از گرفتن خیسی ریشه توسط حوله کاغذی ریشه‌ها به قطعات حدود ۱ سانتیمتری بریده شدند، وزن شدند و سپس یک زیر نمونه جهت تعیین مجموع طول ریشه و درصد طول ریشه کلنی شده به دقت وزن و بقیه ریشه‌ها در در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

مرحله شستشو، رنگ‌آمیزی ریشه‌ها و تعیین مجموع طول ریشه‌ها

زیر نمونه ریشه‌ها در هر تیمار، با استفاده از هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد و محلول تریپن‌بلو[2] بر اساس روش فلیپس و هیمن[3] (۱۹۷۰) رنگ آمیزی شدند سپس مجموع طول ریشه و درصد طول ریشه کلونی‌شده با استفاده از بینی‌کولر و روش خطوط متقاطع طبق روش تاننت[4] (۱۹۷۵) تعیین گردید:

$$RL=\frac{11}{14}.\ n.\ D$$

RL = طول کل ریشه

n = تعداد برخورد ریشه با خطوط افقی و عمودی

d = طول ضلع هر شبکه مربع (۰/۷۵ سانتیمتر)

در این مطالعه، پاسخ رشد میکوریزایی که بیانی است از میزان وابستگی گیاه به قارچ میکوریزا بر اساس فرمول بایون و همکاران[5] (۱۹۹۴) تعیین گردید.

استخراج و اندازه‌گیری غلظت پرولین

میزان پرولین در برگ تازه گیاه بر اساس روش بیتس و همکاران[6] (۱۹۷۳) و بر مبنای جذب نوری محلول در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C صورت گرفت. داده‌های مربوط به وزن خشک اندام هوایی و ریشه پس از تبدیل مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

شاخص‌های رشد: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که هر سه عامل تنش خشکی، قارچ میکوریزا و توده گیاه بر شاخص‌های رشد گیاه شامل ارتفاع گیاه، مجموع طول ریشه، وزن ماده خشک برگ و وزن ماده خشک ریشه هر سه توده تره تأثیر معنی‌دار داشتند (جدول ۱) .

در تیمار شاهد (آبیاری پس از تخلیه ۴۰ درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک)، تره غیرمیکوریزایی اصفهان (۶۹/۸ سانتی‌متر در گلدان) بیشترین و تره غیرمیکوریزایی کارنتان۲ (۶۴/۶ سانتی‌متر در گلدان) کمترین مجموع طول ریشه را داشتند. این افزایش به دلیل سیستم ریشه‌ای انبوه‌تر تره اصفهان است. با افزایش تنش خشکی مجموع طول ریشه هر سه توده تره کاهش معنی‌دار پیدا نمود (جدول ۳). یک روند مشابه در کاهش وزن ماده خشک

1- Smith
2 - Trypen blue
3 - Philips & Hayman
4 - Tennant
5 - Baon *et al.*
6 - Bates *et al.*

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برخی از صفات مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن ماده خشک		مجموع طول ریشه	طول ریشه کلونی شده	پاسخ رشد میکوریزایی	پرولین
		برگ	ریشه				
		میانگین مربعات					
بلوک	۳	۵۹/۵۳**	۲۵۶/۲۴**	۲۰/۹۶**	۲/۴۹**	۳۰/۹۴۷*	۰/۱۶۴**
تنش	۲	۹۹۰۱۳/۵۱**	۲۶۷۱۲۵/۱**	۵۴۹۰/۷۶**	۱۶۲۷/۲۶**	۳۱۲۰۵/۹۹**	۱۹۴/۱۶**
توده	۲	۱۲۵/۵۱**	۲۷۷۲۹/۵**	۳۸۲/۸۷**	۲۳۷/۱۳**	۱۸۶۷۹/۹۶**	۰/۹۱۶**
میکوریزا	۱	۴۶۳۵۲۴/۰۱**	۱۹۷۶۳۴/۷**	۶۷۶۲/۸۵**	۱۷۱۷۷/۶**	۹۱۳۷۹۶/۵۳**	۱۹۵/۶۶**
تنش× توده	۴	۲۰۶/۸۲**	۱۴۳/۲**	۳۹/۶۳**	۱۹/۸۴**	۱۴۴۱/۰۹**	۰/۹۰۲**
تنش× میکوریزا	۲	۹۶۱۲/۵۹**	۹۴۶۸۰/۹**	۱۹۴/۴۲**	۱۶۲۷/۳**	۳۱۲۰۵/۹۹**	۱۹/۲۵**
توده× میکوریزا	۲	۳۳۳۰/۵۱**	۲۵۳۲۸/۱**	۲۷۹/۴۸**	۲۳۷/۱۳**	۱۸۶۷۹/۹۶**	۸/۹۴**
تنش× توده× میکوریزا	۴	۱۴۱/۰۳**	۱۲۰۹/۲**	۶/۵۱**	۱۹/۸۴**	۱۴۴۱/۰۹**	۰/۸۸۴**
خطا	۵۱	۷/۴۲۵	۱۹/۰۴۵	۱/۵۱۵	۰/۵۳۰	۷/۹۹۷	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات ٪		۱/۶۷	۱/۵۹	۱/۹۲	۴/۷۱	۲/۵۱	۱/۹۳

**= معنی‌دار در سطح احتمال۱ درصد *= معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪ ns= غیرمعنی‌دار

ریشه با افزایش تنش خشکی در هر سه توده تره نیز ملاحظه گردید (جدول ۲).

کاهش رشد ریشه (مجموع طول ریشه و یا وزن ماده خشک ریشه) تحت تأثیر تنش خشکی می‌تواند به دلیل افزایش مقاومت مکانیکی خاک باشد (ویتمور و والی[1]، ۲۰۰۹). بین درصد رطوبت خاک و مقاومت مکانیکی خاکی یک رابطه معکوس وجود دارد (بنگوگ و همکاران[2]، ۲۰۰۶). نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که فشار ریشه‌ای گیاهان زراعی بین ۰/۲۴ و ۱/۴۵ مگاپاسکال است (میسرا و همکاران[3]، ۱۹۸۶). چنانچه فشار ریشه‌ای گیاه کمتر از مقاومت مکانیکی خاک باشد، رشد ریشه کاهش می‌یابد (ویتمور و والی، ۲۰۰۹).

در تمام سطوح تنش خشکی، مجموع طول ریشه تره میکوریزایی از مجموع طول ریشه تره غیرمیکوریزایی در هر سه توده تره بیشتر بود (جدول ۳). چنین افزایشی برای وزن ماده خشک ریشه تره میکوریزایی نسبت به وزن ماده خشک تره شاهد (غیرمیکوریزایی) نیز ملاحظه گردید (جدول ۳). با این وجود، با افزایش تنش خشکی از رشد ریشه‌های میکوریزایی (مجموع طول ریشه و یا وزن ماده خشک ریشه) به طور معنی‌دار کاسته شد (جداول ۲و۳). بیشترین مقدار ماده خشک ریشه مربوط به تیمار میکوریزایی تره شادگان در سطح اول خشکی (۰/۶۶۴ گرم در گلدان) بود و کمترین مقدار ماده خشک ریشه مربوط به نمونه غیرمیکوریزایی تره فرنگی در سطح سوم تنش خشکی (۰/۰۵۵ گرم در گلدان) بود.

کاهش رشد ریشه تحت تأثیر تنش خشکی منجر به کاهش وزن ماده خشک برگ هر سه توده تره گردید (جدول۲). بیشترین مقدار ماده خشک برگ مربوط به نمونه میکوریزایی تره شادگان در سطح اول تنش خشکی با میانگین ۰/۳۳۸ گرم در گلدان بود و کمترین مقدار مربوط به نمونه غیرمیکوریزایی تره شادگان در سطح سوم تنش خشکی با میانگین ۰/۰۳۶ گرم در گلدان بود. حضور قارچ میکوریزا اثرهای تنش خشکی را در

1 - Whitmore & Whalley
2 - Bengough *et al.*
3 - Misra *et al.*

جدول ۲- ارتفاع گیاه، وزن ماده خشک برگ و ماده خشک ریشه سه توده تره میکوریزایی و غیرمیکوریزایی تحت تنش خشکی

توده گیاه	تنش خشکی	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)		وزن ماده خشک برگ (گرم در گلدان)		وزن ماده خشک ریشه (گرم در گلدان)	
		بدون میکوریزا	با میکوریزا	بدون میکوریزا	با میکوریزا	بدون میکوریزا	با میکوریزا
شادگان	T_1	h ۱۵/۹۳	a۲۱/۱۳	j۰/۱۱۷	a۰/۳۳۸	k۰/۱۳۵	a۰/۶۶۴
	T_2	k۱۱/۴۹	d ۱۸/۴۸	m./۰۶۴	d ۰/۲۶۲	n۰/۰۹۷	d۰/۴۹۷
	T_3	m۸/۳۶	e۱۷/۲۱	o۰/۰۳۶	g۰/۱۶۶	p۰/۰۶۵	g۰/۲۹۵
اصفهان	T_1	e۱۷/۲۸	b۲۰/۵۵	i۰/۱۲۶	b۰/۳۲۵	i۰/۱۶۹	b۰/۶۲۸
	T_2	i۱۴/۰۱	cd۱۸/۹۶	l۰/۰۷۹	e۰/۲۴۵	l۰/۱۱۷	e۰/۴۸۶
	T_3	l۱۰/۷۰	ef۱۶/۹۱	n۰/۰۴۳	g۰/۱۶۵	o۰/۰۸۱	g۰/۳۰۰
کارنتان۲	T_1	fg ۱۶/۶	c۱۹/۴۳	h۰/۱۴۱	c۰/۳۱۲	j۰/۱۵۵	c۰/۵۲۲
	T_2	kl۱۱/۰۳	gh۱۶/۱۸	k۰/۰۹۶	f۰/۲۳۲	m۰/۱۰۹	f۰/۳۶۴
	T_3	m۷/۹۶	j۱۳/۱۸	o۰/۰۳۹	h۰/۱۳۹	q۰/۰۵۵	h۰/۲۱۰

به ترتیب شامل: آبیاری پس از تخلیه ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک T_3 و T_2 و T_1

اعداد با حروف متفاوت در هر ضفت (ستونی) دارای اختلاف معنی‌دار هستند (آزمون دانکن در سطح ۵ ٪)

جدول ۳- غلظت پرولین، مجموع طول ریشه و طول ریشه کلونی‌شده سه توده تره میکوریزایی و غیرمیکوریزایی تحت تنش خشکی

توده گیاه	تنش خشکی	غلظت پرولین (میکرومول در گرم وزن تر برگ)		مجموع طول ریشه (سانتی‌متر در گلدان)		مجموع طول ریشه کلونی شده (سانتی‌متر در گلدان)
		بدون میکوریزا	با میکوریزا	بدون میکوریزا	با میکوریزا	میکوریزا
شادگان	T_1	k۵/۲۶	q۲/۷۸	f۶۶/۸۵	b۹۵/۷۶	b۵۰/۰۴
	T_2	d۹/۳۳	m۴/۵۷	j۵۳/۲۶	dv۷۳/۲۸	e۲۸/۹۲
	T_3	a ۱۳/۲۷	i۶/۵۸	l۴۳/۱۷	h۵۸/۸۲	h۱۶/۵۰
اصفهان	T_1	l۴/۸۱	p۳/۱۶	e۶۹/۷۶	a۱۰۱/۸۰	a۵۷/۸۴
	T_2	e۸/۲۳	k۵/۲۳	jk۵۲/۹۲	dv۷۴/۷۵	d۳۲/۰۵
	T_3	c۱۱/۱۴	h۶/۸۸	l۴۲/۲۲	g۶۲/۹۹	g۲۰/۱۰
کارنتان۲	T_1	n۴/۲۲	o۳/۳۹	g۶۴/۶۵	c۸۱/۴۳	c۳۸/۲۹
	T_2	g۷/۲۰	j۵/۸۸	i۵۵/۳۳	g۶۳/۹۴	f۲۲/۱۲
	T_3	b۱۲/۲۷	fv۷/۶۰	l۴۱/۳۵	k۵۱/۲۱	i۱۲/۱۷

به ترتیب شامل: آبیاری پس از تخلیه ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک T_3 و T_2 و T_1

اعداد با حروف متفاوت در هر ضفت (ستونی) دارای اختلاف معنی‌دار هستند (آزمون دانکن در سطح ۵ ٪)

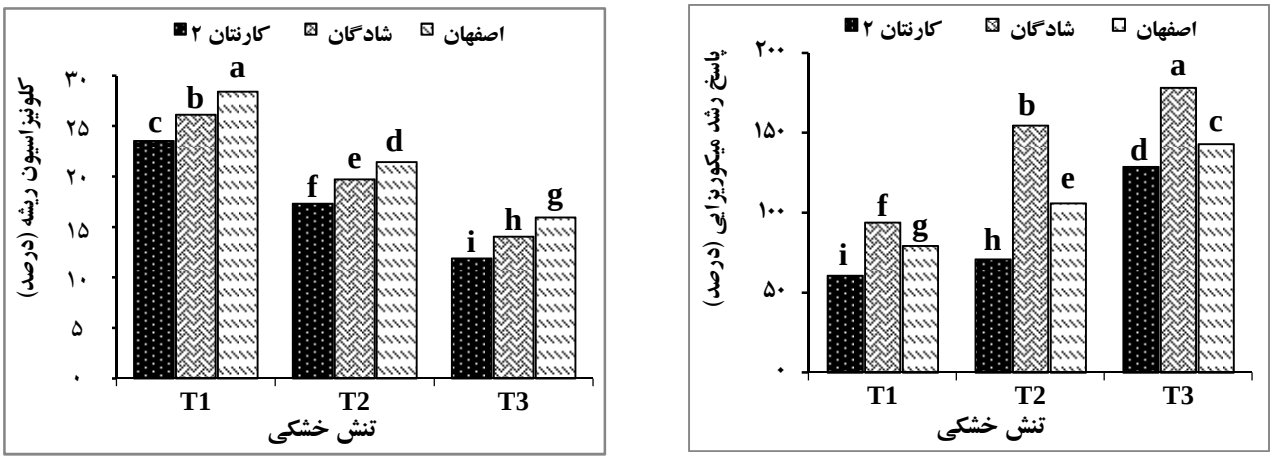
هر سه توده تره تعدیل نمود، هر چند وزن ماده خشک برگ هر سه توده تره میکوریزایی با افزایش تنش خشکی کاهش پیدا کرد. کاهش ماده خشک برگ، به این دلیل می‌تواند باشد که یکی از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش فشار آماس می‌باشد که به کاهش رشد و توسعه سلولی به ویژه در ساقه و برگ‌ها منجر می‌شود (علیشاه و همکاران[1]، ۲۰۰۶). علاوه بر این، کاهش سطح برگ ناشی از کاهش رشد و توسعه سلولی، موجب کاهش جذب نور و در نتیجه کاهش ظرفیت کل فتوسنتز می‌شود به گونه‌ای که رشد گیاه و عملکرد گیاهی کم می‌شود و در نهایت میزان ماده خشک کاهش می‌یابد (سوها و همکاران[2]، ۲۰۱۰). اما حضور قارچ میکوریزا اثر منفی تنش خشکی را تعدیل کرده است. ساجدی و رجالی (۱۳۹۰) بیان نمودند که با افزایش کلونیزاسیون ریشه، سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان توسعه یافته و در نتیجه سطح جذب ریشه‌ها به علت نفوذ هیف‌های قارچ در خاک افزایش یافته و در نتیجه ریشه به حجم بیشتری از خاک دسترسی پیدا کرده و کارایی جذب آب و عناصر غذایی افزایش یافته و در نهایت تولید ماده خشک افزایش می‌یابد. اختلاف زیاد بین وزن ماده خشک برگ گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی نشان می‌دهد که گیاه تره به خوبی به تلقیح میکوریزایی پاسخ می‌دهد. تأثیر مثبت قارچ میکوریزا بر افزایش وزن خشک برگ در شرایط تنش خشکی در گیاهان بسیاری همچون پیاز (نلسون و سفیر، ۱۹۸۲)، سورگوم (نادیان، ۱۳۹۰) و نخود (نیومن و گئورک، ۲۰۰۹) نیز گزارش گردیده است.

افزایش شدت تنش خشکی به طور معنی‌داری ارتفاع گیاه را کاهش داد. با این وجود، کلونیزاسیون میکوریزایی باعث افزایش ارتفاع توده‌های تره گردید. کمبود آب موجب کاهش آماس سلول شده و در پی کاهش رشد سلول در نهایت اندازه اندام هوایی محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم آبی روی گیاه را می‌توان از روی کاهش ارتفاع یا اندازه کوچک‌تر برگ‌ها تشخیص داد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹).

شاخص‌های کلونیزاسیون: بر طبق شکل ۱ ملاحظه می گردد که هر سه توده تره وابستگی میکوریزایی بالایی به قارچ *گلوموس اینترارادیسس* دارا می‌باشند، اگرچه اختلاف معنی‌داری در میزان این وابستگی‌ها وجود دارد. در تیمار بدون تنش خشکی (شاهد)، بیشترین و کمترین پاسخ رشد میکوریزایی به ترتیب مربوط به تره شادگان (با ریشه‌های ضعیف‌تر و کم انشعاب‌تر) و تره کارنتان ۲ (با ریشه‌های انبوه‌تر می‌باشد).

اولین بار بیلیس (۱۹۷۵) اعلام نمود که گیاهانی که دارای ریشه‌های انبوه‌تر و منشعب‌تر هستند دارای وابستگی کمتری به قارچ‌های آربسکولار-میکوریزا هستند تا گیاهان با سیستم ریشه‌ای ضعیف‌تر و کم انشعاب‌تر. با توجه به نتایج، این مطالعه تاییدی است بر نظرات بیلیس و در موافقت با نتایج قبلی است (نادیان، ۱۳۹۰؛ بایون، ۱۹۹۴). با اعمال تنش خشکی، پاسخ رشد میکوریزایی افزایش پیدا می‌کند (شکل ۱). در بالاترین سطح تنش خشکی، درصد پاسخ رشد میکوریزایی تره شادگان ۱۷۸ درصد، برای تره اصفهان۱۴۲/۷ درصد و برای تره کارنتان ۲، ۱۲۸/۵ درصد بود (شکل ۱). این نتایج نشان می‌دهد که فرضیه بیلیس تحت تنش خشکی نیز صدق می‌کند. اگرچه با افزایش تنش خشکی وزن ماده خشک تره میکوریزایی و غیرمیکوریزایی با کاهش همراه بود (جدول۲) ولی پاسخ رشد میکوریزایی با افزایش تنش خشکی افزایش یافت. در واقع، قارچ میکوریزا با افزایش تنش خشکی به منظور جلوگیری از کاهش بیشتر زیست توده گیاه پاسخ رشد میکوریزایی را افزایش داده است. بسیاری از نتایج قبلی نشان می‌دهد که

1 - Alishah *et al.*
2 - Soha *et al.*



شکل ۱- درصد پاسخ رشد میکوریزایی و کلونیزاسیون ریشه در سه توده تره (کارنتان ۲، شادگان و اصفهان) تحت سطوح تنش خشکی (T_1،T_2، T_3 به ترتیب ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک)
میانگین ها با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (آزمون دانکن در سطح ۵ ٪)

وقتی گیاه میزبان تحت تنش‌های محیطی نظیر تراکم خاک (کوتاری و سینگ، ۱۹۹۶) و یا تنش خشکی (نادیان، ۱۳۹۰) قرار می‌گیرد، به منظور کاهش اثرات سوء تنش اقدام به افزایش بیشتر وابستگی خود به قارچ همزیست می‌نماید. میزان کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریزا می‌تواند بر حسب درصد کلونیزاسیون ریشه و یا مجموع طول ریشه کلونی‌شده گیاه میزبان تعیین شود (اسمیت و رید، ۲۰۰۸). در تیمار شاهد (بدون تنش خشکی)، درصد کلونیزاسیون ریشه تره اصفهان، شادگان و کارنتان ۲ به ترتیب ۲۸/۴، ۲۶/۱ و ۲۳/۵ درصد بود (شکل ۱). چنین روندی در تمام سطوح تنش خشکی برای تره اصفهان ملاحظه گردید. اگرچه تره اصفهان دارای درصد کلونیزاسیون بیشتری بوده است، اما مقادیر شاخص های رشد در تیمار میکوریزایی تره شادگان بیشتر تره اصفهان بود، که نشان‌دهنده وابستگی بیشتر تره شادگان به قارچ میکوریزا است.

در هر سه رقم تره، مجموع طول ریشه کلونی‌شده با افزایش تنش خشکی به دلیل کاهش زیست توده آنها و درصد کلونیزاسیون ریشه کاهش پیدا نمود (جدول۳). در هر سطح تنش خشکی، بیشترین طول ریشه کلونی‌شده مربوط به تره اصفهان و کمترین طول مربوط به تره کارنتان ۲ بود. در کل بیشترین طول ریشه کلونی‌شده مربوط به تره اصفهان در تیمار شاهد (۴۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک) با میانگین ۵۷/۸۴ سانتی‌متر در گلدان بود و کمترین طول ریشه کلونی‌شده مربوط به تره فرنگی در سطح سوم تنش (۸۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک) با میانگین ۱۲/۱۷ سانتی‌متر در گلدان بود. مانند سایر بیوتروف‌های اجباری، بقاء قارچ‌های میکوریزا آربسکولار به تأمین کربوهیدرات‌ها توسط گیاه وابسته است (اسمیت و رید، ۲۰۰۸). وقتی فتوسنتز گیاه در اثر تنش خشکی کاهش می‌یابد، انتقال کربوهیدرات‌ها به همزیست قارچی کاهش می‌یابد و به طور قطع توسعه درون سلولی و خارج سلولی قارچ میکوریزا کاهش می‌یابد (نیومن و گئورک، ۲۰۰۹).

غلظت پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که هر سه تیمار تنش خشکی، قارچ میکوریزا و توده گیاه اثر معنی‌داری بر میزان پرولین برگ‌ها داشته‌اند (در سطح احتمال ۱ درصد، جدول۱). بدین ترتیب که در تیمار غیرمیکوریزایی با کاهش میزان آبیاری، تجمع پرولین در برگ‌ها افزایش یافت، اما حضور قارچ میکوریزا باعث کاهش غلظت پرولین در

کلیه سطوح تنش خشکی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی گردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پرولین برگ مربوط به تیمار غیرمیکوریزایی تره شادگان در سطح سوم تنش خشکی (۸۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک) با میانگین ۱۳/۲۷ میکرومول در گرم وزن تر برگ بود و کمترین غلظت پرولین مربوط به تره میکوریزایی شادگان در تیمار شاهد (۴۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک) با میانگین ۲/۷۸ میکرومول در گرم وزن تر برگ بود. در کلیه سطوح تنش خشکی بیشترین تأثیر قارچ میکوریزا در کاهش غلظت پرولین بر تره شادگان بود. حتی در سطح سوم تنش خشکی، غلظت پرولین در تیمار میکوریزایی تره شادگان نسبت به نمونه غیرمیکوریزایی ۵۰/۴ درصد کاهش یافت که نشان‌دهنده کاهش بیشتر تنش خشکی توسط این توده میکوریزایی است و توجیه‌کننده پاسخ رشد میکوریزایی بالای آن است. پرولین یکی از تنظیم‌کننده‌های اسمزی است که افزایش آن موجب سازش سلول گیاهی در شرایط تنش و حفاظت از آنزیم‌ها و ساختار سلولی می‌شود. تحریک سنتز پرولین در شرایط تنش می‌تواند یک نوع محل مصرف برای مواد احیاء شده در تنفس و فتوسنتز باشد (لاهیر و همکاران[1]، ۱۹۹۳). گود و زاپل‌چینیسکی[2] (۱۹۹۴) اعلام کردند که تجمع ترکیباتی همانند پرولین و سایر اسیدهای آمینه در بافت‌های سبز گیاه کلزا در شرایط تنش خشکی می‌تواند تا حدی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط ریشه را برای گیاه فراهم نماید. اما اتکای گیاهان به این ترکیبات آلی برای تنظیم اسمزی هزینه بر بوده و باعث کاهش عملکرد آنها می‌شود. افزایش میزان پرولین تحت تنش خشکی در ریحان (سوها و همکاران، ۲۰۱۰) و گشنیز (علی‌آبادی فراهانی و همکاران، ۲۰۰۸) نیز گزارش گردیده است.

مقادیر کمتر پرولین در نمونه‌های میکوریزایی نسبت به نمونه‌های غیرمیکوریزایی در گیاه زنجبیل (بهوسال و شیند[3]، ۲۰۱۱) و نارنگی (ویو و زیا[4]، ۲۰۰۶) نیز مشاهده گردیده است. این نتیجه خود دلیلی است بر اینکه گیاهان میکوریزایی از شرایط تنش ایجاد شده آسیب کمتری می‌بینند. ویو و زیا (۲۰۰۶) با مشاهده مقادیر کمتر پرولین در گیاهچه‌های میکوریزایی نارنگی به این نتیجه رسیده‌اند که کلونیزاسیون میکوریزایی مقاومت به خشکی گیاه میزبان را، نه از طریق تجمع پرولین، بلکه از طریق جذب یون‌های معدنی مانند یون پتاسم، کلسیم و منیزیم افزایش داده است. در گیاهان غیرمیکوریزایی، غلظت پرولین در کلیه سطوح تنش خشکی در تره شادگان بیشتر از دو توده دیگر بود، در حالی‌که مقدار ماده خشک برگ تره شادگان کمتر از دو توده دیگر بود احتمالاً در این شرایط، تنظیم اسمزی به واسطه افزایش یون‌هایی مانند سدیم و کلر و کاهش پتاسیم و کلسیم صورت گرفته است. پس غلظت زیاد سدیم و کلر سبب ایجاد سمیت در گیاه شده و این سمیت میزان رشد و عملکرد را کم می‌کند (باقری، ۱۳۸۸).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که بروز تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد گردید، اما تلقیح ریشه‌ای با قارچ میکوریزا باعث کاهش اثرات تنش خشکی بر این شاخص‌های رشد گردید. این امر نشان‌دهنده نقش مثبت میکوریزا در تغذیه بهتر گیاه و ساخت و انتقال مواد فتوسنتزی در گیاه می‌باشد و در نهایت ماده خشک گیاه افزایش می‌یابد. همچنین گیاهان در هنگام رویارویی با تنش خشکی با تغییراتی که در برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی خود ایجاد می‌نمایند، به تنش پاسخ می‌دهند. یکی از این پاسخ‌ها، تجمع پرولین می‌باشد که نتایج به دست آمده نشان

1 - Lahere *et al.*
2 - Good & Zaplachiniski
3 - Bhosale & Shinde
4 - Wu & Xia

می‌دهند، تجمع آن در تحمل شرایط تنش خشکی مؤثر می‌باشد. کاهش تجمع پرولین در گیاهان میکوریزایی به مفهوم کاهش تنش خشکی بر گیاه توسط قارچ همزیست می‌باشد. نتایج این مطالعه به روشنی نشان می‌دهد که تره شادگان با سیستم ریشه‌ای ضعیف‌تر در تمام سطوح تنش خشکی دارای وابستگی میکوریزایی بیشتر است و این تأییدی است بر فرضیه بیلیس حتی در شرایط تنش خشکی. در نتیجه در شرایط کم آبی با استفاده از کودهای بیولوژیک می‌توان فعالیت سیستم‌های دفاعی گیاه را افزایش داد و گامی مؤثر در راستای کشاورزی پایدار برداشت.

منابع

۱. بابایی، ک.، امینی دهقی، م.، مدرس ثانوی، س. ع. م. و جباری، ر. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۶(۲): ۲۳۹-۲۵۱.

۲. باقری، ع. ۱۳۸۸. اثر تنش خشکی بر عملکرد، اجزاء عملکرد و محتوای یون‌ها در چهار رقم گندم. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی، ۳: ۱۵-۳۰.

۳. جلیلی مرندی، ر. ۱۳۸۹. فیزیولوژی تنش‌های محیطی و مکانیسم‌های مقاومت در *گیاهان* باغی (درختان میوه، سبزی‌ها، گیاهان زینتی و گیاهان دارویی). جلد اول. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد ارومیه. ۶۳۶ ص.

۴. دشتی، ف.، کاشی، ع. و وزوائی، ع. ۱۳۸۲. بررسی تنوع ژنتیکی در بین توده‌های تره ایرانی (*Allium ampeloprasum ssp. Persicum*) با استفاده از صفات مورفولوژیکی. مجله نهال و بذر، ۱۹(۱): ۸۷-۱۰۰.

۵. ساجدی، ن. ع. و رجالی، ف. ۱۳۹۰. تأثیر تنش خشکی، کاربرد روی و تلقیح میکوریزا بر جذب عناصر کم مصرف در ذرت. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، ۲۵(۲): ۸۳-۹۱.

۶. نادیان، ح. ۱۳۹۰. اثر تنش خشکی و همزیستی میکوریزا بر رشد و جذب فسفر توسط دو رقم سورگوم متفاوت در ریخت‌شناسی ریشه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی (علوم آب و خاک)، ۵۷: ۲۵-۳۷.

۷. نم پال سینگ، آ. ک. بهاردواج، آبنیش کومار و ک. م. سینگ. ۱۳۸۶. تکنولوژی مدرن تولید سبزی. مترجم: فرهاد فرح‌وش و محمد مبشر. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز. تبریز. ص ۶۳۱ ص.

۸. نورانی آزاد، ح. و چوبینه، د. ۱۳۸۷. مطالعه تنش آبی بر بیوماس، قندهای محلول، پرولین، آنزیمها و یونها در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annus* L.). فصلنامه علمی-پژوهشی دانش زیستی ایران. ۳ (۲): ۱۹-۲۶.

9. Aliabadi Farahani, M.H., Lebaschi, H., Shiranirad, A.M., Valadabadi, A.R., and Daneshian J. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, different levels of phosphorus and drought stress on water use efficiency, relative water content and proline accumulation rate of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Journal of Medicinal Plants Research, 2(6): 125-131.

10. Alishah, H.M., Heidari, R., Hassani, A., and Dizaji, A. 2006. Effect of water stress on some morphological and biochemical characteristics of purple Basil (*Ocimum* basilicum). Journal of Biological Sciences, 6(4): 763-767.

11. Baylis, G. 1975. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: Endomycorrhiza (Eds Sanders, F. E., Moss, B. and Tinker, P. B.). Academic Press London, 373- 389.

12. Baon, J.B., Smith, S.E., and Alston, A.M. 1994. Growth and phosphorus uptake of rye with long and short root hairs: interaction with mycorrhizal infection. Plant and Soil, 167: 247-254.

13. Bates, L.S., Waldran, R.P., and Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant and soil, 39: 205-208.

14. Bengough, A.G., Bransby, M.F, Hans, J., McKenna, S.J., Roberts, T.J., and Valentine, T. A. 2006. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. Journal of Experimental Botany, 57: 437-447.

15. Bhosale, K.S., and Shinde, B.P. 2011. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on proline and chlorophyll content in *Zingiber officinale rosc* grown under water stress. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 1(3): 172-176.

16. Good, A., and Zaplachiniski, S. 1994. The effects of drought on free amino acid accumulation and protein syntesis in *Brassica napus*. Physiologia Plantarum, 90: 9–14.

17. Kaya, C., Ashraf, M., Sonmez, O., Aydemir, S., Levent-Tuna, A., and Cullu, M. A. 2009. The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. Scientia Horticulturae, 121(1-2): 1-6.

18. Kivimaenpae, M., Sutinin, S., Karlsson, P.E., and Sellde, G. 2003. Cell structural changes in the needles of Norway spruce exposed to long-term ozone and drought. Annals of Botany, 92: 779-793.

19. Kothari, S.K. and Sing, U.B. 1996. Response of citronella Java (*Cymbopogon winterianus Jowitt*) to VA mycorrhizal fungi and soil compaction in relation to P supply. Plant and Soil, 178: 231-237.

20. Lahere, F., Leport, L., Petrialsky, M., and Chupport, M. 1993. Affetors of osmoinduced proline response in higher plants. Plant Physiology and Biochemistry, 31: 911-922.

21. Masoudi-Sadaghiani, F., Abdollahi- Mandoulakani, B., Zardoshti -Mohammad, R., Rasouli-Sadaghiani, M.H., and Tavakoli, A. 2011. Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. Australian Journal of Crop Science, 5(1): 55-60.

22. Misra, R.K., Dexter, A.R., and Alston, A.M. 1986. Maximum axial and radial growth pressures of plant roots. Plant and Soil, 95: 315-326.

23. Nelson, C.E., and Safir, G.R. 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. Planta, 154: 407-413.

24. Neumann, E., and George, E. 2009. The effect of arbuscular mycorrhizal root colonization on growth and nutrient uptake of two different cowpea (*Vigna unguiculata* L. *Walp*.) genotypes exposed to drought stress. Emir Faculty of Food and Agriculture, 21 (2): 01-17.

25. Philips, J.M., and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55:158-161.

26. Schûbler, A., Schwarzott, D., and Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research, 105(12): 1413-1421.

27. Smith, S.E. 1982. Inflow of phosphate into mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of *Trifolium subterraneum* at different levels of soil phosphate. New Phytologist, 90: 293-303.

28. Smith, S.E., and Read, D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Third Edition. Academic Press. San Diego. California, USA, pp769.

29. Soha, E. Khalil., Abdel-Aziz Nahed., G., and Abou Leil. Bedour., H. 2010. Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. Journal of American Science, 6(12): 33-44.

30. Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. Journal of Ecology, 63(3): 995-1001.

31. Vogel-Mikuš, K., Pongrac, P., Kump, P., Nečemer, M., and Regvar, M. 2006. Colonisation of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator Thlaspi praecox Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. Environmental Pollution, 139(2): 362-371.

32. Whitmore, A.P., and Whalley, W.R. 2009. Physical effects of soil drying on roots and crop growth. Journal of Experimental Botany, 60: 2845-2857.

33. Wu, Q.S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology, 163: 417-425.