

(OPEN ACCESS)

**Effect of black summer truffle fungus (*Tuber aestivum*)
on the activity of antioxidant enzymes of oak (*Quercus castaneifolia*)
and paulownia (*Paulownia fortunei*) under water stress**

**Parvin Bagherifar¹, Seyed Mohammad Waez-Mousavi^{*2},
Mohammad Hossein Arzanesh³, Masoud Tohidfar⁴, Hojjatollah Rabbani Nasab⁵**

1. Ph.D. Student of Silviculture and Forest Ecology, Dept. of Silviculture and Forest Ecology, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resource, Gorgan, Iran. E-mail: parvinbaqerifar@yahoo.com
2. Corresponding Author, Assistant Prof., Dept. of Silviculture and Forest Ecology, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: waezmousavi@gau.ac.ir
3. Assistant Prof., Soil Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Golestan, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran. E-mail: mharzanesh@gmail.com
4. Professor, Dept. of Cell and Molecular Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. E-mail: gtohidfar@yahoo.com
5. Assistant Prof., Plant Protection Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Golestan, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran. E-mail: h.rabbani@areeo.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Climate change can directly or indirectly affect forest ecosystems. Understanding these effects is essential for future forest management and conservation planning. Following these changes, water stress is the main challenge for forest ecosystems. The impact of mycorrhizal fungi on host plants have been extensively studied to mitigate the adverse effects of water stress.
Article history: Received: 09.08.2024 Revised: 09.16.2024 Accepted: 10.01.2024	
Keywords: Catalase, Ectomycorrhiza, Peroxidase, Physiological response, Woody Species	Materials and Methods: The present study assessed the effect of the ectomycorrhizal fungus <i>Tuber aestivum</i> on the activity of antioxidant enzymes in the leaves of <i>Paulownia fortunei</i> (Seem) Hemsl. and <i>Quercus castaneifolia</i> C.A. May seedlings under water stress conditions. The experiment used a completely randomized design, with two groups: inoculated with fungus and control (without inoculation). Spawn of <i>T. aestivum</i> fungi was obtained as a commercial package from Poya Toska Biotechnology Company in Iran. According to the manufacturer's instructions, the powdered inoculant is suspended in distilled water to inoculate the seedlings. During three stages, the inoculum was added to the soil around the seedlings, one gram for each pot, at a concentration of 10 ⁸ . The symbiosis formation between fungus and host plants was evaluated using visual and staining methods. Water stress was induced by cessation of irrigation until the inoculated seedlings reached the wilting point, while the control seedlings maintained field capacity during this period. After inducing stress, we used a spectrophotometer to measure the activity of the antioxidant enzymes.
	Results: The results indicated a significant difference in catalase activity in <i>Paulownia</i> (P<0.05) and peroxidase activity in <i>Q. castaneifolia</i> and <i>P. fortunei</i> (P<0.01). The duration of water stress was ten days in

Paulownia and 24 days in *Q. castaneifolia*, with *Q. castaneifolia* demonstrating greater tolerance than *P. fortunei*. Besides the presence of *T. aestivum*, this tolerance to stress may be due to the deeper root system of *Q. castaneifolia*, which enhances water and nutrient absorption.

Conclusion: Mycorrhizal inoculation with *Tuber aestivum* can serve as a biological stimulant and an environmentally friendly protective agent against water stress in *Q. castaneifolia* and *P. fortunei*. This reduction of the effect of stress seems to be due to the increase in antioxidant enzyme activity of plants under water stress. However, various issues exist regarding the interactions between host plants and ectomycorrhizal fungi, particularly black summer truffles. This necessitates further studies to elucidate the role of ectomycorrhizal fungi in different tree species experiencing water stress.

Cite this article: Bagherifar, Parvin, Waez-Mousavi, Seyed Mohammad, Arzanesh, Mohammad Hossein, Tohidfar, Masoud, Rabbani Nasab, Hojjatollah. 2025. Effect of black summer truffle fungus (*Tuber aestivum*) on the activity of antioxidant enzymes of oak (*Quercus castaneifolia*) and paulownia (*Paulownia fortunei*) under water stress. *Journal of Plant Production Research*, 32 (3), 207-226.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/jopp.2024.22779.3187

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثر قارچ ترافل سیاه تابستانی (*Tuber aestivum*) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) و پالونیا (*Paulownia fortunei*) تحت تنش آبی

پروین باقری فر^۱، سید محمد واعظ موسوی^{۲*}، محمدحسین ارزانش^۳، مسعود توحیدفر^۴، حجت‌اله ربانی نسب^۵

۱. دانشجوی دکتری جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: parvinbaqerifar@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، استادیار گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: waezmousavi@gu.ac.ir
۳. استادیار اداره بخش خاک مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران. رایانامه: mharzanesh@gmail.com
۴. استاد گروه زیست‌شناسی سلولی و ملکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. رایانامه: gtohidfar@yahoo.com
۵. استادیار اداره تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران. رایانامه: h.rabbani@areeo.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: تغییرات آب‌وهوایی می‌تواند اثرات مستقیم و غیرمستقیم بر بوم‌سازگان‌های طبیعی داشته باشد. درک این اثرات برای مدیریت مؤثر منابع محیطی و برنامه‌ریزی حفاظتی آینده ضروری است. به دنبال این تغییرات، تنش آبی به عنوان چالش اصلی برای بوم‌سازگان طبیعی شناخته شده است. تأثیر قارچ‌های میکوریز بر روی گیاهان میزبان به طور گسترده‌ای برای کاهش اثرات نامطلوب تنش آبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر قارچ اکتومیکوریز ترافل سیاه تابستانی (<i>Tuber aestivum</i>) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ‌های گیاه پالونیا فورتنونی و بلوط بلندمازو در شرایط تنش آبی بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۸	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۶	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۰	
واژه‌های کلیدی: اکتومیکوریز، پاسخ فیزیولوژیکی، پراکسیداز، کاتالاز، گونه‌های چوبی	مواد و روش‌ها: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو گروه تلقیح شده با قارچ و شاهد (بدون تلقیح) انجام شد. اسپان قارچ <i>T. aestivum</i> به صورت بسته تجاری از شرکت پویا فن‌آوران زیستی توسکا در ایران تهیه گردید. برای تلقیح نهال‌ها، طبق دستورالعمل شرکت سازنده، ماده تلقیح پودری در آب مقطر به حالت تعلیق درآمده است. طی سه مرحله تلقیح به خاک اطراف نهال‌ها به ازای هر گلدان یک گرم با غلظت 10^8 اضافه شد. تشکیل همزیستی بین

قارچ و گیاه میزبان با استفاده از روش‌های چشمی و روش رنگ‌آمیزی ارزیابی شد. تنش آبی با توقف آبیاری تا رسیدن نهال‌های تلقیح شده به نقطه پژمردگی اعمال شد، درحالی‌که نهال‌های شاهد ظرفیت زراعی کامل را در این مدت حفظ کردند. پس از اعمال تنش، از اسپکتروفتومتر برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد در فعالیت کاتالاز در پالونیا و در سطح ۹۹ درصد در فعالیت پراکسیداز در بلندمازو و پالونیا وجود دارد. طول مدت تنش آبی در پالونیا ۱۰ روز و در بلندمازو ۲۴ روز بود که بلندمازو مقاومت بیش‌تری نسبت به پالونیا نشان داد. علاوه بر وجود قارچ *T. aestivum*، این مقاومت به تنش ممکن است به دلیل سامانه ریشه عمیق‌تر بلندمازو باشد که جذب آب و مواد غذایی را افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری: تلقیح میکوریزی با *T. aestivum* می‌تواند به‌عنوان یک محرک زیستی و یک عامل محافظ سازگار با محیط‌زیست در برابر تنش آبی در نهال‌های بلندمازو و پالونیا عمل کند. این کاهش اثر تنش به‌نظر می‌رسد در اثر بیش‌تر شدن فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش آبی باشد. بااین‌حال، مسائل متعددی در موردتعامل بین گیاهان میزبان و قارچ‌های اکتومیکوریز، به‌ویژه ترافل سیاه تابستانی وجود دارد. این امر مستلزم مطالعات بیش‌تر برای روشن شدن نقش قارچ‌های اکتومیکوریز در گونه‌های مختلف درختی است که تنش آبی را تجربه می‌کنند.

استناد: باقری‌فر، پروین، واعظ موسوی، سید محمد، ارزانش، محمدحسین، توحیدفر، مسعود، ربانی‌نسب، حجت‌اله (۱۴۰۴). اثر قارچ ترافل سیاه تابستانی (*Tuber aestivum*) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) و پالونیا (*Paulownia fortunei*) تحت تنش آبی. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۲ (۳)، ۲۲۶-۲۰۷.

DOI: 10.22069/jopp.2024.22779.3187



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

تغییرات آب و هوایی می تواند اثرات مستقیم و غیرمستقیم بر بوم سازگان های طبیعی داشته باشد. درک این اثرات برای مدیریت مؤثر جنگل و برنامه ریزی حفاظتی آینده ضروری است (۱). خشک سالی به عنوان یک تهدید جهانی مهم برای سلامت جنگل ها در شرایط آب و هوایی در حال تغییر ظاهر شده است که اغلب منجر به تخریب زیست بوم ها و مرگ و میر درختان می شود (۱، ۲). تنش آبی ناشی از این تغییرات آب و هوایی می تواند رشد و استقرار نهال ها را در جنگل کاری ها و احیا جنگل های تخریب شده در سراسر جهان محدود کند (۳، ۴). این تنش در گیاهان باعث تولید گونه های اکسیژن فعال می شود که در سلول ها تجمع می یابد و منجر به آسیب سلولی می شود. چنین آسیبی بر فتوسنتز تأثیر منفی می گذارد و در نهایت منجر به کاهش رشد می شود (۳)؛ بنابراین، درک چگونگی سازگاری گونه های مختلف گیاهی با کمبود آب ضروری است، زیرا این دانش برای حفاظت از تنوع زیستی و مطالعات محیطی بسیار مهم است (۵).

شواهد نشان می دهد که برخی از سامانه های آنتی اکسیدانی گیاهی در توانمندی آن ها برای مقاومت در برابر تنش آبی حیاتی هستند (۶). آنزیم های آنتی اکسیدانی، از جمله کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، از نظر ماهیت بیوشیمیایی و سازوکارهایی که استفاده می کنند متفاوت هستند. این سازوکارها شامل اهدای الکترون، حفظ تعادل اکسیداسیون-کاهش، محافظت از غشای سلولی و کاهش فعالیت گونه های فعال اکسیژن است (۷، ۸، ۹). کاتالاز یک آنزیم آنتی اکسیدانی مهم است که سمیت پراکسید هیدروژن را در شرایط تنش کاهش می دهد و در نتیجه اثرات مخرب آن را بر گلیکسی زوم، پراکسی زوم و

میتوکندری کاهش می دهد (۱۰، ۱۱). پراکسید هیدروژن محصول جانبی متابولیسم سلولی طبیعی در گیاهان است، با این حال به عنوان یک مولکول تنظیم کننده و سیگنال دهنده در پاسخ به تنش نیز عمل می کند (۱۲). به دنبال کاتالاز، پراکسیداز نقش مهمی در تجزیه پراکسید هیدروژن دارد (۱۳). در حالی که کاتالاز مستقیماً پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می کند، پراکسیداز با اکسید کردن یک پیش ماده، مانند ترکیبات فنلی، پراکسید هیدروژن را حذف می کند (۱۴). عواملی مانند گونه های گیاهی، شرایط محیطی و شدت تنش بر فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز تأثیر می گذارد (۱۵). پژوهش ها نشان داده است که تحت تنش آبی، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز افزایش می یابد، در حالی که فعالیت کاتالاز تمایل به کاهش دارد (۱۶).

یکی از راهکارهای مؤثر برای کاهش تنش آبی در گیاهان، تلقیح میکوریزی است. در این میان، قارچ های اکتومیکوریز، جانداران همزیست مهمی می باشند که با ریشه های گیاه مرتبط هستند. در سطح جهان، بین ۲۰۰۰۰ تا ۲۵۰۰۰ گونه از قارچ های اکتومیکوریز شناسایی شده است که بیشتر آن ها متعلق به شاخه *Basidiomycetes* یا *Ascomycetes* هستند (۱۷). این قارچ ها در دسترس بودن مواد غذایی خاک و آب را برای گیاهان میزبان خود افزایش می دهند و مقاومت آن ها را در برابر خشک سالی، عوامل بیماری زا و آلودگی فلزی بهبود می بخشند. علاوه بر این، قارچ های اکتومیکوریزی تنوع زیستی و عملکرد مناسب زیست بوم ها را حفظ می کنند. آن ها هم چنین نقش حیاتی در چرخه جهانی غذا و کربن دارند (۱۸، ۱۹). همزیستی اکتومیکوریزی برای رشد و بقای درختان جنگلی ضروری است و تأثیر مثبت آن بر استقرار و رشد گیاهان جنگلی نشان می دهد که تلقیح اکتومیکوریزی ابزاری ارزشمند برای افزایش تولید گیاه در مدیریت جنگل است (۱۸).

Funneliformis و *Rhizophagus irregularis* *mosseae* هم به‌تنهایی و هم همراه با باکتری *Pseudomonas fluorescens* معناداری آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش داده و سطوح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی را بهبود بخشیده است که منجر به افزایش مقاومت نهال‌های *Cupressus arizonica* Green در برابر تنش آبی گردیده است (۲۵). علاوه بر این، چن و همکاران (۲۰۲۴) مشاهده کردند که قارچ‌های میکوریزی *Funneliformis mosseae* و *Claroideoglomus etunicatum*، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در علف شتر (*Alhagi sparsifolia*) تحت شرایط تنش شوری و آبی افزایش دادند (۲۶). همچنین، بهمنی و همکاران (۲۰۱۸) یافته‌های مشابهی گزارش کردند که نشان می‌دهد *Glomus intraradices* سطوح کاتالاز و پراکسیداز را در *Calotropis procera* تحت تنش آبی افزایش داده است (۲۷). بلندمازو که بانام علمی *Ait castaneifolia* C.A. *Quercus Meyer* شناخته می‌شود، گونه‌ای ارزشمند در جنگل‌های هیرکانی می‌باشد و می‌تواند تا ۵۰ متر در ارتفاع رشد کند و معمولاً قطر آن ۲ تا ۲/۵ متر است. این گونه دارای ریشه‌های عمیق است و خاک‌های شنی و آهکی را ترجیح می‌دهد. این نوع خاک‌ها به دلیل ساختار مناسبشان، رطوبت را به‌خوبی حفظ کرده و درعین‌حال، تهویه خوبی نیز دارند. این ویژگی‌ها باعث می‌شود که ریشه‌های گیاه بتوانند به‌راحتی مواد غذایی را جذب کنند و در نتیجه گیاه به‌خوبی رشد کند (۲۸، ۲۹). هر دو گونه *P. fortunei* و *Q. castaneifolia* گونه‌های درختی قابل‌توجهی هستند که به‌دلیل ویژگی‌های رشد چشمگیر و مزایای محیط‌زیستی خود شناخته می‌شوند. گونه‌های پالونیا در حال حاضر در سراسر آسیا، ایالات‌متحده، اروپا و استرالیا پراکنده هستند. پژوهش‌گران پیشرفت‌های قابل‌توجهی در مطالعه

ترافل‌ها که در زیر جنس توپر^۱ طبقه‌بندی می‌شوند، قارچ‌های اکتومیکوریزی هستند که اهمیت اقتصادی و محیط‌زیستی قابل‌توجهی دارند (۲۰). در میان آن‌ها *Tuber aestivum* Vittad. یک‌گونه مهم از ترافل‌ها است که به دلیل طعم بدیع خود مشهور است. این‌گونه همزیستی اکتومیکوریزی را با جنس‌های مختلف درختی و درختچه‌ای از جمله *Quercus*, *Populus*, *Tilia*, *Fagus*, *Carpinus* و *Corylus* تشکیل می‌دهد (۲۰، ۲۱). سازگاری با شرایط مختلف آب‌وهوایی و ویژگی‌های خاک را نشان می‌دهد و مقاومت بیش‌تری نسبت به سایر گونه‌های ترافل سیاه مانند *T. brumale* و *T. melanosporum* به خشکی نشان داده است (۲۱، ۲۲).

مطالعات انجام‌شده در زمینه تأثیر قارچ‌های اکتومیکوریز بر روی گونه‌های مختلف گیاهی در شرایط تنش آبی، به‌دلیل پیامدهای آن برای اکولوژی و مدیریت جنگل، توجه پژوهش‌گران را به خود جلب نموده است.

به‌عنوان مثال، زارع مایوان و همکاران (۲۰۱۵) همبستگی مثبتی بین فعالیت پراکسیداز و کلونیزاسیون اکتومیکوریزی در *Carpinus betulus* L. و *Alnus subcordata* C.A. Mey. جنوب خزر نشان دادند (۲۳). لئو و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که قارچ‌های *Rhizophagus clarus* و *Glomus lamellosum* *Rhizophagus irregularis* و *Funneliformis mosseae* فعالیت‌های آنزیم‌های کلیدی آنتی‌اکسیدانی، از جمله کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز را در برگ‌های بادام‌زمینی (*Arachis hypogaea*) تحت تنش‌های غیرزیستی افزایش دادند (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر عالی‌پور و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که کاربرد

1- Tuber

P. fortunei داشته‌اند که عمدتاً بر تقویت ژنتیکی آن (۳۰) و خواص دارویی آن، به‌ویژه استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی از گل‌ها، برگ‌ها و دمبرگ‌های آن تمرکز کرده‌اند (۳۱). جنس پالونیا (*Paulownia*) شامل ۹ گونه درختی با رشد سریع، بومی چین و شرق آسیا است که *Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl. یکی از مهم‌ترین آن‌ها است (۳۲، ۳۳). برگ‌های پالونیا سرشار از مواد غذایی ضروری مانند پروتئین، چربی، قند، نیتروژن، فسفر و پتاسیم است که برای خوراک دام مفید است و در صورت استفاده به‌عنوان کود سبز باعث افزایش مواد آلی خاک می‌شود (۳۴، ۳۵).

باوجود این که قارچ‌های اکتومیکوریز ترافل و نقش آن‌ها در بهبود سلامت و رشد درختان در سطح جهانی بسیار موردتوجه قرار گرفته‌اند، اما در ایران باوجود زیستگاه‌های طبیعی ترافل، پژوهش‌ها و مطالعات در این زمینه به‌ویژه کاربرد آن‌ها در گونه‌های چوبی تحت تنش آبی در شرایط گلخانه بررسی نشده است. این شکاف قابل‌توجه است و این موضوع می‌تواند فرصتی برای پژوهش‌گران و کارشناسان باشد تا به بررسی و شناخت بیش‌تر این قارچ‌ها و تأثیرات مثبت آن‌ها بر زیست‌بوم‌های محلی بپردازند. اگرچه پژوهش‌گران در سراسر جهان تلقیح موفقیت‌آمیز گونه‌های مختلف بلوط را با قارچ‌های اکتومیکوریز ترافل با اهداف گوناگون در محیط‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای گزارش داده‌اند و مزایای بالقوه چنین تعاملاتی را برجسته می‌کند اما تاکنون مطالعه دقیق و جامعی در مورد تعامل بین گونه پالونیا فورتنونی و *T. aestivum* در سطح جهانی گزارش نشده است.

با توجه به رشد سریع پالونیا فورتنونی و سازوکارهای همزیستی منحصربه‌فرد آن با قارچ‌ها که کیفیت خاک و جذب مواد غذایی را بهبود می‌بخشد، درک تعاملات آن با *T. aestivum* ضروری است.

علاوه بر این، بلندمازو نقش مهمی در حفظ تنوع زیستی و حفاظت از بوم‌سازگان‌های طبیعی در منطقه هیرکانی ایفا می‌کند. بررسی تعاملات بین این دو گونه در شرایط تنش آبی برای درک سازوکارهای تطبیقی آن‌ها بسیار مهم است. این مطالعه باهدف پر کردن شکاف دانش موجود در رابطه با اثرات *T. aestivum* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز، در برگ نهال‌های بلوط بلندمازو و پالونیا فورتنونی انجام شد. درواقع این مطالعه به دنبال روشن‌تر کردن سازوکارهای پاسخ و مقاومت این‌گونه‌های درختی به تنش آبی و کشف نقش ناشناخته قارچ‌های اکتومیکوریز در افزایش انعطاف‌پذیری گیاه است.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه: مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات قارچ ترافل سیاه تابستانی (*Tuber aestivum*) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ‌های بلوط بلندمازو و پالونیا فورتنونی در شرایط تنش آبی انجام شد. این آزمایش در سه مرحله در مکان‌ها و دوره‌های زمانی مختلف انجام شد:

مرحله ۱: آماده‌سازی نهال، تلقیح و نگهداری: مرحله اول آزمایش شامل تهیه، تلقیح و نگهداری نهال در نهالستان جنگلی آموزشی-پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان واقع در منطقه شصت‌کلاته شهرستان گرگان بود. این مرحله به مدت ۲۹ ماه، از اول فروردین‌ماه ۱۳۹۹ تا اول مردادماه ۱۴۰۱ انجام شد.

مرحله ۲: نگهداری نهال‌ها در گلخانه و اعمال تنش آبی: مرحله دوم آزمایش شامل اعمال تنش آبی بر روی نهال‌های تلقیح شده در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان بود. این مرحله به مدت سه ماه از اول مردادماه ۱۴۰۱ تا اواخر مهر ۱۴۰۱ انجام شد.

مرحله ۳: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: مرحله سوم آزمایش شامل اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های نهال‌های شاهد و تلقیح بود. این مرحله در پایان مهرماه ۱۴۰۱ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. هدف نویسندگان این مطالعه با انجام آزمایش در این سه مرحله در مکان‌ها و دوره‌های زمانی مختلف، ارزیابی جامعی از اثرات قارچ ترافل سیاه تابستانی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نهال‌های بلوط بلندمازو و پالونیا فورتونی در شرایط تنش آبی بود.

آماده‌سازی خاک، گلدان و مراقبت از نهال: برای آزمایش از گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی استفاده شد. هر گلدان با بستری متشکل از خاک سیاه جنگل به همراه

خاک‌برگ روی آن پر شد. این مخلوط از پایین‌دست جنگل شصت‌کلاته شهرستان گرگان به نسبت ۹:۱ تهیه شد. در مجموع ۴۰ نهال شامل نهال پالونیا فورتونی و نهال بلوط بلندمازو یک‌ساله از نهالستان جنگلی شصت‌کلاته تهیه شد. از ۴۰ نهال، ۲۰ نهال با قارچ ترافل سیاه تابستانی تلقیح شدند، در حالی که ۲۰ نهال باقیمانده به‌عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفتند. در فصول گرم، نهال‌ها هفته‌ای سه بار با آب معمولی آبیاری می‌شدند، در ماه‌های سردتر، دفعات آبیاری به یک‌بار در هفته کاهش یافت. برخی از ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی خاک منطقه مورد استفاده در آزمایش در عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری در جدول یک ارائه شده است (جدول ۱).

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی خاک مورد مطالعه.

Table 1. Selected physical and chemical characteristics of the studied soil.

پتاسیم قابل جذب (بی‌پی‌ام) Potassium (Available Potassium) (ppm)	فسفر قابل جذب (بی‌پی‌ام) Phosphorus (Available Phosphorus) (ppm)	نیتروژن کل (%) Total Nitrogen (%)	کربن آلی (%) Organic Carbon (%)	بافت خاک Soil texture	EC (mmohs/cm)	واکنش خاک pH	ویژگی Characteristic
260	6.58	0.10	1.4	سیلتی رسی Silty Clay	0.76	7.68	مقدار Value

اعمال تنش آبی به نهال‌های تلقیح‌شده با ترافل سیاه تابستانی: نهال‌های سه‌ساله پالونیا فورتونی و بلوط بلندمازو در اول مردادماه ۱۴۰۱ از نهالستان به گلخانه دانشکده علوم جنگل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. پس از یک دوره ۵۰ روزه سازگاری در گلخانه، تنش آبی با توقف آبیاری تا رسیدن به نقطه پژمردگی به نهال‌های تلقیح‌شده اعمال شد. نهال‌های شاهد در طول آزمایش در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی نگهداری شدند. سپس فعالیت آنزیم

روش تلقیح: اسپان قارچ *T. aestivum* در بسته‌بندی تجاری از شرکت پویا فن‌آوران زیستی توسکا در ایران تهیه شد. طبق دستورالعمل شرکت سازنده، مایه تلقیح پودر شده در آب مقطر معلق شد. به ازای هر گلدان یک گرم از مایه تلقیح، با غلظت 10^8 اسپور در گرم به خاک اطراف هر نهال اضافه شد. تلقیح نهال‌ها در سه مرحله جداگانه در روزهای ابری در فروردین ۱۳۹۹، مردادماه ۱۴۰۰ و خرداد ۱۴۰۱ انجام شد.

آنتی اکسیدانی در نمونه های برگ از هر دو نهال تلقیح شده و شاهد اندازه گیری شد تا اثرات تلقیح ترافل سیاه تابستانی بر پاسخ نهال ها به تنش آبی ارزیابی شود.

میزان کلونیزاسیون ریشه ها: کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ های میکوریزی را می توان با استفاده از روش های مختلف، به ویژه روش های چشمی و رنگ آمیزی، اندازه گیری کرد.

روش چشمی: در اوایل دی ماه ۱۴۰۰، تشکیل همزیستی اکتومیکوریزی در زیر میکروسکوپ پس از ارزیابی چشمی (*visual evaluation*) سامانه ریشه، به ویژه یک سوم تحتانی، مشخص گردید (۳۶، ۳۷).

روش رنگ آمیزی: بعد از اعمال تنش آبی، ابتدا گلدان ها برای خارج شدن ریشه ها آبیاری شدند. ریشه ها پس از خارج شدن از گلدان ها به طور کامل با آب شستشو داده شدند و از قسمت های مختلف ریشه هر گلدان نمونه گیری به عمل آمد. چندین قطعه نازک به طول یک تا دو سانتی متر از ریشه گیاه انتخاب و به لوله آزمایش منتقل کرده و با دقت چندین مرتبه با آب شسته شدند. جهت شفاف سازی^۱ نمونه های ریشه با محلول ۱۰ درصد هیدروکسید پتاسیم (KOH) در بن ماری در حال جوش قرار داده شدند. مدت و دمای این مرحله به نوع ریشه بستگی دارد. برای ریشه های ظریف از زمان کمتر یا دمای کمتر استفاده می شود. ریشه ها چندین بار با آب مقطر شسته شدند تا هر گونه KOH باقی مانده حذف شود. سپس ریشه های شسته شده به مدت سه تا پنج دقیقه در محلول اسید کلریدریک یک درصد (HCl) غوطه ور شدند. این مرحله بسیار مهم است زیرا ریشه ها برای فرآیند رنگ آمیزی آماده می شوند و برای حفظ محیط اسیدی لازم برای رنگ آمیزی، نباید بعد از آن شستشو داده شوند. یک معرف ۰/۰۵ درصد تریپان بلو در یک

بن ماری در حال جوش برای حدود یک ساعت حرارت داده شد. این رنگ برای رنگ آمیزی ریشه ها استفاده می شود و امکان مشاهده ساختارهای قارچی مرتبط با همزیستی میکوریزی را فراهم می کند. پس از رنگ آمیزی، ریشه ها شسته شده و به مدت یک روز در لاکتوفنول قرار گرفتند. این مرحله برای حذف رنگ اضافی و نگهداری نمونه ها برای طولانی مدت عمل می کند. پس از آن، ریشه ها باید بی رنگ به نظر برسند و ساختارهای قارچی در رنگ های آبی یا سبز-آبی قابل مشاهده باشند. در نهایت، ریشه های رنگ آمیزی شده زیر میکروسکوپ بررسی شدند تا وجود همزیستی میکوریزی تأیید شود و درصد روابط همزیستی موجود تعیین شود. این روش که از فیلیپس و هایمن (۱۹۷۰) الهام گرفته شده است، برای مطالعه برهمکنش های بین ریشه های گیاه و قارچ های میکوریزی مؤثر است (۳۸).

تعیین درصد همزیستی میکوریزی ریشه: برای ارزیابی درصد همزیستی میکوریزی در ریشه ها، از روش تلاقی خطوط مشبک^۲ استفاده شد. پس از رنگ آمیزی ریشه ها، آن ها به طور تصادفی در ظرف پتری که زیر آن کاغذ شبکه بندی شده با ابعاد ۱×۱ سانتی متر بود، پخش شدند. تعداد نقاطی از ریشه که با خطوط عمودی و افقی برخورد کرده بودند شمرده شدند. سپس نقاطی که آبی پررنگ تری داشتند، نیز شمرده شدند. در نهایت از تقسیم این عدد بر کل برخوردها درصد همزیستی ریشه با قارچ تخمین زده شد، این عمل برای همه تیمارها با سه تکرار انجام شد. تعیین درصد همزیستی ریشه ها با بررسی تلاقی خطوط شبکه با استفاده از معادله یک محاسبه شد (۳۹).

$$(۱) \quad \text{درصد همزیستی} = \frac{\text{تعداد نقاط دارای همزیستی میکوریزی}}{\text{تعداد کل نقاط}} \times 100$$

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش چنس و ماهلی (۱۹۵۵) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزودن ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش متشکل از ۱۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷)، ۷۵۰ میکرولیتر گوئیکول (۱۰ میلی‌مولار) محلول در آب دوبار تقطیر و H_2O_2 (۷۰ میلی‌مولار) محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷) به میزان ۱۰۰ میکرولیتر، آب دو بار تقطیر استریل شده به میزان ۷۵۰ میکرولیتر مخلوط شد. مخلوط واکنش در اسپکتروفتومتر UNICO 2100 UV قرارداد شد و فعالیت پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر بررسی شد. از مخلوط بدون عصاره آنزیمی به عنوان شاهد استفاده شد. قرائت جذب در ۱۰، ۶۰ و ۱۸۰ ثانیه انجام شد و میانگین جذب برای تعیین فعالیت آنزیم در واحد زمان محاسبه شد (۴۲).

طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با دو گروه نهال تلقیح‌شده با قارچ میکوریزی *T. aestivum* و نهال شاهد (تلقیح‌نشده) انجام شد. پس از تأیید نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، اثرات تلقیح ترافل بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نهال‌های بلوط بلندمازو و پالونیا فورتونی در شرایط تنش آبی با استفاده از آزمون *t* مستقل در سطح معنی‌داری پنج و یک درصد در نرم‌افزار SPSS 26 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

میزان کلونیزاسیون ریشه‌ها: نتایج مطالعه نشان داد که براساس ارزیابی چشمی سامانه ریشه، همزیستی در

استخراج عصاره گیاهی: محلول عصاره‌گیری با استفاده از روش ابرمن و استریچ (۱۹۸۲) از مخلوط کردن تریس (۱/۲ گرم)، نمک طعام (۳/۶)، بوراکس (۳/۸ گرم)، EDTA (۲ گرم)، اسید اسکوربیک (۲ گرم)، پلی‌اتیلن گایاکول (۵۰ گرم) تهیه شد. موارد فوق در آب مقطر حل‌شده و سپس با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. محلول حاصل برای ادامه آزمایش‌ها در یخچال نگهداری شد. یک گرم برگ تازه در هاون استریل شده، خردشده و سپس با استفاده از اسپاچول قاشقکی استیل در لوله‌آزمایش فشرده شد. محلول عصاره‌گیری به مقدار سه برابر وزن نمونه به آن اضافه شد و در یخچال نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ده دقیقه) سانتریفیوژ شده و سپس عصاره رویی جداشده و به لوله‌های میکروسانتریفیوژ انتقال یافت و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۴۰).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با افزودن ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش متشکل از ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم، ۲۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در غلظت ۷۰ میلی‌مولار و آب مقطر ارزیابی شد. سپس این مخلوط در دستگاه اسپکتروفتومتر UNICO 2100 UV بررسی شد. از مخلوط بدون عصاره آنزیمی به عنوان شاهد استفاده شد. فعالیت کاتالاز در طول موج ۲۴۰ نانومتر در سه بازه زمانی ۱۰، ۶۰ و ۱۸۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. مقادیر متوسط جذب به دست آمده از این نقاط زمانی برای تعیین فعالیت آنزیم در واحد زمانی، با پیروی از روش توصیف‌شده توسط آبی (۱۹۸۴) محاسبه شد (۴۱).

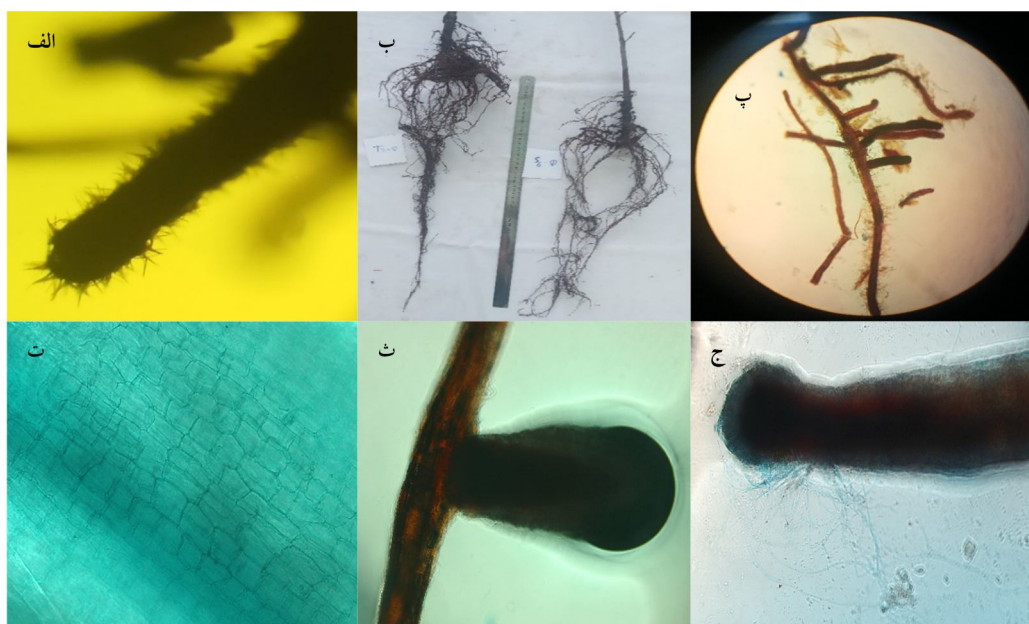
T. aestivum و دو گونه آزمایش شده را ارائه می‌دهد. علاوه بر این، پاسخ رشدی نهال‌های میکوریزی نشان می‌دهد که این نهال‌ها از مزایای تغذیه‌ای ارائه شده از میکوریز، از جمله دسترسی به منابع محدود خاک، به‌ویژه عناصر غذایی کم‌تحرک، بهره می‌برند. این نتایج نشان می‌دهد که قارچ‌های میکوریز رشد گیاهان را افزایش می‌دهند و از این طریق به افزایش و بهبود تولید گیاه کمک می‌کنند. تشکیل همزیستی با استفاده از دو روش چشمی و رنگ‌آمیزی در ریشه‌های تلقیح شده و هم‌چنین ریشه‌های تلقیح نشده گونه پالونیا فورتونی در شکل یک و بلوط بلندمازو در شکل دو ارائه شده است.

گونه بلوط ۷۶ درصد و در پالونیا ۳۲ درصد برآورد شد. هم‌چنین بر اساس روش تلاقی خطوط مشبک همزیستی در گونه بلوط ۷۱ درصد و در پالونیا ۲۷ درصد محاسبه شد. مطالعه حاضر، اثر قارچ ترافل سیاه تابستانی را بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در نهال‌های تلقیح شده و شاهد بلوط بلندمازو و پالونیا فورتونی در شرایط تنش آبی مورد ارزیابی قرارداد. میکوریز جز جدایی ناپذیر ریشه گیاهان است و بیش‌تر میکوریزها در جنگل‌های معتدل به گروه همزیستی اکتومیکوریز تعلق دارند (۱۸). نرخ بالای میکوریز مشاهده شده در این مطالعه شواهد قوی از تعامل نزدیک و سازگاری خوب میکوریزی بین



شکل ۱- (الف): ریشه‌های تلقیح شده *Paulownia fortunei* توسط *Tuber aestivum*. (ب): سمت چپ: ریشه‌های *P. fortunei* بدون *T. aestivum*. سمت راست: ریشه‌های *P. fortunei* با *T. aestivum*. (پ): ریشه اکتومیکوریزی رنگ نشده *P. fortunei* در زیر میکروسکوپ. (ت): ریشه رنگ شده *P. fortunei* بدون *T. aestivum* در زیر میکروسکوپ. (ث و ج): ریشه‌های اکتومیکوریزی *P. fortunei* توسط *T. aestivum* در زیر میکروسکوپ، نشان‌دهنده تغییرات ریخت‌شناسی و مزایای بالقوه همزیستی میکوریزی.

Fig. 1. (a): Roots of *Paulownia fortunei* inoculated by *Tuber aestivum*. (b): Left: *P. fortunei* roots without *T. aestivum*. Right: *P. fortunei* roots with *T. aestivum*. (c): Unstained ectomycorrhizal root of *P. fortunei* under the microscope. (d): The stained root of *P. fortunei* without *T. aestivum* under a microscope. (e and f): *P. fortunei* ectomycorrhizal roots by *T. aestivum* under the microscope, showing morphological changes and potential benefits of mycorrhizal symbiosis.



شکل ۲- (الف): ریشه اکتومیکوریز رنگ نشده *Quercus castaneifolia* توسط *Tuber aestivum* در زیر میکروسکوپ. (ب): سمت راست: ریشه‌های *Q. castaneifolia* بدون *T. aestivum*. سمت چپ: ریشه‌های *Q. castaneifolia* با *T. aestivum*. (پ): ریشه‌های اکتومیکوریزی رنگ نشده *Q. castaneifolia* در زیر میکروسکوپ. (ت): ریشه رنگ شده *Q. castaneifolia* بدون *T. aestivum* در زیر میکروسکوپ. (ث و ج): ریشه‌های اکتومیکوریزی رنگ شده *Q. castaneifolia* توسط *T. aestivum* در زیر میکروسکوپ، نشان‌دهنده تغییرات ریخت‌شناسی و مزایای بالقوه همزیستی میکوریزی.

Fig. 2. (a): Unstained ectomycorrhizal root of *Quercus castaneifolia* by *Tuber aestivum* under a microscope. (b): Right: roots of *Q. castaneifolia* without *T. aestivum*. Left: *Q. castaneifolia* roots with *T. aestivum*. (c): Unstained ectomycorrhizal roots of *Q. castaneifolia* under the microscope. (d): The stained root of *Q. castaneifolia* without *T. aestivum* under a microscope. (e and f): ectomycorrhizal roots of *Q. castaneifolia* stained by *T. aestivum* under the microscope, showing morphological changes and potential benefits of mycorrhizal symbiosis.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز: تغییرات در فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان تحت تنش آبی براساس عوامل مختلفی اتفاق می‌افتد که نشان‌دهنده پاسخ گوناگون گیاهان به تنش‌های محیطی و نقش مهم این دو آنزیم در ساماندهی سامانه دفاعی گیاهان است. کمبود آب معمولاً می‌تواند رادیکال‌های آزاد را در سلول‌های گیاهی افزایش دهد و تنش اکسیداتیو ایجاد کند (۶). زمانی که گیاهان تحت تنش هستند، سطح آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد. این افزایش نشان‌دهنده فعالیت بیش‌تر این آنزیم‌ها در مقابله با تنش اکسیداتیو است، از این آنزیم‌ها به‌عنوان شاخص تنش گیاه استفاده می‌شود

مدت تنش آبی: بر اساس نتایج مطالعه حاضر، مدت تنش آبی در پالونیا فورتونی ده روز و در بلوط بلندمازو ۲۴ روز بود. در شرایط تنش آبی، گونه بلندمازو مقاومت بیش‌تری نسبت به پالونیا نشان داده است. این مقاومت به تنش آبی علاوه بر حضور قارچ میکوریز، ممکن است به دلیل سامانه ریشه عمیق‌تر گونه بلندمازو باشد که باعث افزایش جذب آب و مواد غذایی بیش‌تر شده است. در این مطالعه نقش قارچ میکوریز در تقویت سامانه دفاعی گیاه با بررسی میزان کلونیزاسیون ریشه و وسعت شبکه‌های میکوریزی که بر جذب مواد غذایی گیاه تأثیر می‌گذارد، آشکارتر شد.

(۴۳). قارچ‌های میکوریزی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تأثیر مثبت می‌گذارند، جذب مواد غذایی را در گیاهان افزایش می‌دهند و اثرات نامطلوب تنش‌های محیطی بر آن‌ها را کاهش می‌دهند (۴۴). آنزیم کاتالاز می‌تواند شش میلیون مولکول پراکسید هیدروژن را در کمتر از یک دقیقه به آب و اکسیژن تجزیه کند (۱۴). فعالیت آنزیم کاتالاز در قارچ‌ها با شرایط تنش مانند محتوای آب و دما، حضور گونه‌های رقیب و توسعه چرخه زندگی آن‌ها مرتبط است (۴۵). قارچ ترافل سیاه تابستانی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی را در گونه‌های چوبی از طریق بهبود تبادل مواد غذایی، تولید ترکیبات فعال زیستی، القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش تنش و افزایش کارایی فتوسنتزی افزایش می‌دهد. این تعاملات بر اهمیت اکولوژیکی و فیزیولوژیکی قارچ‌های میکوریزی در سلامت و انعطاف‌پذیری گیاه تأکید می‌کند (۴۶، ۴۷).

نتایج آزمون t مستقل برای مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های تلقیح‌شده و شاهد بلوط بلندمازو و پالونیا فورتونی در جدول ۲ و شکل ۳ ارائه

شده است. نتایج آزمون t مستقل تفاوت آماری معنی‌داری را در فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های بلندمازو تلقیح‌شده نسبت به گروه شاهد نشان نداد. اگرچه تفاوت آماری معنی‌داری در فعالیت کاتالاز بین گروه‌های تلقیح‌شده و شاهد مشاهده نشد، اما افزایش فعالیت کاتالاز در نهال‌های تلقیح‌شده تحت تنش آبی نشان‌دهنده افزایش بالقوه سازوکارهای دفاعی گیاه است که با یافته‌های او و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد (۴۸). نتایج آزمون t مستقل در پالونیا، تفاوت معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد در فعالیت آنزیم کاتالاز بین نهال‌های شاهد و تلقیح‌شده تحت تنش آبی نشان داد؛ اما در شرایط تنش، قارچ میکوریز تأثیری در فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های تلقیح‌شده نداشت. در همین زمینه عباسپور و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند که تلقیح نهال‌های *Pistacia vera* با دو قارچ آربسکولار در هر دو شرایط آبیاری مناسب و تنش آبی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی و ریشه تأثیری نداشت که با نتایج این بخش از مطالعه حاضر مطابقت دارد (۴۹).

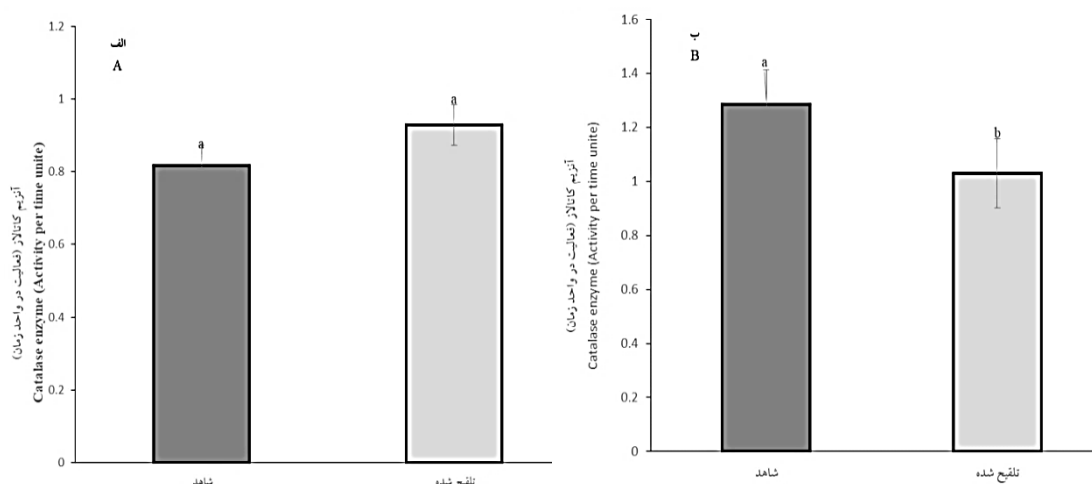
جدول ۲- نتایج آزمون t مستقل برای مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های تلقیح‌شده (تحت تنش آبی) و شاهد بلوط و پالونیا.

Table 2. Independent t-test results for comparing the catalase enzyme activity in inoculated seedlings (under water stress) and control *Quercus* and *Paulownia*.

گونه	آزمون t مستقل	درجه آزادی	حد معنی‌داری
Species	Independent t-test	df	Sig. (2- tailed)
بلوط <i>Quercus</i>	-1.217	18	0.239 ^{ns}
پالونیا <i>Paulownia</i>	3.685	18	0.002*

** معنی‌داری در سطح یک درصد، * معنی‌داری در سطح پنج درصد و علامت^{ns} عدم معنی‌دار بودن است

** Significance at the 1% level, * Significance at the 5% level and ^{ns} sign means non-significance



شکل ۳- میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های تلقیح‌شده (تحت تنش آبی) و شاهد بلوط (الف) و پالونیا (ب).

Fig. 3. The average level of catalase enzyme activity in inoculated seedlings (under water stress) and control *Quercus* (A) and *Paulownia* (B).

در نهال‌های *Carya illinoensis* تلقیح‌شده با *T. sinoaestivum* در مقایسه با نهال‌های غیرتلقیح گزارش دادند (۵۱). هم‌چنین بین و همکاران (۲۰۱۷) افزایش فعالیت پراکسیداز را در نهال‌های *Pinus sylvestris* تلقیح‌شده با قارچ اکتومیکوریز *Suillus luteus* تحت تنش آبی نسبت به شاهد مشاهده کردند (۵۲). به‌طور مشابه رودان و همکاران (۲۰۰۸) افزایش فعالیت پراکسیداز را در نهال‌های *Juniperus oxycedrus* تلقیح‌شده با سه قارچ میکوریز آربوسکولار تحت تنش آبی مشاهده کردند (۵۳). نتایج این مطالعات تأییدکننده نتایج این بخش از مطالعه حاضر می‌باشند.

نتایج آزمون t مستقل برای مقایسه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در نهال‌های تلقیح‌شده و شاهد بلوط بلندمازو و پالونیا فورتونی در جدول ۳ و شکل ۴ ارائه شده است. گزارش‌شده است فعالیت‌های پراکسیداز و سوپراکسیداز در گیاهان در مقاومت به تنش نقش دارند (۵۰). نتایج آزمون t مستقل تفاوت معنی‌داری را در سطح ۹۹ درصد در فعالیت آنزیم پراکسیداز بین نهال‌های بلندمازو و پالونیا تلقیح‌شده در شرایط تنش آبی و شاهد نشان داد؛ اما تلقیح بر فعالیت پراکسیداز در بلندمازو تأثیری نداشت، درحالی‌که قارچ میکوریزی فعالیت پراکسیداز را در پالونیا افزایش داد. هانگ و همکاران (۲۰۲۱) فعالیت آنزیم پراکسیداز بالاتری را

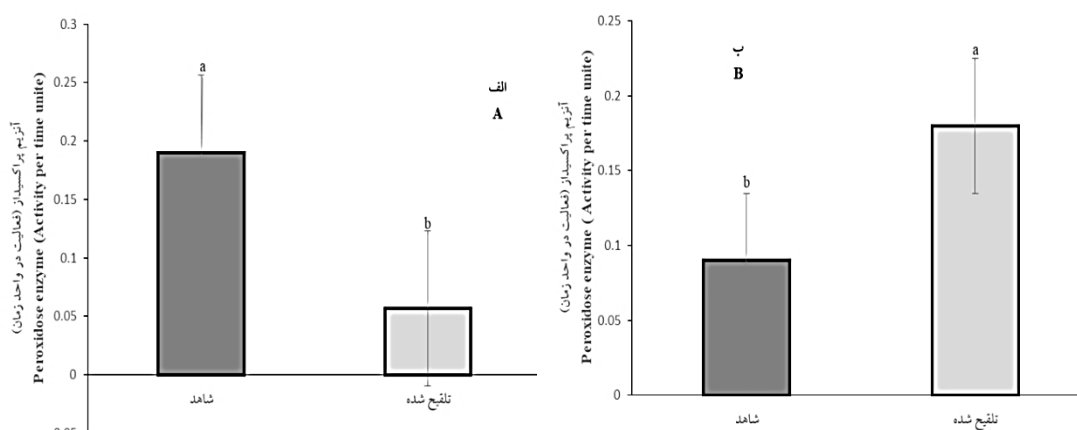
جدول ۳- نتایج آزمون t مستقل برای میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در نهال‌های تلقیح‌شده (تحت تنش آبی) و شاهد بلوط و پالونیا.

Table 3. Independent t-test results for comparing the peroxidase enzyme activity in inoculated seedlings (under water stress) and control *Quercus* and *Paulownia*.

گونه	آزمون t مستقل	درجه آزادی	حد معنی‌داری
Species	Independent t-test	df	Sig. (2- tailed)
بلوط <i>Quercus</i>	5.545	18	< 0.001**
پالونیا <i>Paulownia</i>	-4.28	18	< 0.001**

** معنی‌داری در سطح یک درصد، * معنی‌داری در سطح پنج درصد و علامت ^{ns} عدم معنی‌دار بودن است

** Significance at the 1% level, * Significance at the 5% level and ^{ns} sign means non-significance



شکل ۴- میانگین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در نهال‌های تلقیح شده (تحت تنش آبی) و شاهد بلوط (الف) و پالونیا (ب).

Fig. 4. The average level of peroxidase enzyme activity in inoculated seedlings (under water stress) and control *Quercus* (A) and *Paulownia* (B).

نشده باشد. البته این موضوع با توجه به مطالعات گذشته یک تفسیر از کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است و نیازمند پژوهش‌های بیشتر و شواهد علمی دقیق‌تر است. به‌طور کلی نتایج نشان داد که در شرایط تنش آبی، سطح آنزیم کاتالاز در نهال‌های بلندمازو تلقیح شده افزایش و سطح آنزیم پراکسیداز کاهش یافت. درحالی‌که در نهال‌های پالونیا تلقیح شده، با کاهش کاتالاز، میزان پراکسیداز افزایش یافت. این واقعیت که تلقیح میکوریزی منجر به یک عمل متعادل‌کننده در فعالیت آنزیمی در دو گونه شده است، نشان‌دهنده یک پاسخ پیچیده و سازگار به تنش آبی به دلیل وجود قارچ ترافل سیاه تابستانی است.

تفاوت در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بین نهال‌های بلوط و پالونیا نشان داد که قارچ *T. aestivum* به‌طور متغیر بر پاسخ آن‌ها به تنش آبی تأثیر می‌گذارد. پاسخ‌های متضاد مشاهده شده در بلوط و پالونیا را می‌توان به تفاوت‌های ژنتیکی، سازگاری‌های فیزیولوژیکی و ویژگی‌های ارتباط میکوریزی آن‌ها نسبت داد. بلوط‌ها معمولاً روابط قوی میکوریزی با گونه‌های مختلف ترافل از جمله *T. aestivum* ایجاد می‌کنند، درحالی‌که تعامل بین

گزارش شده است قارچ‌های اکتومیکوریز قادر به تولید آنزیم‌های خارج سلولی به‌منظور استخراج مواد غذایی از مواد آلی خاک هستند (۵۴). از طرفی آهن یکی از عناصر ضروری اما کم‌مصرف است و نقش مهمی در تثبیت نیتروژن و فعالیت برخی آنزیم‌ها دارد (۵۵). کمبود آهن باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان می‌شود. این آنزیم‌ها حاوی آهن هستند و فعالیت آن‌ها تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد. این کمبود توانایی گیاهان را برای مقابله با تنش‌های محیطی کاهش داده و خطر تنش اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (۵۶). کاتالاز نیز از گروه آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز و پروتئین حاوی آهن است که مستقیماً پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند و سمیت این رادیکال بدون اکسیژن را به‌طور کامل از بین ببرد (۵۷).

بنابراین از نتایج چنین استنباط می‌شود که از دلایل کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در نهال‌های تلقیح شده بلندمازو (پراکسیداز) و پالونیا (کاتالاز) در شرایط تنش‌زا، می‌تواند کاهش عنصر آهن باشد زیرا ممکن است تبادل این عنصر بین گیاه و قارچ به‌خوبی انجام

پالونیا و ترافل سیاه تابستانی مورد بررسی قرار نگرفته است. تنظیم افتراقی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این گونه‌ها ممکن است شامل فاکتورهای رونویسی خاص و مسیرهای سیگنال‌دهی باشد که با همزیستی میکوریزی تحت تنش آبی سازگار می‌شوند. مطالعات بیش‌تر در مورد مسیرهای ژنتیکی و بیوشیمیایی حاکم بر پاسخ‌های تنشی گیاهان میکوریزی می‌تواند سازوکارهای سازگاری و انعطاف‌پذیری گیاه را روشن کند. استفاده از روش‌هایی مانند ترانس کریپتومیکس، پروتئومیکس و متابولومیک به شناسایی ژن‌ها، پروتئین‌ها و متابولیت‌های کلیدی کمک می‌کند که به‌طور متفاوتی در گیاهان میکوریزایی که با تنش مواجه هستند بیان می‌شوند. این دانش دارای پتانسیل برای کاربردهای گسترده‌تر در علوم گیاهی، به‌ویژه در افزایش مقاومت تنش و بهره‌وری در میان تغییرات آب و هوایی و چالش‌های محیطی است.

نتیجه‌گیری کلی

این مطالعه اولین گزارش از تأثیر مثبت قارچ *T. aestivum* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در نهال‌های بلوط و پالونیا در شرایط تنش آبی در ایران ارائه می‌دهد. نتایج این مطالعه تأیید می‌کند که تلقیح میکوریزی *T. aestivum* به‌عنوان یک عامل محافظ و سازگار با محیط‌زیست در برابر تنش آبی در نهال‌ها عمل کرده و توانایی تشکیل یک سامانه همزیستی موفق را با دو گونه میزبان نشان داده است. این ویژگی‌ها باعث می‌شود که قارچ میکوریز ترافل سیاه تابستانی به‌عنوان یک فناوری پاک، سبز و سازگار با طبیعت باهدف بهبود انعطاف‌پذیری گیاه در شرایط آب و هوایی در حال تغییر در نهالستان‌ها و در پروژه‌های جنگل‌کاری یا احیای جنگل برای بهبود مدیریت تنش آبی در تولید نهال‌های تلقیح‌شده استفاده شود. بسیاری از مسائل ناشناخته در مورد تعامل بین گیاهان میزبان و قارچ‌های اکتومیکوریز وجود دارد. بااین‌حال، مطالعه حاضر توانسته تا حدی در درک بخشی از این مسائل گام بردارد که می‌تواند راه را برای مطالعات بعدی در این زمینه هموار نماید. مطالعات بیش‌تری، ازجمله بررسی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های کاتالاز و

براساس نظر رمپینو و همکاران (۲۰۰۶)، شناخت و پرورش گونه‌های مقاوم به تنش، به‌ویژه آن‌هایی که در برابر تنش آبی مقاوم هستند، می‌تواند رشد و عملکرد را در شرایط تنش‌زا افزایش دهند (۵۸). این رویکرد می‌تواند به استفاده بهینه از منابع آب و حفظ محیط‌زیست کمک نماید. هم‌چنین استفاده از گونه‌های بومی و تلقیح با قارچ‌های میکوریزی می‌تواند باعث تسریع در احیای زیستگاه‌های خشک و تخریب‌شده و افزایش تنوع زیستی شود (۵۹). از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم وجود چهار گروه بدون میکوریز (تلقیح‌نشده) تحت تنش آبی، با میکوریز (تلقیح‌شده) تحت تنش آبی، بدون میکوریز و بدون تنش آبی و با میکوریز بدون تنش آبی اشاره نمود؛ زیرا چهار گروه درک جامع‌تری از تأثیرات فردی و متقابل تلقیح میکوریزی و تنش آبی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نهال‌های بلوط

سپاسگزاری

نویسندگان این مطالعه از پروفیسور، Giovanni Pacioni و Alessandra Zambonelli (دانشگاه l'aquila و Bologna ایتالیا) به دلیل همکاری در شناسایی گونه قارچ مورد استفاده و همچنین تأیید تشکیل همزیستی بین قارچ و گونه‌های میزبان، صمیمانه قدردانی می‌نمایند.

پراکسیداز و هم‌چنین بررسی نقش سایر آنزیم‌ها و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی در پاسخ میکوریزی به تنش آبی برای روشن‌تر شدن سازوکارهای اساسی و پیامدهای محیط‌زیستی این یافته‌ها در آینده پیشنهاد می‌شود. به‌طور کلی می‌توان بیان نمود که مطالعه حاضر نه تنها به دانش علمی کمک خواهد نمود، بلکه پیامدهای عملی برای بهبود سلامت گیاهان و پایداری در بوم‌سازگان‌ها را نیز در برخواهد داشت.

منابع

1. Allen, C. D., Breshears, D. D., & McDowell, N. G. (2015). On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere*, 6(8), 1-55.
2. Allen, C. D., Breshears, D. D., & McDowell, N. G. (2015). On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere*, 6(8), 1-55.
3. Chandrasekaran, M., & Paramasivan, M. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi and antioxidant enzymes in ameliorating drought stress: a meta-analysis. *Plant and Soil*, 480(1), 295-303.
4. Rennenberg, H., Loreto, F., Polle, A., Brilli, F., Fares, S., Beniwal, R. S., & Gessler, A. J. P. B. (2006). Physiological responses of forest trees to heat and drought. *Plant Biology*, 8, 556-571.
5. Bray, E. A. (2004). Genes commonly regulated by water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of experimental botany*, 55(407), 2331-2341.
6. Ruiz-Lozano, J. M. (2003). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza*, 13, 309-317.
7. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Anee, T. I., Parvin, K., Nahar, K., Mahmud, J. A., & Fujita, M. (2019). Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. *Antioxidants*, 8(9), 384.
8. Mansoor, S., Ali Wani, O., Lone, J. K., Manhas, S., Kour, N., Alam, P., Ahmad A., & Ahmad, P. (2022). Reactive oxygen species in plants: from source to sink. *Antioxidants*, 11(2), 225.
9. Pammi, S. S., Suresh, B., & Giri, A. (2023). Antioxidant potential of medicinal plants. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 26(1), 13-26.
10. Foyer, C. H. (1996). Oxygen processing in photosynthesis. *Biochemical Society Transactions*, 24(2), 427-433.
11. Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A. H., & Ozfidan, C. (2010). The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany*, 69(1), 76-85.
12. Cesur, A., & Tabur, S. (2011). Chromotoxic effects of exogenous hydrogen peroxide (H_2O_2) in barley seeds exposed to salt stress. *Acta physiologiae plantarum*, 33, 705-709.
13. Cook, D., Fowler, S., Fiehn, O., & Thomashow, M. F. (2004). A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low-temperature metabolome of *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(42), 15243-15248.

14. Hsu, Y. T., & Kao, C. H. (2007). Heat shock-mediated H₂O₂ accumulation and protection against Cd toxicity in rice seedlings. *Plant and Soil*, 300, 137-147.
15. Alscher, R. G., Erturk, N., & Heath, L. S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 1331-1341.
16. Pan, Y., Wu, L. J., & Yu, Z. L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation*, 49, 157-165.
17. Cairney, J. W. (2012). Extramatrical mycelia of ectomycorrhizal fungi as moderators of carbon dynamics in forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 47, 198-208.
18. Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press.
19. Tedersoo, L., Bahram, M., & Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 367(6480), eaba1223.
20. Trappe, J. M. (2009). *Diversity, ecology, and conservation of truffle fungi in forests of the Pacific Northwest* (Vol. 772). US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station.
21. Hall, I., Brown, G., & Zambonelli, A. (2007). *Taming the truffle: The history, lore, and science of the ultimate mushroom*. Timber Press.
22. Benucci, G. M. N., Raggi, L., Albertini, E., Grebenc, T., Bencivenga, M., Falcinelli, M., & Di Massimo, G. (2011). Ectomycorrhizal communities in a productive *Tuber aestivum* Vittad. orchard: composition, host influence and species replacement. *FEMS Microbiology Ecology*, 76(1), 170-184.
23. Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Goltapeh, E. M., Rejali, F., & Varma, A. (2012). Effect of Piriformospora indica and Azospirillum strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry*, 45, 139-146.
24. Liu, Y., Lu, J., Cui, L., Tang, Z., Ci, D., Zou, X., Zhang, X., Yu, X., Wang, Y., & Si, T. (2023). The multifaceted roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in peanut responses to salt, drought, and cold stress. *BMC Plant Biology*, 23(1), 36.
25. Aalipour, H., Nikbakht, A., Etemadi, N., Rejali, F., & Soleimani, M. (2020). Biochemical response and interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria during establishment and stimulating growth of Arizona cypress (*Cupressus arizonica* G.) under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 261, 108923.
26. Chen, X., Aili, Y., Ma, X., Wang, H., & Dawuti, M. (2024). Mycorrhizal fungal colonization promotes apparent growth and physiology of *Alhagi sparsifolia* seedlings under salt or drought stress at vulnerable developmental stage. *Plant Growth Regulation*, 102(2), 267-278.
27. Bahmani, M., Naghdi, R., & Kartoolinejad, D. (2018). Milkweed seedlings tolerance against water stress: Comparison of inoculations with *Rhizophagus irregularis* and *Pseudomonas putida*. *Environmental Technology and Innovation*, 10, 111-121.
28. Sabeti, H. (1993). *Forests, trees, and shrubs of Iran*. Yazd University Press.
29. Mohammadnezhad Kiasari, S. (2017). Evaluation of the various methods of cultural operation (thinning) in the low land forestations (Hardwood and softwood) of Mazandaran province based on ecological capability (Case study: The forestations of Neka area). Final report of project, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research Center, Iran. [In Persian]
30. Cao, X., Zhai, X., Xu, E., Zhao, Z., & Fan, G. (2020). Genome-wide identification of candidate genes related to disease resistance and high biomass in tetraploid *Paulownia*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(1), 1-10.

31. Rodríguez-Seoane, P., Díaz-Reinoso, B., & Domínguez, H. (2022). Supercritical CO₂ extraction of antioxidants from *Paulownia elongata* x *fortunei* leaves. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-9.
32. Ayan, S., Sivacıoğlu, A., & Bilir, N. (2006). *Growth variation of Paulownia Sieb. and Zucc. species and origins at the nursery stage in Kastamonu-Turkey*.
33. García-Morote, F. A., López-Serrano, F. R., Martínez-García, E., Andrés-Abellán, M., Dadi, T., Candel, D., Rubio, E., & Lucas-Borja, M. E. (2014). Stem biomass production of *Paulownia elongata* × *P. fortunei* under low irrigation in a semi-arid environment. *Forests*, 5(10), 2505-2520.
34. Liu, R., Dong, Y., Fan, G., Zhao, Z., Deng, M., Cao, X., & Niu, S. (2013). Discovery of genes related to witches broom disease in *Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei* by a de novo assembled transcriptome. *PLoS One*, 8(11), e80238.
35. Popova, T. P., & Baykov, B. D. (2013). Antimicrobial activity of aqueous extracts of leaves and silage from *Paulownia elongata*. *American Journal of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 8-15.
36. Oliferchuk, V. P., & Fedorovych, D. V. (2019). Application of mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum* to stimulate the growth and development of soybean and spring barley. *Faktori Eksperimental'noi Evolucii Organizmiv*, 24, 133-138.
37. Benucci, G. M. N., Bonito, G., Falini, L. B., & Bencivenga, M. (2012). Mycorrhization of Pecan trees (*Carya illinoensis*) with commercial truffle species: *Tuber aestivum* Vittad. and *Tuber borchii* Vittad. *Mycorrhiza*, 22, 383-392.
38. Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, 158-IN118.
39. Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489-500.
40. Eberman, R., & Strich, K. (1982). Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees. *Phytochemistry*, 21, 2401-2402.
41. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
42. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). *Assay of catalases and peroxidases: Methods in enzymology*. Academic Press, 2, 764-775.
43. Korury, S., Teimori, M., Khoshnevis, M., Salahi, P., Matiniazadeh, M., Moraghebi, F., Maghooli, F., & Shirvani, A. (1999). Evaluation of pollution damage from the Persian Gulf War on mangroves and coastal vegetation. *Pajouhesh and Sazandegi*, 43(12), 102-107.
44. Zare-Maivan, H., Lotfi Fard, F., & Tayebi, Z. (2015). Stress response of dominant forest tree species south of the Caspian Sea in relation to soil from coast to upland. *Journal of the Persian Gulf*, 6(22), 1-12.
45. Hansberg, W., Salas-Lizana, R., & Domínguez, L. (2012). Fungal catalases: Function, phylogenetic origin and structure. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 525(2), 170-180.
46. Shah, N., Usvalampi, A., Chaudhary, S., Seppänen-Laakso, T., Marathe, S., Bankar, S., & Shamekh, S. (2020). An investigation on changes in composition and antioxidant potential of mature and immature summer truffle (*Tuber aestivum*). *European Food Research and Technology*, 246, 723-731.
47. <https://en.wikipedia.org/wiki/Truffle>.
48. Ou, T., Zhang, M., Gao, H., Wang, F., Xu, W., Liu, X., Wang, L., Wang, R., & Xie, J. (2023). Study on the potential for stimulating mulberry growth and drought tolerance of plant growth-

- promoting fungi. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 4090.
49. Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H., & Abdel-Wahhab, M. A. (2012). Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Journal of Plant Physiology*, 169(7), 704-709.
50. Zhang, X., Ye, L., Kang, Z., Zou, J., & Li, X. (2019). Mycorrhization of *Quercus acutissima* with Chinese black truffle significantly altered the host physiology and root-associated microbiomes. *PeerJ*, 7, e6421.
51. Huang, Y., Zou, J., Kang, Z., Zhang, X., Penttinen, P., & Li, X. (2021). Effects of truffle inoculation on a nursery culture substrate environment and seedling of *Carya illinoensis*. *Fungal Biology*, 125(7), 576-584.
52. Yin, D., Qi, J., Deng, J., & Deng, X. (2017). Effects of ectomycorrhizal cooperating with exogenous calcium on *Pinus sylvestris* var. *mongolica* growth. *China Environmental Science*, 37(6), 2295-2304.
53. Roldán, A., Díaz-Vivancos, P., Hernández, J. A., Carrasco, L., & Caravaca, F. (2008). Superoxide dismutase and total peroxidase activities in relation to drought recovery performance of mycorrhizal shrub seedlings grown in an amended semiarid soil. *Journal of Plant Physiology*, 165(7), 715-722.
54. Pritsch, K., & Garbaye, J. (2011). Enzyme secretion by ECM fungi and exploitation of mineral nutrients from soil organic matter. *Annals of Forest Science*, 68, 25-32.
55. Ruiz, J. M., Baghour, M., & Romero, L. (2000). Efficiency of the different genotypes of tomato in relation to foliar content of Fe and the response of some bioindicators. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12), 1777-1786.
56. Sun, B., Jing, Y., Chen, K., Song, L., Chen, F., & Zhang, L. (2007). Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 536-543.
57. Saravjeet, G., & Narendra, T. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stress tolerance in crop plants. *Annals Review, Plant Physiology and Biochemistry*, 3, 1-22.
58. Rampino, P., Pataleo, S., Gerardi, C., Mita, G., & Perrotta, C. (2006). Drought stress response in wheat: Physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant, Cell & Environment*, 29(12), 2143-2152.
59. Benhiba, L., Fouad, M. O., Essahibi, A., Ghoulam, C., & Qaddoury, A. (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis enhanced growth and antioxidant metabolism in date palm subjected to long-term drought. *Trees*, 29, 1725-1733.