

بررسی اثر برهمکنش قارچ میکوریزا آربوسکولار و تنظیم کننده رشد گیاهی براسینولید بر

افزایش تحمل گندم به تنش شوری

کبری توفیقی^۱، رمضانعلی خاوری‌نژاد^۲، فرزانه نجفی^{۳*}، خدیجه رضوی^۴، فرهاد رجالی^۵

(۱) دانشجوی دکتری گروه علوم گیاهی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

(۲) استاد گروه علوم گیاهی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

(۳) دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

(۴) استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران.

(۵) دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب، مشکین‌دشت، کرج، ایران.

این مقاله برگرفته از رساله دکتری است.

* نویسنده مسئول: f_najafi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۷/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۵/۲۲

چکیده

با توجه به اهمیت معضل کشاورزی در زمین‌های مجاور حوضه‌های آبریز طبیعی شور و اثر آن بر رشد و تولید گیاهان، این مطالعه به منظور بررسی اثر برهمکنش قارچ میکوریزا آربوسکولار و تنظیم کننده رشد گیاهی براسینولید بر کاهش احتمالی اثر مخرب شوری در گندم رقم پیش‌تاز انجام شد. این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به اجرا درآمد. بدین ترتیب که گیاهان میکوریزه با قارچ گلوبوس موسه آ (پس از اطمینان از میکوریزه شدن ریشه‌ها) و غیر میکوریزه ۱۴ روزه توسط ۲۴-آپی براسینولید با غلظت صفر و پنج میکرومولار سه بار یک روز در میان اسپری برگی شدند. سپس به مدت ۱۰ روز با آب شور با منشأ دریاچه ارومیه و با هدایت الکتریکی صفر و ۱۵ دسی زیمنس بر متر هر سه روز یک بار آبیاری شدند. در نهایت، گیاهان ۲۶ روزه برداشت و به منظور انجام برخی سنجش‌های فیزیولوژیکی به آزمایشگاه منتقل شدند. یافته‌های به دست آمده نشان دهنده بهبود سطح برگ گیاه و کاهش نشت غشاء در تیمارهای جداگانه قارچی و براسینولیدی بود. در حالی که اثر برهمکنش این دو تیمار تنها در سطح برگ در سطح $P < 0.05$ معنی دار بود. همچنین این اثر هم‌افزایی معنی دار برهمکنش دو تیمار با بالاتر رفتن فعالیت آن‌تی اکسیدانی شامل آن‌تی اکسیدان‌های سوپراکسید دیسموتاز و مقدار آنتوسیانین برگی و نیز درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: دریاچه ارومیه، گلوبوس موسه آ و تریتیکوم آئستیوم.

مقدمه

شوری طبیعی، به عنوان یکی از مهم ترین تنش های محیطی در زمین های مجاور حوضه های آبریز شور، موجب کاهش رشد و تولید گیاهان به ویژه محصولات کشاورزی می شود (Hasegawa *et al.*, 2000). تنش شوری موجب کاهش هدایت هیدرولیکی خاک، اختلال در جذب آب و مواد غذایی از ریشه و کاهش پتانسیل آب سلول و در نتیجه تنش اسمزی می گردد. همچنین، سمیت یونی ناشی از غلظت بالای نمک ها با القاء تولید انواع انواع اکسیژن فعال (ROS) و رادیکال های آزاد، موجب ایجاد تنش اکسیداتیو ثانویه و تخریب ساختار غشاء ها و ماکرومولکول ها (مانند پروتئین ها و اسید های نوکلئیک) و آسیب دستگاه فتوسنتزی می گردد (Grattan and Greive, 1999; Nakamichi *et al.*, 2016). تحت شرایط طبیعی رشد تولید انواع اکسیژن فعال مانند سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) در سلول پایین است، اما تحت تنش شوری، هومئوستازی سلولی مختل شده و سلول ها تولید رادیکال های آزاد را شدت می بخشند که به طور فعال در ترارسانی علامت شرکت می کنند و موجب آسیب به اجزای سلولی می شوند (Wang *et al.*, 2003).

گیاهان زراعی به ویژه گندم به منظور کاهش آسیب اکسیداتیو ایجاد شده تحت تنش های غیرزیستی مانند شوری، مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی خود را تقویت می کنند (Caverzan *et al.*, 2016). بدین ترتیب، گیاهان دارای سازوکارهای محافظتی برای اجتناب از آسیب اکسیداتیو ایجاد شده به دلیل تنش می باشند که از مهم ترین آن ها می توان به فعال شدن سیستم آنتی اکسیدانی شامل آنزیم های آنتی اکسیدانی (مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون ردوکتاز (GR)) و آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی (مانند آسکوربیک اسید، گلوکاتایون، آلفا-توکوفرول و کاروتنوئیدها) و تولید اسمولیت های سازگار از جمله پرولین اشاره کرد (Scutenduble and Polle, 2002). به طور کلی، تصور می شود که آسیب القاء شده با شوری به غشاء ها افزایش تراوایی آن ها، رابطه ی معکوس با ظرفیت فعالیت افزایش یافته سیستم آنتی اکسیدانی در گیاهان دارند.

امروزه، توجه به توسعه راهکارهای مختلف به منظور کاهش اثر زیان بار شوری، روش های مربوط به بالابردن تحمل گیاهان رشد یافته در زمین های با غلظت بالای نمک، رشد روز افزونی داشته است. کاربرد انواع قارچ های میکوریزی به ویژه انواع گلوموس به دلیل بهبود سیستم جذب ریشه ای به منظور دسترسی به آب و عناصر غذایی و بهبود ساختار خاک و شدت بخشیدن فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان از جمله روش های بیولوژیک به منظور افزایش تحمل به شوری در گیاهان، مورد توجه بوده است (Zhong Qun *et al.*, 2007). مطالعه های مختلف نشان داده است که گیاهان در نتیجه میکوریزاسیون دارای فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدانی بالاتری هستند، اما پاسخ آنزیم ها با توجه به گیاه میزبان و نوع قارچ می تواند متفاوت

باشد (Evelin et al., 2009). قارچ‌های میکوریزایی به جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن و فسفر از طریق ناقلان مربوط و انتقال آن‌ها به گیاه میزبان کمک می‌کنند (Bücking and Kafle, 2015). تجمع بالای فسفر، منیزیم و کلسیم و جذب پایین‌تر سدیم در حضور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در شرایط تیمار کلرید سدیم و کاهش اثر شوری مشاهده شده است (Hashem et al., 2015). مطالعه‌های انجام شده بر روی گیاه گندم نشان دهنده نقش قارچ‌های میکوریزای در کاهش تنش شوری توسط افزایش جذب عناصر معدنی به‌ویژه در حضور مخلوطی از انواع گونه‌های گلوبوس بوده است (Mardukhi et al., 2015). همچنین، نشان داده شده است که برخی از انواع تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله براسینواستروئیدها، به‌عنوان گروه مهمی از هورمون‌های استروئیدی، می‌توانند به بالاتر رفتن تحمل گیاهان به‌ویژه با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و هومئوستازی یونی کمک شایانی کنند (Krishna, 2003). این ترکیبات، پتانسیلی قوی در تعدیل بسیاری از تنش‌ها با تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه دارند. Alyemeni و همکاران (۲۰۱۳) و نیز Arora و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که اسپری برگی گیاه براسیکا جونکتا^۱ و ذرت^۲ توسط ۲۸- هوموبراسینولید به‌ترتیب می‌تواند موجب کاهش اثر شوری با افزایش کارایی فتوسنتزی و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها گردد. از این رو با توجه به آنچه که گفته شد، و به-ویژه با توجه به همبستگی مشاهده شده بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و پایداری اسموتیکی درون سلولی با تحمل به شوری در برخی گیاهان، هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر برهمکنشی و جداگانه قارچ میکوریزای گلوبوس و ۲۴- اپی براسینولید بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه و بالاتر رفتن احتمالی تحمل گیاه گندم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی و استراتژیک در سرتاسر جهان به تنش بالا رفتن شوری محیط می‌باشد. منشأ شوری به‌کار رفته در این پژوهش، آب دریاچه ارومیه، دومین دریاچه شور جهان و یکی از مهم‌ترین حوضه‌های آبریز شور کشور واقع در شمال غربی ایران، با توجه به اثر شوری ایجاد شده در محصولات زراعی زمین‌های مجاور آن بود (نادر صفت، ۱۳۹۰).

مواد و روش‌ها

این مطالعه در دانشگاه خوارزمی تهران در سال ۱۳۹۳ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و سه گیاه در هر گلدان اجرا شد. بذره‌های گندم رقم پیش‌تاز پس از تهیه از بخش غلات موسسه اصلاح نهال و بذر محمدشهر کرج و ضدعفونی به مدت سه دقیقه توسط هیپوکلریت سدیم پنج درصد در گلدان‌های پلاستیکی با گنجایش دو کیلوگرم حاوی خاک ضدعفونی شده شامل مخلوط خاک و پیت اتوکلاو شده (با نسبت ۲۰ به ۱) و پرلیت با نسبت ۲ به ۱ کاشته شدند. به‌طور کلی، تیمارهای مورد بررسی شامل هشت تیمار به صورت (۱) شاهد، (۲) تیمار شوری، (۳) تیمار براسینولیدی، (۴) تیمار میکوریزی، (۵) تیمار برهمکنش براسینولید و شوری، (۶) تیمار برهمکنش قارچ میکوریزو شوری، (۷) تیمار

^۱Brassica juncea

^۲Zea mays L.

برهمکنش قارچ میکوریز، براسینولید و شوری، و ۸) تیمار برهمکنش قارچ میکوریز و براسینولید تعریف شدند. به طور خلاصه، ابتدا خاک نیمی از گلدان‌ها توسط قارچ میکوریز آربوسکولار پودری شکل حاوی هیف‌ها، وزیکول‌ها و آربوسکول‌های گلوبوس موسه^۳ (تهیه شده از شرکت زیست فناوری توران، شاهرود) به صورت لایه‌ای در دو سانتی‌متری زیر محل کاشت بذر، آغشته شدند. پس از آبیاری منظم گیاهان دو هفته‌ای توسط آب معمولی، سپس، هردو گروه گیاهان میکوریزه و غیرمیکوریزه توسط غلظت‌های صفر و ۵۰ میکرومولار ۲۴-اپی‌براسینولید (سیگما) اسپری برگی شدند. تیمار استروئیدی سه مرتبه و یک‌روز درمیان به صورت مه‌پاشی از بالا تا پایین گیاه اعمال شد و از محلول توئین ۲۰ (۰/۰۱ درصد) به عنوان سورفاکتانت به منظور افزایش سطح جذب استفاده شد (Shahbaz and Ashraf, 2007). سپس، هر گروه توسط محلول آب شور با منشأ آب دریاچه ارومیه با هدایت الکتریکی^۴ (EC) صفر و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر به مدت ۱۰ روز هر سه روز یک‌بار آبیاری شدند. به منظور رفع مشکل تجمع شوری، گلدان‌ها با تیمار شاهد بین زمان‌های تیماردهی آبخویی شدند و آب اضافی از ته گلدان خارج می‌شد. بدین ترتیب میزان شوری محیط در حدود آب آبیاری نگهداری شد. پس از ده روز اعمال تیمار شوری تعدادی از گیاهان در مرحله رویشی به منظور بررسی برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد برداشت شدند.

سنجش سطح برگ و میزان نشت غشا

به منظور تعیین سطح برگ، برگ‌های هر گیاه بلافاصله پس از برداشت بر روی کاغذ میلی‌متری قرار گرفته و مربع‌های میلی‌متری شمارش شدند (Lutts *et al.*, 1996). پس از تعیین وزن برگ و وزن کاغذ و با استفاده از یک تناسب ساده، سطح برگ‌ها بر حسب میلی‌متر مربع محاسبه شد. همچنین، محاسبه نشت غشاء (MSI) به منظور سنجش پایداری نسبی غشاء مورد استفاده قرار می‌گیرد. بدین ترتیب، که برگ‌های کاملاً توسعه یافته از هر تیمار جمع‌آوری و بلافاصله به قطعات به قطر یک سانتی‌متر مربع بریده شد. سپس، نمونه‌ها شسته شده و در لوله‌های آزمایش در بسته حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مدت چهار ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی محلول (EC₁)، با استفاده از یک هدایت سنج (مدل AZ-8361)، اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد، همان قطعات برگ در حمام آب گرم در آب جوش به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. پس از سرد شدن لوله‌ها در دمای اتاق، مجدداً EC محلول‌ها اندازه‌گیری شد (EC₂). میزان نشت غشاء، با استفاده از رابطه ۱ تعیین و به صورت درصد بیان گردید (Dionisio-Sese and Tabia, 1998).

³*Glomus mosseae*

⁴Electrical conductivity

$$MSI = EC_1/EC_2 \times 100$$

رابطه ۱:

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگی

به منظور بررسی اثر تیمارهای اعمال شده بر فعالیت آنتی اکسیدان آنزیمی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگیمورد سنجش قرار گرفت. به طور خلاصه، برای استخراج آنزیم ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تر توسط دو میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با $pH = 6/8$ کاملاً ساییده شد. سپس، محلول همگن شده به دست در ۱۵۰۰ گرم، به مدت ۱۲ دقیقه و در دمای چهار درجه سانتیفریز شدند. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب که سه میلی لیتر از مخلوط واکنش شامل اجزاء زیر بود: نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین چهار میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی مولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی. واکنش در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انجام شد و توسط دو لامپ فلورسنت ۲۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه نوردهی گردید. طول موج جذب مخلوط واکنش پس از نوردهی در طول موج ۵۶۰ نانومتر تعیین شد. محلول های مشابه در تاریکی به عنوان بلانک نگهداری شدند. یک واحد سوپراکسید دیسموتاز (U) به صورت مقدار آنزیمی که موجب کاهش ۵۰ درصد احیا نیتروبلوتترازولیوم قابل مهار با سوپر اکسید دیسموتاز می گردد، تعریف می شود. فعالیت اختصاصی آنزیم به صورت واحد در میلی گرم پروتئین ($U \text{ mg}^{-1}$ protein) بیان می گردد (Giannopolitis and Ries, 1997).

اندازه گیری محتوای آنتوسیانین برگی

به منظور سنجش مقدار آنتوسیانین ها به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی از روش دیاز استفاده شد (Diaz et al., 2006). ۱ گرم از بافت تر برگ، با دقت توزین و در هاونی که حاوی ۵ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵ درصد و HCl ۱ درصد به نسبت ۹۹ به ۱) بود، به خوبی ساییده شد. عصاره به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای چهار درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰ گرم سانتیفریز گردید. سپس و شدت جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فتومتر، خوانده شد. به منظور تعیین غلظت آنتوسیانین بافت مورد نظر، از نمودار استاندارد آنتوسیانین استفاده شد.

اندازه گیری محتوای گلیسین بتائین برگی

به منظور سنجش مقدار اسمولیت سازگار گلیسین بتائین و تغییرات آن طی تیمارهای به کار رفته، ۰/۲۵ گرم پودر خشک گیاهی با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و برای مدت ۲۴ ساعت تکان داده شد. ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره صاف شده

با ۲۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال درون لوله آزمایش مخلوط شده و به مدت یک ساعت در حمام یخ قرار داده شد. در مرحله بعد، ۲۰۰ میکرولیتر معرف یدید پتاسیم سرد (KI-I₂) (به دست آمده از حل شدن ۱۵/۷ گرم I₂ و ۲۰ گرم KI در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر)، به لوله اضافه و با ورتکس هم زده شد. لوله ها به مدت ۱۶ ساعت در یخچال در دمای چهار درجه سانتی گراد نگهداری و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس به رسوب انتهای لوله شش میلی لیتر دی کلرواتان به منظور حل کردن کمپلکس پری یدید (1,2-dichloroethane) در محیط سرد اضافه گردید. پس از تشکیل دو لایه، از لایه رنگی پائینی استفاده شد و جذب نمونه ها در طول موج ۳۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد و مقدار نمونه ها بر حسب $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ تعیین گردید (Grieve and Grattan, 1983).

سنجش ظرفیت مهار رادیکال های آزاد DPPH برگی

ظرفیت مهار رادیکال های آزاد DPPH، به منظور بررسی اثر تیمارهای به کار رفته بر سیستم آنتی اکسیدانی، بدین ترتیب انجام شد که ۰/۲ میلی لیتر نمونه عصاره متانولی به ۱ میلی لیتر محلول DPPH (۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدراسیل) ۰/۲۵ مولار اضافه شد. پس از نگهداری نمونه ها به مدت ۳ دقیقه در تاریکی، جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. ظرفیت مهار رادیکال های آزاد DPPH در نهایت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد: (okoh *et al.*, 2011)

$$\text{رابطه ۲: } \text{ظرفیت مهار رادیکال های آزاد (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

که در آن، A₀ جذب بلانک و A₁ جذب نمونه می باشد.

تجزیه و تحلیل و محاسبه های آماری

تجزیه واریانس سه عاملی داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و رسم شکل ها توسط نرم افزار Excel 2007 انجام شد. میانگین تیمارها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده نشان دهنده کاهش معنی دار (۳۸/۰۲ درصد) سطح برگ ($P < 0.05$) و افزایش معنی دار نشت غشا (۴۲ درصد) با تیمار تنش شوری در مقایسه با تیمار شاهد بود (شکل ۱ و ۲ و جدول ۱). همچنین ویژگی های بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۳/۹۲ برابر)، مقدار آنتوسیانین برگی (۳ برابر)، مقدار گلیسین بتائین برگی (۲/۳)

برابر) و ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۱۹/۴ برابر) در گیاهان آبیاری شده با 15 dS m^{-1} آب شور طبیعی، افزایش معنی‌دار نشان دادند (جدول های ۱ و ۲).

جدول ۱: تجزیه واریانس سه عاملی (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه گندم در تیمارهای جداگانه و برهمکنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، براسینولید (۵ میکرومولار) و تلقیح قارچ میکوریز

منابع تغییرات	درجه آزادی	میزان نشت غشا	سطح برگ	میانگین مربعات			ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH
				میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز	محتوای گلیسین بتائین برگی	محتوای آنتوسیانین برگی	
شوری	۱	۶۶۴/۶۶۶ ^{**}	۲۸۶۹/۲۲۱ ^{**}	۲۹۳۲/۲۴۸ ^{**}	۲۱/۸۷۹ ^{**}	۸ ^{**}	۲۳۳۴/۱۵۳ ^{**}
براسینولید	۱	۳۲۶/۶۵ ^{**}	۲۲۷/۸۵۸ ^{**}	۸۲/۱۷۶ ^{**}	۰/۴۸۵ ^{**}	۰/۱۳ ^{**}	۲۰۱/۵۵۳ ^{**}
قارچ میکوریز	۱	۲۹/۴۹۱ ^{**}	۸۴/۰۷۸ ^{**}	۱۰۳۹/۴۹۸ ^{**}	۱۰/۹۲۸ ^{**}	۱/۰۵۱ ^{**}	۴۵۹/۸۰۳ ^{**}
شوری × براسینولید	۱	۱/۲۱۷ ^{ns}	۲۲/۳۹۵ ^{**}	۱۱/۶۱۶ ^{ns}	۰/۸ ^{**}	۰/۰۶۱ ^{**}	۳۴/۶۵۳ [*]
شوری × قارچ میکوریز	۱	۱/۴۷۹ ^{ns}	۱۷/۹۵۵ ^{**}	۹۲/۴۲۶ ^{**}	۵/۱۰۴ ^{**}	۰/۵۹۴ ^{**}	۵۳/۳۰۳ ^{**}
شوری × براسینولید × قارچ میکوریز	۱	۲/۷۳۸ ^{ns}	۱۰/۵۲۳ ^{**}	۰/۰۲۸ ^{ns}	۰/۰۹۹ ^{**}	۰/۰۲۹ ^{**}	۲/۷۰۳ ^{**}
براسینولید × قارچ میکوریز	۱	۱۲/۲۰۳ ^{ns}	۲۱/۲۰۶ ^{**}	۷/۰۸۴ ^{ns}	۰/۱۳۸ ^{**}	۰/۰۲ ^{**}	۱۶/۱۰۳ ^{ns}
خطا	۲	۱/۶۵۶	۰/۴۴۹	۳/۲۲۴	۰/۰۱۷	۰/۰۰۲	۵/۸۶۱

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد، ns: عدم معنی‌دار.

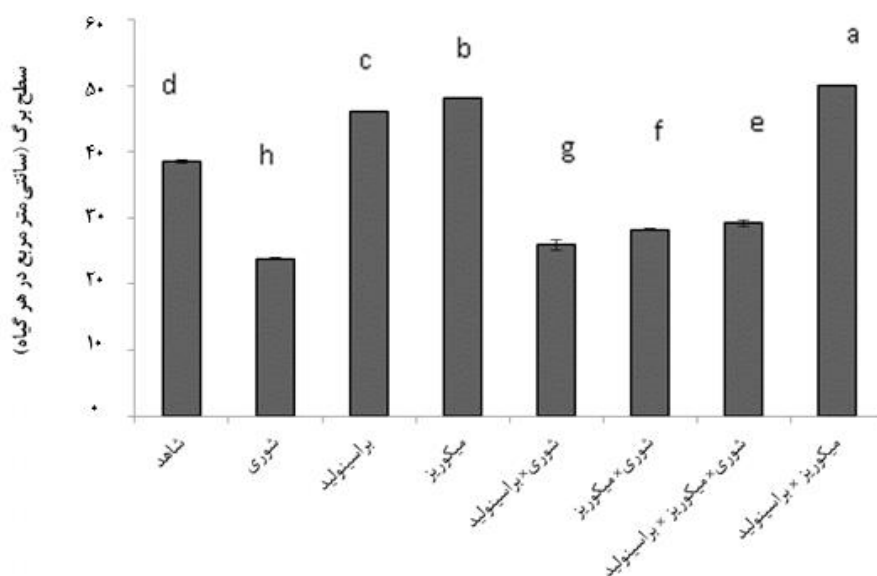
با اسپری برگی براسینولیدی سطح برگ ۸/۶ درصد افزایش و میزان نشت غشا ۲۶ درصد کاهش معنی‌دار نسبت به شرایط شوری نشان دادند. همچنین در شرایط کاربرد براسینولید، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگی (۱/۲۷ برابر)، مقدار آنتوسیانین برگی (۱/۱ برابر)، مقدار گلیسین بتائین (۱/۲۸ برابر) و ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۱۰ درصد) نسبت به شرایط تنش شوری افزایش معنی‌دار در سطح ($P < 0.05$) نشان دادند. در گیاهان میکوریزه تیمار شده با آب شور، سطح برگ ۱۸/۱۲ درصد نسبت به شرایط شور افزایش معنی‌دار نشان داد. در حالی که میزان نشت غشاء به میزان ۱۰ درصد کاهش پیدا کرد. به‌طور مشابهی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱/۸ برابر)، مقدار آنتوسیانین برگی (۱/۵ برابر)، مقدار گلیسین بتائین برگی (۲/۵ برابر) و ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۱۳/۷۵ درصد) در گیاهان تلقیح شده با گلو موس موسه‌آ و آبیاری شده با 15 dS m^{-1} آب شور طبیعی، نسبت به شرایط شور، افزایش معنی‌دار نشان دادند. در تیمارهای برهمکنش قارچ گلو موس موسه‌آ و براسینولید تحت تیمار شوری، سطح برگ نسبت به تیمارهای جداگانه شوری (۲۹/۲۳ درصد)، میکوریزی (۳/۸۶ درصد) و براسینولیدی (۱۲/۹۷ درصد) افزایش معنی‌دار نشان داد، درحالی که کاهش میزان نشت غشاء با وجود کاهش معنی‌دار نسبت به شرایط شوری (۲۵ درصد)، در مقایسه با دو تیمار جداگانه میکوریزی و براسینولیدی معنی‌دار نبود. به‌علاوه، تمام تیمارهای بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱/۹۸ برابر)، مقدار آنتوسیانین (۱/۸ برابر)، مقدار گلیسین بتائین (۳/۲ برابر) و ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۲۱/۶۸ درصد) در مقایسه با تیمار شوری و نیز تیمارهای جداگانه اثر هم افزایشی معنی‌دار مشاهده شد.

جدول ۲: مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، محتوای گلیسین بتائین برگی، محتوای آنتوسیانین برگی و درصد ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH گیاه گندم در کاربرد جداگانه و برهمکنش تیمارهای مورد مطالعه

تیمارها	میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (واحد در میلی گرم پروتئین)	محتوای گلیسین بتائین برگی (میلی گرم در وزن خشک)	محتوای آنتوسیانین برگی (میلی گرم در گرم وزن تر)	ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH (درصد)
شاهد	5 ± 0.48g	0.5 ± 0.43 f	0.35 ± 0.16g	67 ± 1.73e
شوری	19/6 ± 0.93 d	1/15 ± 0.26d	1/0.5 ± 0.25 d	80 ± 0.57c
براسینولید	8 ± 0.408 f	0/41 ± 0.33 f	0/4 ± 0.14 fg	72 ± 1.77d
قارچ میکوریز	14 ± 1.29 e	0/85 ± 0.4e	0/45 ± 0.1 ef	74 ± 0.91 d
براسینولید × شوری	24/89 ± 1.31 c	1/47 ± 0.31 c	1/155 ± 0.11c	88 ± 1/0.8 b
قارچ میکوریز × شوری	32/28 ± 0.49 b	2/875 ± 0.106 b	1/575 ± 0.39b	91 ± 1/35 b
شوری × براسینولید × قارچ میکوریز	38/80.8 ± 0.34 a	3/68 ± 0.12 a	1/9 ± 0.4 a	97/325 ± 0.22 a
قارچ میکوریز × براسینولید	15 ± 1.22 e	0/8 ± 0.32e	0/48 ± 0.14e	75 ± 1/15d

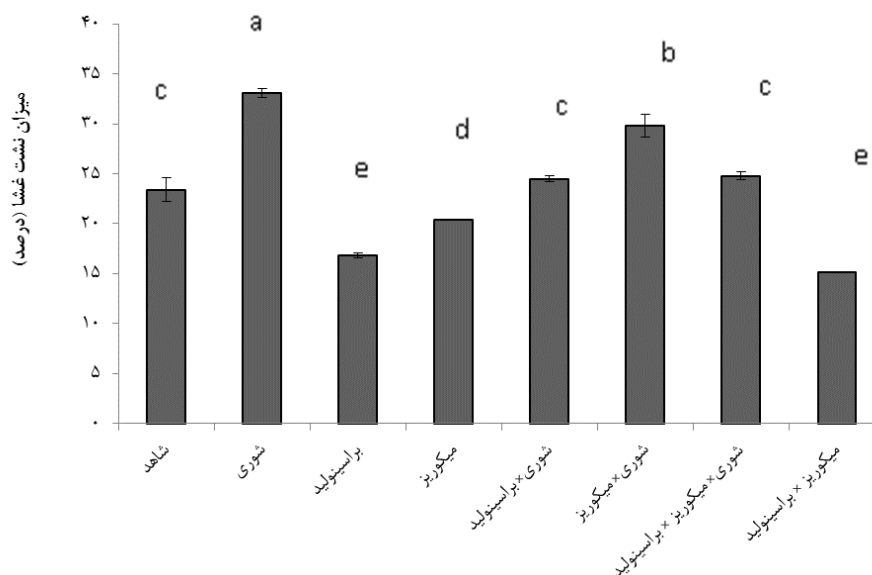
حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد در چهار تکرار می باشد.

تنش شوری موجب کاهش سطح برگ گیاه و افزایش نشت غشاء برگ شد. غلظت بالای نمک در محیط ریزوسفر، با القاء تنش اسمزی موجب کاهش پتانسیل آب سلول، کاهش طولی شدن و تقسیم سلولی و نیز عدم تعادل یونی سلول و در نتیجه کاهش رشد گیاه می گردد (Grattan and Grieve, 1999). همچنین تنش شوری با ایجاد اثر بازدارندگی بر جذب عناصر غذایی به ویژه نیتروژن و فسفر، موجب کاهش آسمیلایسیون نیتروژن، سنتز اسیدهای آمینه و پروتئین و کاهش متعاقب رشد گردد. به علاوه، تنش شوری با القاء تنش ثانویه اکسیداتیو و افزایش انواع اکسیژن فعال (ROS) موجب تخریب بیشتر ماکرومولکول ها و آسیب به غشاءهای سلولی و دستگاه فتوسنتزی می شود (Hasegawa *et al.*, 2000). ضمن اینکه افزایش غلظت یون های موجود در آب های شور طبیعی مانند سدیم، کلر و منیزیم موجب کاهش یون هایی مانند پتاسیم و کلسیم و ایجاد کمبود این عناصر می گردد (Ding *et al.*, 2006). افزایش سطح برگی و کاهش نشت غشاء در تیمار براسینولیدی تحت تنش شوری را می توان به افزایش طولی شدن و تقسیم سلولی، حفظ پایداری غشاءها، بالا رفتن کارایی فتوسنتزی و در نتیجه بهبود رشد نسبت داد (Krishna, 2003). نتایج مشابه نشان دهنده اثر بهبوددهنده براسینواستروئیدها بر رشد گیاه و کاهش نشت غشاء با افزایش فتوسنتز، پایداری غشاءها و حفظ آب سلول در شرایط تنش شوری می باشد (Zhang *et al.*, 2007; Alyemeni *et al.*, 2013). به علاوه، افزایش سطح برگی در شرایط کاربرد قارچ میکوریز آربوسکولار تحت تنش شوری می تواند به دلیل بهبود دسترسی به آب و جذب انتخابی عناصر معدنی به ویژه نیتروژن و فسفر و نیز افزایش فعالیت آنزیم احیا کننده نیترات یعنی نیترات ردوکتاز و سنتز پروتئینی باشد (Hirrel and Gerdemann, 1980; Giri *et al.*, 2003). مطالعات متعدد تأکید کننده نقش مثبت این همزیستی در بهبود رشد و نیز کاهش نشت غشاء و حفظ پایداری غشاءهای سلولی بوده است (Evelin *et al.*, 2009).



شکل ۱: کاربرد جداگانه و برهمکنش براسینولید و قارچ میکوریز تحت تنش شوری آب شور دریاچه ارومیه بر سطح برگی در گندم

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن در چهار تکرار می باشد.



شکل ۲: کاربرد جداگانه و برهمکنش براسینولید و قارچ میکوریز تحت تنش شوری آب شور دریاچه ارومیه بر درصد نشت غشا برگی در گندم

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن در چهار تکرار می باشد.

هم‌راستا با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، Ronco و Beltrano (۲۰۰۸) با بررسی اثر قارچ آربوسکولار گلوموس کلارودیوم^۵ در بهبود تحمل گیاه گندم به تنش کم‌آبی دریافتند که همزیستی میکوریزی به تراوایی و بهبود انسجام غشاء-های سلولی کمک می‌کند. Naghashzadeh (۲۰۱۴) نیز اثر بهبود دهنده گلوموس اینترارادیکس^۶ بر پایداری غشاء سلولی و حفظ محتوای آب نسبی در گیاه ذرت تحت تنش خشکی را نشان داد. Kaya و همکاران (۲۰۰۹) کاهش ۲۶/۸۷ و ۳۰/۹۸ برابری کاهش نشت غشاء در برگ‌های میکوریزه شده گیاه کاسپیوم^۷ آنوم تیمار شده با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم را آشکار کردند. این پایداری می‌تواند به دلیل افزایش محتوای آب سلول، جذب فسفر و یا فعالیت افزایش یافته آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی باشد که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق همخوانی داشت (Feng et al., 2002) به‌طور مشابهی، Kanwal و همکاران (۲۰۱۵) افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان گندم میکوریزه تحت تنش‌های محیطی را گزارش کردند. مطالعه‌های Torabi و Faramarzi Sepehr (۲۰۱۵) نیز نشان‌دهنده افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در گیاهان جو^۸ میکوریزه شده با گلوموس فاسیکولاتوم^۹ نسبت به گیاهان غیر میکوریزه تحت تیمار شوری بود. فعالیت بالاتر آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گیاهان میکوریزه زیزی‌فوس^{۱۰} مشاهده شد (Mathur and Vayas, 1996). Alguacil و همکاران (۲۰۰۳) نیز فعالیت شدت یافته کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در گیاهان اولئا یوروپئا^{۱۱} نشان دادند. به‌علاوه، کاهش نشت غشاء مشاهده شده در شرایط کاربرد ۲۴-اپی براسینولید و تحت تنش شوری را نیز می‌توان به کاهش ROSهای تولید شده طی تنش و افزایش فعالیت سیستم آنتی-اکسیدانی مشاهده شده، شامل فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، مقدار آنتوسیانین و ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH نسبت داد (Xu et al., 2004). براسینواستروئیدها دارای پتانسیلی قوی در تعدیل تنش با تنظیم سیستم در سطح بیوشیمیایی می‌باشند (Cao et al., 2005). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها توسط براسینواستروئیدها، یک پدیده تنظیم شده ژنی می‌باشد و القاء بیان برخی ژن‌ها مانند ATP2 و ATP24a که کدکننده پراکسیدازی در گیاه آرابیدوپسیس^{۱۲} هستند به‌عنوان شناخته شده‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شرکت کننده در پاسخ‌های دفاعی گیاهان در نظر گرفته می‌-

⁵*Glomus claroideum*⁶*Glomus intraradices*⁷*Caspium annum*⁸*Hordeum vulgar*⁹*Glomus fasciculatum*¹⁰*Ziziphus*¹¹*Olea europea*¹²*Arabidopsis*

شوند (Goda *et al.*, 2002). بدین ترتیب براسینواستروئیدها با کاهش اثر منفی رادیکال‌های آزاد موجب بهبود ساختارهای سلولی می‌گردند. علاوه بر این، براسینواستروئیدها می‌توانند از برخی ROS ها مانند H_2O_2 به‌عنوان واسطه‌ای برای القا نسخه برداری از ژن‌های آنتی‌اکسیدانی نیز استفاده کنند (Kang and Guo, 2011). به‌همین ترتیب افزایش مقدار آنتوسیانین‌ها در گیاهان تحت تنش شوری و براسینولیدی و میکوریزی را می‌توان به افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی به منظور کاهش رادیکال‌های آزاد و نیز القاء بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی فلاوونوئیدی نسبت داد. به‌علاوه، ایجاد تحمل بالاتر در گیاه می‌تواند با تداخل هورمون‌های داخلی از جمله اکسین‌ها نیز مرتبط باشد (Peng *et al.*, 2011). به‌طور مشابهی مطالعه‌های مختلف نشان دهنده تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌هنگام همزیستی میکوریزی و کاهش اثر شوری بر گیاه بوده‌اند (Alguacil *et al.*, 2003; Zhong Qun *et al.*, 2007). ضمن اینکه این افزایش می‌تواند با افزایش جذب عناصر کم مصرف و افزایش فعالیت متالوآنزیم‌هایی مانند آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز مرتبط باشد.

از سوی دیگر، طبق نتایج به‌دست آمده افزایش مقدار گلیسین بتائین برگ‌ها در شرایط اسپری برگ‌ها و هم‌کولونیزاسیون میکوریزی در شرایط شوری محیط می‌تواند به‌دلیل افزایش سنتز این اسمولیت و یا کاهش آنزیم‌های تجزیه‌کننده آن باشد. به‌طور کلی، تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین و گلیسین بتائین به‌عنوان شاخصی مهم از تنش شوری و اسمزی در نظر گرفته می‌شوند که می‌توانند موجب پایداری غشاءها، ساختار و فعالیت آنزیم‌ها و کمپلکس‌های پروتئینی در مقابل رادیکال‌های آزاد شده در شرایط شوری محیط و درنهایت حفظ انسجام غشاء شوند (Gorham, 1995). به‌ویژه، اسمولیت گلیسین بتائین (از ترکیبات کوآترنری آمونیوم) با حفظ شیب پتانسیل آب و حفاظت آنزیم‌ها و به‌ویژه غشاءهای تیلاکوئیدی موجب بهبود تحمل گیاه به اثر مخرب شوری می‌گردد (Duke *et al.*, 1986; Ashraf and Harris, 2004). همچنین، نتایج Sairam (۱۹۹۴) نشان دهنده اثر مثبت هومو براسینولیدها در افزایش پایداری غشاءها در گیاهان گندم تحت تنش اسمزی بود. همچنین، از سنتز متابولیت‌ها و القاء آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان مختلف، آشکار می‌شود که براسینواستروئیدها مسیرهای چندگانه‌ای از حفاظت در مقابل آسیب اکسیداتیو را القاء می‌نمایند. بنابراین، افزایش در تیمار برهمکنش گلوموس موسه‌آ و ۲۴- اپی براسینولید نسبت به کاربرد جداگانه این دو تیمار در شرایط آبیاری با آب شور می‌تواند به‌دلیل اثر بهبوددهنده جداگانه هر تیمار در گیاه و یا اثر هم‌افزایی آن‌ها با دخالت احتمالی بین هورمون‌ها مانند جاسمونیک اسید باشد که طبق گزارش Nair و همکاران (۲۰۱۵) غلظت بالاتر آن در گیاهان میکوریزه گزارش شده است.

نتیجه گیری

به طور کلی، طبق یافته های به دست آمده از اثر قارچ گلو موس موسه آو تنظیم کننده رشد ۲۴- اپی براسینولید به طور جداگانه و نیز به طور برهمکنش نقشی مؤثر در کاهش اثر شوری طبیعی با افزایش سطح برگ، افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی شامل میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنتوسیانین برگ و ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH داشتند. هرچند، میزان پایداری غشاء در تیمارهای جداگانه بهبود پیدا کرد، ولی افزایش مشاهده شده در تیمار برهمکنش معنی دار نبود. این پاسخ می تواند با توجه به غلظت براسینولید به کار رفته، نحوه به کارگیری آن و یا گونه قارچ به کار رفته متفاوت باشد. اثر افزایشی معنی دار در برهمکنش قارچ و براسینولید نسبت به کاربرد جداگانه دوتیمار براسینولیدی و قارچی در شرایط تنش شوری می تواند به دلیل اثر جداگانه هر کدام یا اثر برهمکنش آن ها با القا برخی هورمون های درونی و در نتیجه همچنین افزایش تحمل گیاه همراه باشد. انجام مطالعات بیشتر در این زمینه و بررسی پاسخ های در سطح مولکولی گیاهان زراعی و افزایش تحمل به شوری آن ها به منظور استفاده بهینه از خاک های شور طبیعی و مدیریت و اصلاح این زمین ها مورد نیاز می باشد.

منابع

نادرصف، م. ح. ۱۳۹۰. ویژگی های ژنومورفولوژی دریاچه ارومیه و تأثیر آن در اکوسیستم این منطقه. مجله دانشنامه جغرافیا. ۸۲: ۳۲-۳۳.

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

Alyemeni, M.N., Shamsul Hayat, S., Wijaya, L. and Abdullah Anaji, A. 2013. Foliar application of 28-homobrassinolide mitigates salinity stress by increasing the efficiency of photosynthesis in *Brassica juncea*. *Acta Botanica Brasilica*, 27: 502-505.

Arora, N., Bhradwaj, R., Sharma, P. and Kumar, H. 2008. Effects of 28-homobrassinolide on growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in seedlings of *Zea mays* L. under salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30: 833-839.

Ashraf, M., and Harris. P. J. C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166: 3-6.

Beltrano, J. and Ronco, M. G. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claridodeum* effects on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20: 29-37.

Bücking, H. and Kafle, A. 2015. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Nitrogen Uptake of Plants: Current Knowledge and Research Gaps. *Agronomy*, 5: 587-612.

Cao, S., Xu, Q., Cao, Y., Qian, K., An, K., Zhu, Y., Binzeng, H., Zhao, H. and Kuai, B. 2005. Loss of function mutation in Det2 gene lead to an enhanced resistance to oxidative stress in *Arabidopsis*. *Physiologia Plantarum*, 123: 57-66.

Caverzan, A., Casassola, A. and Brammer, S.P. 2016. Antioxidant responses of wheat plants under stress. *Genetics and Molecular Biology*. 39:1-6.

Diaz, C., Purdy, S., Christ, A., Morot-Gaudry, J.F., Wingler, A. and Masclaux-Daubresse, C. 2006. Characterization of markers to determine the extent and variability of leaf senescence in *Arabidopsis*. A metabolic profiling approach. *Plant Physiology*, 138: 898-908.

Ding, Y., Luo, W. and Xu, G. 2006. Characterisation of magnesium nutrition and interaction of magnesium and potassium in rice. *Annals of Applied Biology*, 149: 111-123.

Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*. 135: 1-9.

Duke, E.R., Johnson, C.R. and Koch, K.E. 1986. Accumulation of phosphorus, dry matter and betaine during NaCl stress of split-root citrus seedlings colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on zero, one or two halves. *New Phytologist*, 104: 583-590.

Evelin, H., Kapoor, R. and Giri, B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. *Annals of Botany*. 104: 1263-1280.

Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.I., Tian, C.Y., Tang, C. and Rengel, Z. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhizal is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*, 12: 185-190.

Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. 1977. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 309-314.

Giri, B., Kapoor, R. and Mukerji, K. G. 2003. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. *Biology and Fertility of Soils*, 38: 170-175

Goda, H., Shimada, Y., Asami T., Fujioka, S. and Yoshida, S. 2002. Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 130: 1319-1334.

Gorham, J. 1995. Betaines in higher plants-biosynthesis and role in stress metabolism. In: R.M.Wallgrove (Ed.) *Amino acids and their derivatives in higher plants*. Cambridge University Press. pp 171-203.

Grattan, S. R. and Grieve, C.M. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 78: 127-157.

- Grieve, C. M. and Grattan, S. R. 1983.** Rapid assay for the determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil*, 70:303–307.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A. Zhu, J. K. and Bohnert, H. J. 2000.** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 463-499.
- Hashem, A., Abd Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Alwhibi Mona S., Alenazi, M. M., Egamberdieva, D. and Ahmad, P. 2015.** Arbuscular mycorrhizal fungi mitigates NaCl induced adverse effects on *Solanum lycopersicum* L. *Pakistan Journal of Botany*, 47:327–340.
- Hirrel, M. C. and Gerdemann, J. W. 1980.** Improved growth of onion and bell pepper in saline soils by two vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science Society American Journal*, 44: 654-655.
- Kang, Y.Y. and Guo, S. R. 2011:** Role of brassinosteroids on horticultural crops. In: Hayat S., Ahmad, A. (eds). *Brassinosteroids: a class of phytohormone*. Springer, Dordrech, pp 269-287.
- Kanwal, S., Bano, A. and Malik, R. N . 2015.** Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on wheat growth, physiology, nutrition and cadmium uptake under increasing cadmium stress. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*. 7: 30-42
- Kaya, C., Ashraf, M., Sonmez, O., Aydemir, S., Tuna, A.L. 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*, 121:1-6.
- Krishna, P. 2003.** Brassinosteroid- mediated stress responses. *Plant Growth Regulation*, 22: 353-364.
- Lutts, S., Kinet, J. M., and Bouharmont, J. 1996.** NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*. 78: 389-398.
- Mardukhi, B., Rejali, F., Daei, G., Ardakani, M.R., Malakouti, M. J. and Miransari, M. 2011.** Arbuscular mycorrhizas enhance nutrient uptake in different wheat genotypes at high salinity levels under field and greenhouse conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 334:564–571.
- Mathur, N. and Vyas, A. 1996.** Biochemical changes in *Zizipus xyloperus* by VA mycorrhizae. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 37: 209-212.
- Naghashzadeh, M. 2014.** Response of Relative Water Content and Cell Membrane Stability to Mycorrhizal Biofertilizer in Maize. *Electronic Journal of Biology*, 10: 68-72
- Okoh, S.O., Asekun, O.T., Familoni, O.B. and Afolayan, A. J. 2011.** Composition and antioxidant activities of leaf and root volatile oils of *Morinda lucida*. *Natural Product Communications*, 6: 1537-1541.

Nair, A., Kolet, S.P., Thulairam, H.V. and Bhargava, S. 2015. Systematic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternata*. *Plant Biology*, 17: 625-631.

Nakamichi, N., Takao, S., Kudo, T., Kiba, T., Wang, Y., Kinoshita, T. and Sakakibara, H. 2016. Improvement of *Arabidopsis* biomass and cold, drought and salinity stress tolerance by modified circadian clock-associated PSEUDO-RESPONSE REGULATORS. *Plant and Cell Physiology*, 57: 1085-97.

Peng, Z., Han, C., Yuan, L., Zhang, K., Huang, H. and Ren, C. 2011. Brassinosteroid enhances jasmonate-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53: 632-640.

Sairam, S. K. 1994. Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regulation*, 14: 173-181.

Schutzendube, A. and Polle, A. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53: 1352-136.

Shahbaz, M. Ashraf, M. 2007. Influence of exogenous application of Brassinosteroid on growth and mineral nutrients of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany* 39, 513-522.

Torabi, A. and Farzami Sepehr, M. 2015. The effect of salt pretreated *Glomus fasciculatum* on salinity tolerance induction of barley plants'. *Iranian Journal of Plant Physiology* 5, 1323- 1331.

Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: toward genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218: 1-14.

Xu, F., Luan, L. Y., Zhang, Z. W., Huo, S. S., Gao, X., Fang, Y.L. and Xi, Z. M. 2014. Phenolic profiles and antioxidant properties of young wines made from Yan73 (*Vitis vinifera* L.) and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grapes treated by 24-epibrassinolide. *Molecules*, 19: 10189- 10207.

Zhang, S., Hu, J., Zhang, Y., Xie, X. J. and Knapp, A. 2007. Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. *Australian Journal of Agriculture Research*, 58: 811-815.

Zhong Qun, H., Chao Xing, H., Zhibin, Z., Zhirong, Z., and Huai Song, W. 2007. Changes in antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surface B Biointerfaces*, 59:128-133.