*Plant Production Technology*/ Volume 26/ Issu 1/ Pages 145-162/ Spring and Summer 2026
https://doi.org/10.22084/ppt.2026.32945.2191

ORIGINAL RESEARCH PAPER

# The Effect of Arbuscular Mycorrhizal on the Growth and Biochemical Characteristics of *Catharanthus roseus* L. under water deficit stress

Rasouli*[1], M. and Noroozisharaf[2], A.

1Asisstanr professor, Department of Horticultural Science, Sayyed Jamaleddin Asadabadi University, Asadabad, Iran
2 Assistant professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
*: Corresponding Author Email: rasouli@sjau.ac.ir

Received: 2026/07/27 Accepted: 2026/09/01

**Introduction**
The medicinal plant *Catharanthus roseus* holds significant global economic and therapeutic value due to its production of indole-alkaloids, notably anti-cancer agents like vincristine and vinblastine. However, its cultivation and yield, particularly in arid and semi-arid regions, are severely hampered by drought stress. This abiotic stress induces oxidative damage, reduces photosynthetic pigments, and compromises cell membrane integrity. In response, plants activate antioxidant defense systems, including enzymes like catalase, and accumulate compatible solutes such as proline and soluble proteins. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) offer a potent bio-solution by enhancing water and nutrient uptake (especially phosphorus) through extraradical hyphal networks, thereby improving host plant tolerance to drought. Beyond physiological and biochemical enhancements, AMF symbiosis stimulates secondary metabolite biosynthesis, leading to increased production of valuable alkaloids like cataranthine and vindoline in *C. roseus* under stress conditions. Consequently, this research aims to comprehensively investigate the physiological, biochemical, and phytochemical mechanisms by which AMF symbiosis augments the medicinal yield of *C. roseus* under drought stress.

**Materials and Methods**
The experiment was conducted as a $3 \times 3$factorial in a completely randomized design with three replicates, comprising two arbuscular mycorrhizal fungi and three soil-moisture regimes (80%, 60%, and 40% of field capacity). Following seedling establishment in sterilized sandy loam soil, *Catharanthus roseus* plants were inoculated with *Glomus deserticola* or *G. mosseae* and exposed to water-deficit treatments for ten weeks. Soil moisture was maintained by pot weighing and monitored using a tensiometer, while plants were grown under controlled greenhouse conditions. Growth attributes, shoot and root dry weight, root length, mycorrhizal colonization, chlorophyll and carotenoid contents, catalase activity, and proline concentration were assessed. Leaf total alkaloid content was determined using acid–base extraction followed by perchloric acid titration, and data were analyzed using SAS software and Duncan's multiple range test at the 5% significance level.

**Results**
The interaction between drought stress and mycorrhizal inoculation significantly affected most growth and physiological traits of *Catharanthus roseus*. Increasing drought severity reduced shoot and root dry weight, plant height, root length, and total chlorophyll content. Inoculation with both fungal species, particularly *Glomus mosseae*, improved plant growth under water-deficit conditions, with the greatest effects observed at 40% field capacity. Root colonization increased under moderate drought stress but did not differ significantly under the most severe drought condition. Mycorrhizal inoculation maintained higher chlorophyll concentrations and increased carotenoid content, thereby supporting photosynthetic stability. The highest catalase activity occurred in plants inoculated with *G. mosseae* under 40% field capacity, whereas proline accumulation was higher in non-mycorrhizal plants. Total alkaloid content was also highest under severe drought in *G. mosseae*-inoculated plants, confirming its role in enhancing drought tolerance and secondary-metabolite production.

## Conclusion

Arbuscular mycorrhizal fungi can markedly alleviate the adverse effects of water-deficit stress in Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus* L.). Under drought conditions, mycorrhizal plants generally exhibit improved growth, enhanced water status, greater antioxidant activity, reduced oxidative damage, and increased production of valuable medicinal compounds. Therefore, the application of mycorrhizal fungi, particularly *Glomus mosseae*, represents a sustainable biological strategy for improving drought tolerance and enhancing the medicinal quality of this plant.

**Keywords:** Alkaloid, Biofertilizer, Medicinal plants, Root traits, Water deficit stress

**Citations:** Rasouli, M. and Noroozisharaf, A. (2026). The Effect of Arbuscular Mycorrhizal on the Growth and Biochemical Characteristics of *Catharanthus roseus* L. under water deficit stress. *Plant Production Technology*, 26(1), 145-162.
https://doi.org/ 10.22084/ppt.2026.32141.2182

© 2022 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**Online ISSN:** 2476-5651 **Print ISSN:** 2476-6321

فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و ششم/ شمارهٔ اول/ صفحات ۱۴۵-۱۶۲/ بهار و تابستان ۱۴۰۵
https://doi.org/10.22084/ppt.2026.32945.2191

# تأثیر قارچ مایکوریزا بر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تحت تنش خشکی

# The Effect of Arbuscular Mycorrhizal on the Growth and Biochemical Characteristics of *Catharanthus roseus* L. under water deficit stress

مهرداد رسولی[1*] و علیرضا نوروزی شرف[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۵/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰
(مقاله پژوهشی)

**چکیده**

به‌منظور بررسی اثر قارچ‌های مایکوریزای آربوسکولار بر بهبود رشد، ویژگی‌های فیزیولوژیکی و تولید آلکالوئید در گیاه پروانش تحت تنش خشکی، آزمایشی با هدف ارزیابی نقش تلقیح قارچ‌های مایکوریزای آربوسکولار در افزایش تحمل گیاه پروانش به تنش خشکی و بهبود صفات رشدی، فیزیولوژیکی و تولید آلکالوئید آن، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح تنش خشکی (۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد FC) و سه سطح تلقیح قارچی (عدم تلقیح، *Glomus deserticola* و *Glomus mosseae*) بودند. نتایج نشان داد تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد و محتوای کلروفیل و افزایش فعالیت سامانه‌های دفاعی گیاه شد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۲۲/۶۰ گرم)، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۱۳۹ واحد) و بیشترین محتوای آلکالوئید کل (۰/۹۸ درصد) در گیاهان تلقیح‌شده با *G. mosseae* تحت تنش شدید خشکی مشاهده گردید. همچنین تلقیح مایکوریزایی موجب افزایش کلروفیل و کاروتنوئید و کاهش تجمع پرولین در مقایسه با گیاهان غیرتلقیح‌شده شد که بیانگر بهبود وضعیت آبی و کاهش آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو است. در مجموع، همزیستی مایکوریزایی، به‌ویژه با *G. mosseae*، از طریق بهبود رشد، تقویت سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه، نقش مؤثری در ارتقای تحمل به خشکی و کیفیت دارویی گیاه پروانش ایفا کرد.

کلمات کلیدی: آلکالوئید، تنش خشکی، صفات ریشه، کودهای زیستی، گیاه دارویی

**ارجاع به مقاله:** رسولی، م.، نوروزی شرف، ع. (۱۴۰۵). تأثیر قارچ مایکوریزا بر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تحت تنش خشکی، *مجله فنآوری تولیدات گیاهی*، ۲۶(۱)، ۱۴۵-۱۶۲.
https://doi.org/10.22084/ppt.2026.32141.2182/

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Creative Commons Attribution (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.

شاپا چاپی: ۲۴۷۶-۶۳۲۱ شاپا الکترونیکی: ۲۴۷۶-۵۶۵۱

۱. استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشگاه سیدجمال الدین اسدآبادی، اسدآباد، ایران.
۲. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
*: نویسنده مسئول Email: rasouli@sjau.ac.ir

## ۱. مقدمه

گیاه پروانش با نام علمی *Catharanthus roseus* L. از خانواده Apocynaceae یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی جهان محسوب می‌شود که به‌دلیل تولید طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه، به‌ویژه آلکالوئیدهای ایندولی-ترپنوئیدی، مورد توجه فراوان قرار گرفته است. مهم‌ترین ترکیبات دارویی استخراج‌شده از این گیاه شامل وین‌کریستین و وین‌بلاستین هستند که در درمان انواع مختلف سرطان از جمله لوسمی، لنفوم هوچکین، نوروبلاستوما و برخی تومورهای جامد کاربرد دارند (Mendonce *et al.*, 2025). علاوه بر این، مطالعات فیتوشیمیایی وجود بیش از ۱۳۰ آلکالوئید مختلف را در این گیاه گزارش کرده‌اند که بسیاری از آن‌ها دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدالتهابی و ضددیابتی هستند. ارزش اقتصادی و دارویی بالای این ترکیبات موجب شده است که پروانش به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های مورد مطالعه در زمینه فیزیولوژی تنش، بیوتکنولوژی گیاهی و تولید متابولیت‌های ثانویه شناخته شود (Paul *et al.*, 2023).

در سال‌های أخیر، استفاده از قارچ‌های مایکوریزای آربوسکولار به‌عنوان یک راهکار زیستی مؤثر برای کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی مورد توجه قرار گرفته است. این قارچ‌ها از طریق گسترش شبکه هیفی در خاک، سطح جذب مؤثر ریشه را افزایش داده و جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه فسفر، نیتروژن و برخی ریزمغذی‌ها را بهبود می‌بخشند. مطالعات نشان داده‌اند که همزیستی مایکوریزایی با افزایش محتوای نسبی آب برگ، حفظ پایداری غشاهای سلولی، افزایش میزان کلروفیل، بهبود فعالیت فتوسنتزی و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، تحمل گیاه به شرایط کم‌آبی را افزایش می‌دهد. همچنین تلقیح گیاهان با قارچ‌های مایکوریزا معمولاً با افزایش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، افزایش تجمع پرولین و حفظ سطوح بالاتر پروتئین‌های محلول همراه است که در نهایت منجر به کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش می‌شود (Khan and Naz, 2024).

گزارش‌های متعددی در گیاهان زینتی و دارویی بیانگر نقش مثبت قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار، به‌ویژه *G. mosseae* و *G. deserticola*، در بهبود تحمل به خشکی هستند. در گیاه گل جعفری (*Tagetes erecta*)، تلقیح با قارچ‌های مایکوریزایی موجب افزایش محتوای کلروفیل، بهبود رشد رویشی و کیفیت گلدهی در شرایط کمبود آب شده است (Asrar and Elhindi, 2011). در اطلسی (*Petunia hybrida*) نیز همزیستی با *G. mosseae* سبب افزایش رشد گیاه، بهبود جذب عناصر غذایی و افزایش تحمل به تنش خشکی گردیده است (Shamshiri *et al.*, 2025). همچنین در داوودی[1]، مطالعات نشان داده‌اند که تلقیح مایکوریزایی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بهبود وضعیت آب گیاه و کاهش خسارت اکسیداتیو، مقاومت گیاه را در برابر تنش خشکی افزایش می‌دهد. در رز[2]، قارچ *G. deserticola* از طریق بهبود تنظیم اسمزی و حفظ وضعیت آبی برگ‌ها، تحمل گیاه به خشکی را به‌طور معنی‌داری افزایش داده است (Augé *et al.*, 1986). همچنین در همیشه‌بهار[3]، تلقیح مایکوریزایی موجب افزایش رشد، تجمع ترکیبات فنولی و بهبود کیفیت دارویی گیاه تحت شرایط خشکی شده است. افزون بر این، قارچ‌های مایکوریزا از طریق تأثیر بر مسیرهای متابولیسم ثانویه، موجب افزایش تجمع ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، اسانس‌ها و سایر متابولیت‌های زیست‌فعال شده‌اند که اهمیت این همزیستی را در تولید گیاهان دارویی و زینتی دوچندان می‌کند (Zhao *et al.*, 2022).

علاوه‌بر اثرات فیزیولوژیک، شواهد متعددی نشان می‌دهد که قارچ‌های مایکوریزا در تنظیم متابولیسم ثانویه نیز نقش مهمی ایفا می‌کنند. این همزیستی می‌تواند از طریق بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و تحریک بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای بیوسنتزی، تولید آلکالوئیدها، ترکیبات فنولی و سایر متابولیت‌های زیست‌فعال را افزایش دهد. در گیاه پروانش نیز افزایش معنی‌دار محتوای آلکالوئیدهای کل، کاتارانتین و وین‌دولین در اثر تلقیح مایکوریزایی تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده است. بنابراین، بررسی همزمان شاخص‌های رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین محلول کل، پرولین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و همچنین میزان آلکالوئیدهای کل می‌تواند درک جامع‌تری از سازوکارهای

1. *Chrysanthemum morifolium* L.
2. *Rosa hybrida* L.
3. *Calendula officinalis* L.

تحمل به خشکی و نقش قارچ‌های مایکوریزا در بهبود عملکرد دارویی و فیزیولوژیک این گیاه ارزشمند فراهم آورد (Thokchom *et al*., 2023; Yu *et al*., 2024).

با وجود اهمیت دارویی این گیاه، رشد، عملکرد و تولید متابولیت‌های ثانویه آن به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. در میان تنش‌های غیرزیستی، تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید گیاهان دارویی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان به‌شمار می‌رود. کمبود آب از طریق کاهش پتانسیل آب سلولی، محدودیت جذب عناصر غذایی، کاهش هدایت روزنه‌ای و اختلال در فرایند فتوسنتز، رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از نخستین پیامدهای تنش خشکی، افزایش تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS[1]) نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل است که می‌توانند موجب تخریب غشاهای سلولی، پروتئین‌ها، رنگیزه‌های فتوسنتزی و اسیدهای نوکلئیک شوند. به منظور مقابله با این شرایط، گیاهان سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی خود را فعال می‌کنند که در آن آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نقش اساسی در حذف گونه‌های فعال اکسیژن و حفظ تعادل اکسیداتیو سلول دارند(Wang *et al*., 2023) .

علاوه‌بر سامانه‌های آنزیمی، تجمع ترکیبات سازگارکننده اسمزی ازجمله پرولین نیز یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهان به تنش خشکی محسوب می‌شود. پرولین با حفظ پایداری غشاها، تنظیم فشار اسمزی، حفاظت از ساختار پروتئین‌ها و کاهش اثرات مخرب تنش اکسیداتیو، نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه به کمبود آب ایفا می‌کند. از سوی دیگر، تنش خشکی معمولاً موجب کاهش محتوای کلروفیل و تخریب دستگاه فتوسنتزی می‌شود که این امر به کاهش تولید ماده خشک و افت عملکرد گیاه منجر می‌گردد. همچنین تغییر در میزان پروتئین‌های محلول کل از شاخص‌های مهم ارزیابی پاسخ گیاه به تنش محسوب می‌شود، زیرا بخشی از این پروتئین‌ها در فرایندهای دفاعی، تنظیم اسمزی و مقابله با آسیب‌های ناشی از تنش نقش دارند (Hasanuzzaman *et al*., 2020).

اگرچه تنش خشکی در اغلب موارد باعث کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود، اما در بسیاری از گیاهان دارویی ازجمله پروانش می‌تواند موجب تحریک متابولیسم ثانویه و افزایش سنتز ترکیبات دارویی گردد. گزارش شده است که فعال شدن مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با آلکالوئیدهای ایندولی-ترپنوئیدی در شرایط تنش، سبب افزایش تجمع برخی آلکالوئیدهای مهم نظیر کاتارانتین، ویندولین و سایر پیش‌سازهای وین‌کریستین و وین‌بلاستین می‌شود. این افزایش اغلب به‌عنوان بخشی از سازوکار دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی تفسیر می‌شود، هرچند شدت و مدت تنش نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان این پاسخ دارد (Paul *et al*., 2023).

بنابراین، هدف این پژوهش مقایسه همزمان اثر دو گونه متفاوت قارچ *Glomus* بر صفات رشدی، فیزیولوژیکی و تجمع آلکالوئید گیاه پروانش تحت سطوح مختلف تنش خشکی بود. نوآوری اصلی پژوهش نیز بررسی و مقایسه کارایی این دو گونه قارچ در کاهش اثرات نامطلوب خشکی و بهبود رشد و کیفیت گیاه پروانش است.

## ۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل با استفاده از طرح کاملا تصادفی ۳ × ۳ با سه تیمار مایکوریزای آربوسکولار (*G. deserticola*، *G. Mosseae* و تلقیح نشده (شاهد)) و سه رژیم آبی خاک (نزدیک به ظرفیت زراعی (۸۰ درصد) و دو سطح تنش خشکی (۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی)) در دانشکده کشاورزی دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی طی سال‌های ۱۴۰۳ تا ۱۴۰۴ انجام شد. آزمایش شامل ۹ تیمار بود که هر تیمار در ۳ تکرار مستقل اجرا شد. هر تکرار شامل یک گلدان حاوی یک گیاه بود؛ بنابراین، هر گلدان به‌عنوان یک واحد آزمایشی و یک تکرار زیستی مستقل در نظر گرفته شد و در مجموع ۲۷ گلدان مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای تنشی (۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) سه هفته پس از کاشت شروع شد (تا زمان لازم برای استقرار کلونیزاسیون مایکوریزا در ریشه‌های گیاهچه های پروانش فراهم شود).

1. reactive oxygen species

به‌منظور اعمال تنش خشکی، ظرفیت زراعی خاک به روش وزنی (گرانی‌سنجی) تعیین شد. بدین‌منظور، وزن گلدان حاوی خاک خشک ثبت و سپس خاک تا حد اشباع آبیاری شد و پس از خروج آب اضافی، وزن گلدان در ظرفیت زراعی تعیین گردید و پتانسیل آب خاک توسط دستگاه تانسیومتر اندازه‌گیری شد. وزن هدف گلدان برای تیمار تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی از رابطه $W40=Wd+0.4(WFC-Wd)$ محاسبه شد؛ که در آن Wd وزن گلدان حاوی خاک خشک و WFC وزن گلدان در ظرفیت زراعی است. در طول دوره آزمایش، گلدان‌ها به‌صورت یک روز در میان وزن شده و آب ازدست‌رفته از طریق تبخیر و تعرق با افزودن آب تا رسیدن به وزن هدف جبران شد تا رطوبت خاک در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی حفظ گردد. برای تیمار تنش خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی نیز همانند بالا محاسبه شد. گلدان‌ها در قالب طرح کامل تصادفی در گلخانه‌ای تحت شرایط کنترل‌شده با شدت نور ۲۶۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، دمای روز/شب ۱۲/۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعته چیده شدند. در طول آزمایش، پتانسیل آب خاک در سه گلدان شاهد بدون تنش و سه گلدان از هر گلدان تنشی بدون گیاه بررسی شد.

### ۲-۱. مایه تلقیح قارچ مایکوریزا

مایه تلقیح قارچ مایکوریزا، شامل اسپور، خاک، هیف و قطعات ریشه آلوده گیاهان سورگوم[1] از کشت پایه *G. deserticola* (Trappe and John) و *G. Mosseae* توسط کشت‌های پایه مایکوریزا (جدا شده از مکان‌های تحت تنش خشکی) تهیه شد. مایه تلقیح مورد استفاده از نظر مورفولوژیکی بررسی شد و اسپورهای متعلق به قارچ مایکوریزا آربوسکولار هدف از سایر ذرات و میکروارگانیسم‌های همراه تفکیک گردید. خلوص مایه تلقیح بر اساس نسبت اسپورهای هدف به کل ساختارهای مشاهده‌شده به میزان ۸۷ درصد تعیین شد. دوز تلقیح شده با مایکوریزا شامل ۱۵ گرم خاک ریزوسفر (تقریباً ۸۵۰ اسپور) و ۰/۵ گرم قطعات ریشه سورگوم آلوده با سطح آلودگی ۸۵/۷٪ سپس به هر گلدان تلقیح شد. مایه تلقیح مایکوریزا در زمان انتقال، در عمق ۵ سانتی‌متری زیر گیاهچه های پروانش قرار داده شد.

### ۲-۲. شرایط گیاه و رشد

گیاهچه‌های جوانه زده گل پروانش به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک ورمیکولیت اتوکلاو شده مرطوب منتقل شده و دو هفته بعد، در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۳۰ سانتی‌متر (یک گیاهچه در هر گلدان) حاوی مخلوطی از خاک لومی شنی اتوکلاو شده کاشته شدند. سپس، گیاهان تحت سه تنش خشکی قرار گرفتند. یک سوم از گلدان‌های غیر تنش و تنشی با قارچ مایکوریزا، *G. deserticola* و یک سوم با قارچ مایکوریزا *G. Mosseae* (۱۵ گرم خاک بستر کشت و ۰/۵ گرم ریشه آلوده در هر گلدان) تلقیح شدند.

### ۲-۳. اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی گیاه

در پایان هفته دهم پس از اعمال تیمارها، گیاهان برداشت شدند و ارتفاع هر گیاه از ناحیه طوقه تا مرتفع‌ترین بخش آن با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین وزن خشک اندام هوایی و ریشه، نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی قرار گرفته و به‌مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

### ۲-۴. اندازه‌گیری میزان کلونیزاسیون قارچ

به‌منظور تعیین میزان کلونیزاسیون قارچی، ابتدا ۲ گرم از ریشه‌های نمونه‌برداری‌شده با آب شسته شد و سپس در محلول اتانول ۵۰ درصد نگهداری شدند. در مرحله آماده‌سازی برای رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها به‌مدت ۳ ساعت در محلول ۱۰ درصد هیدروکسید پتاسیم (KOH) و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن، نمونه‌ها در محلول اسید کلریدریک (HCl) ۰/۱ مولار غوطه‌ور شدند. برای رنگ‌آمیزی ساختارهای قارچی، ریشه‌ها به مدت ۱۲۰ ساعت در محلول تریپان بلو با غلظت ۰/۰۱ درصد و در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند (Phillips and Hayman, 1970). در پایان، طول کل ریشه و درصد کلونیزاسیون آن با استفاده از میکروسکوپ نوری و به‌کارگیری روش تقاطع خطوط شبکه

1. *Sorghum halepense* L.

مطابق روش ارائه‌شده توسط تنانت (۱۹۷۵) اندازه‌گیری و محاسبه شد (Tennant, 1975).

### ۲-۵. اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید

به‌منظور سنجش میزان کلروفیل ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ برداشت شده و با ۱ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد همگن گردید. سپس نمونه حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از پایان سانتریفیوژ، عصاره شفاف استونی از رسوب جدا شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی نگهداری گردید. در ادامه، میزان جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Itd T80 + UV/VIS (PG Instruments, Leicestershire, England) در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر کلروفیل a ، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها براساس روابط (۱)، (۲)، (۳) و (۴) محاسبه گردید (Strain and Svec, 1966).

(۱)

$$Chl\ a = 12.25A_{663} - 2.79A_{645}$$

(۲)

$$Chl\ b = 21.50A_{645} - 5.10A_{663}$$

(۳)

$$Chl\ a+b = 7.15A_{663} + 18.71A_{645}$$

(۴)

$$Carotenoides = (1000A_{470} - 1.8Chl_a - 85.02Chl_b)/198$$

که در روابط بالا A۶۴۵ و A۶۶۳ و A۴۷۰ به‌ترتیب جذب نور در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ می‌باشند. Chl: کلروفیل نمونه و واحد آن بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

### ۲-۶. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

با توجه به اهمیت آنزیم کاتالاز در زدودن پراکسید هیدروژن از پراکسی‌زوم‌ها، در این تحقیق فعالیت این آنزیم به‌عنوان شاخص کلیدی تنش اکسیداتیو اندازه‌گیری شد و فعالیت این آنزیم بر اساس روش ارائه‌شده توسط چنس و ماهلی با اندکی تغییرات تعیین گردید. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار(pH=7) ، پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) ۱۰ میلی‌مولار و EDTA با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود. پس از افزودن عصاره آنزیمی، کاهش جذب ناشی از تجزیه $H_2O_2$ در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه توسط اسپکتروفتومتر ثبت شد و فعالیت آنزیم براساس واحد سرعت کاهش جذب $H_2O_2$ در ۲۴۰ نانومتر محاسبه گردید (Chance and Maehly, 1955).

### ۲-۷. اندازه گیری پرولین

مقدار پرولین آزاد براساس روش نین‌هیدرین مطابق با روش ارائه‌شده تعیین شد .(Sadasivam, 1996) نمونه خشک بافت برگ با اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد استخراج شد. پس از افزودن نین‌هیدرین و اسید استیک و انکوباسیون در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، تولوئن اضافه و فاز آلی جدا شد. جذب در ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت پرولین با منحنی استاندارد ال-پرولین تعیین گردید.

### ۲-۸. استخراج و اندازه‌گیری کل آلکالوئیدها

استخراج و اندازه‌گیری آلکالوئیدهای کل با استفاده از روش استخراج اسید – باز و تیترسنجی با اسید پرکلریک انجام شد (Evans, 2009; Zarezadeh *et al.*, 2000). ۳ گرم پودر گیاه پس از تیمار با آمونیاک و کلروفرم، استخراج و تغلیظ شد. عصاره با اسید تارتاریک تفکیک، pH فاز آبی به ۹ تنظیم و آلکالوئیدها با کلروفرم استخراج شدند. پس از تبخیر حلال، نمونه با اسید پرکلریک تیتر شد. مقدار کل آلکالوئیدها براساس حجم اسید مصرفی و میانگین وزن مولکولی آلکالوئیدها محاسبه و درصد آن در وزن خشک برگ تعیین گردید (Jacobs *et al.*, 2004).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار رایانه‌ای SAS (نسخه۹/۲) و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام و مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت پذیرفت.

## ۳. نتایج و بحث

طبق جدول تجزیه واریانس اثر متقابل خشکی و کاربرد قارچ بر وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، طول ریشه، کلروفیل کل، پرولین و آلکالوئید کل در سطح پنج درصد و وزن خشک ریشه، کلونیزاسیون، کلروفیل کل، کاروتنوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱ و ۲).

Table 1: Analysis of variance (mean squares) of the effects of fungal inoculation and drought stress on morphological traits of *Catharanthus roseus*

| Source of Variation | df | Mean Square | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Leaf dry weight | Plant height | Root dry weight | Root length | Mycorrhizal colonization |
| Mycorrhizae | 2 | 38.74** | 109.98** | 11.90** | 18.75* | 6622.19** |
| Drought stress | 2 | 69.85** | 184.26** | 20.39** | 75** | 266.69** |
| Mycorrhizae × Drought stress | 4 | 13.45* | 49.07* | 15.25** | 12.50* | 51.56** |
| Experimental Error | 18 | 3.60 | 11.70 | 1.15 | 3.56 | 11.14 |
| Coefficient of Variation | – | 8.97 | 5.70 | 7.69 | 8.02 | 10.17 |

Table 2: Analysis of variance (mean squares) for the effects of fungal inoculation and drought stress on the physiological characteristics of *Catharanthus roseus*

| Source of Variation | df | Mean Square | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Total chlorophyll | Carotenoids | Proline | Catalase | Total alkaloides |
| Mycorrhizae | 2 | 0.40** | 0.007** | 82.22* | 0.003** | 0.03** |
| Drought stress | 2 | 0.51** | 0.005** | 448.08** | 0.001** | 0.04** |
| Mycorrhizae × Drought stress | 4 | 0.09* | 0.002** | 58.15* | 0.0004** | 0.01* |
| Experimental Error | 18 | 0.028 | 0.0004 | 17.10 | 0.0004 | 0.0026 |
| Coefficient of Variation | – | 7.69 | 6.25 | 5.57 | 6.05 | 6.01 |

**, *and ns: significant at 0.05, 0.01 probability levels and no-significant, respectively

### ۳-۱. خصوصیات رویشی

با توجه به مقایسه میانگین تأثیر تیمارها ملاحظه گردید که با افزایش شدت تنش خشکی تمام صفات رویشی از قبیل وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و طول ریشه در گیاه پروانش کاهش یافت. تلقیح با قارچ مایکوریزا در بهبود رشد شاخص‌های رشدی گیاه در شرایط تنش خشکی موثر بود به‌طوری‌که در شرایط تنش خشکی (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار شاهد و بدون تلقیح قارچ مایکوریزا (۱۵/۶۷ گرم) بود. همچنین در همین سطح خشکی تلقیح با هر دو قارچ *G. deserticola* و *G. mosseae* به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی به‌ترتیب ۲۲/۵۷ و ۲۲/۶۰ گرم نسبت به شاهد (بدون کاربرد قارچ میکوریزا) گردید (شکل ۱). کمترین ارتفاع رشد گیاه با ۴۹/۴۰ سانتی‌متر در شرایط عدم تلقیح قارچ و بالاترین تنش خشکی در گیاه به‌دست آمد. تلقیح قارچ باعث بهبود در ارتفاع رشد گردید ولی در تنش خشکی ۶۰ درصد تفاوت معنی‌داری بین گیاهان تیمار شده با قارچ‌ها و شاهد مشاهده نشد. اما در شرایط تنش خشکی ۴۰ درصد FC تفاوت بسیار معنی‌داری بین گیاهان شاهد تلقیح نشده و تلقیح شده با قارچ مشاهده گردید و تیمار با قارچ *G. mosseae* اثر مطلوب‌تری داشت که البته نسبت به تیمار با قارچ *G. deserticola* تفاوت معنی‌دار نبود (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها اثرات مشابهی مانند بالا را در وزن خشک ریشه و ارتفاع ریشه نشان دادند. کمترین میزان وزن خشک ریشه مربوط به تیمار شاهد بدون تلقیح و تنش خشکی ۴۰ درصد FC (۹/۶۰ گرم) بود و همچنین تلقیح هر دو قارچ باعث بهبود در شرایط رشدی گیاه گردید و با ۱۵/۸۹ گرم و ۱۵/۴۸ گرم به‌ترتیب تلقیح با قارچ *G. deserticola* و *G. mosseae* تفاوت معنی‌داری را نسبت به شاهد از خود نشان داد (شکل ۳). بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان طول ریشه در تیمار اثر متقابل بدون تلقیح قارچ و تنش خشکی ۴۰ درصد FC ۱۸/۳۳ سانتی‌متر است و در تیمار تلقیح قارچ *Glomus mosseae* و بیشترین تنش خشکی (۴۰ درصد FC) ۲۴ سانتی‌متر بود و بهبود رشدی قابل‌توجهی را نشان می‌دهد (شکل ۴). تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان در سطح جهان محسوب می‌شود و از طریق کاهش جذب آب و عناصر غذایی، فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گزارش شده است

که با آغاز خشک شدن خاک، رشد اندام‌های هوایی حتی پیش از ظهور علائم ظاهری خشکی در برگ‌ها، در نتیجه سیگنال‌های ارسالی از ریشه به بخش‌های هوایی کاهش می‌یابد (Davies *et al*., 1994). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تلقیح با قارچ‌های مایکوریزا موجب بهبود شاخص‌های رشد از جمله وزن خشک، ارتفاع گیاه، طول ریشه و وزن خشک ریشه در شرایط تنش خشکی و بدون تنش شد. همچنین، اثرات مثبت مایکوریزا بر رشد گیاه در شرایط تنش شدیدتر بارزتر بود که بیانگر نقش این همزیستی در افزایش تحمل گیاه به کمبود آب است. علاوه‌بر نقش مستقیم و فعال زیستی قارچ مایکوریزا در افزایش قابلیت جذب فسفر، این ریزجانداران از طریق تولید اسیدهای آلی و کاهش pH محیط ریشه، قابلیت فراهمی برخی عناصر کم‌مصرف و پرمصرف نظیر منیزیم، روی، آهن و منگنز را نیز افزایش می‌دهند. این فرایند موجب بهبود دسترسی گیاه به عناصر غذایی ضروری و در نتیجه تسریع رشد و توسعه گیاه می‌شود (Ratti *et al*., 2001). همچنین، گزارش شده است این ریزجانداران مفید موجود اضافه شده به خاک با تولید و ترشح تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله اکسین‌ها و جیبرلین‌ها، رشد رویشی گیاه را تحریک کرده و موجب افزایش شاخص‌های رشد می‌شوند (Kumar *et al*., 2009).

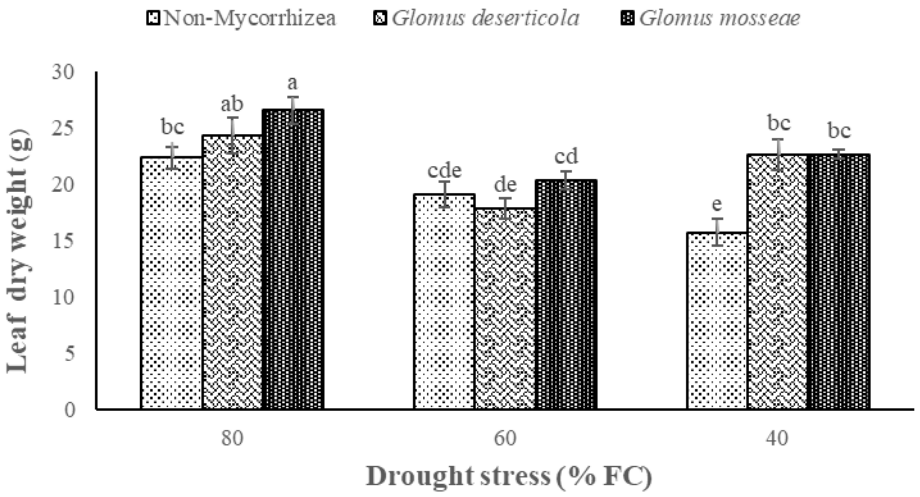



Fig. 1: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on shoot dry weight in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

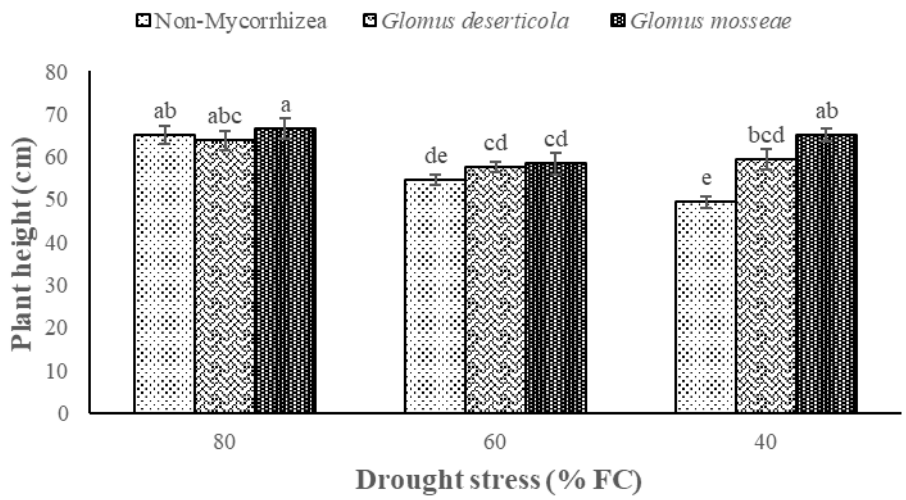



Fig. 2: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on plant height in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

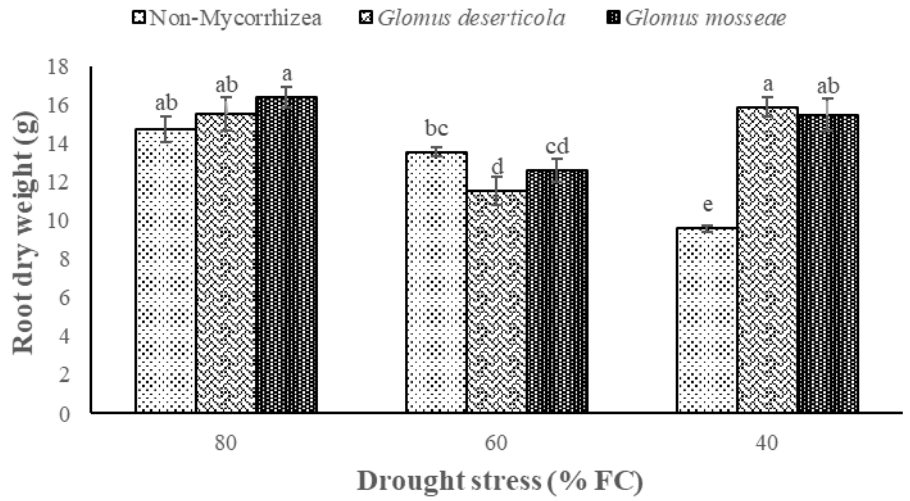



Fig. 3: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on root dry weight in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

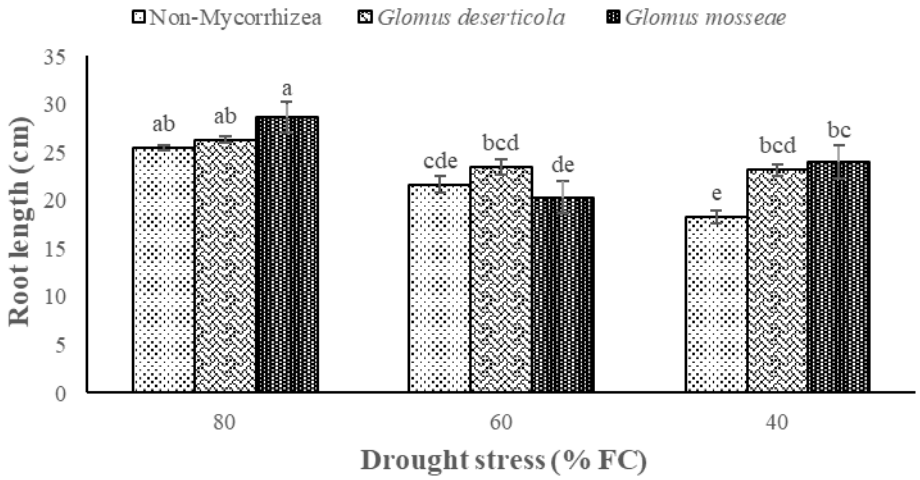



Fig. 4: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on root length in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

### ۳-۲. میزان کلونیزاسیون

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش تنش خشکی در حد ٦٠ درصد میزان کلونیزاسیون در هر دو گونه قارچ افزایش یافت. اما با افزایش سطح تنش خشکی به بالاترین حد (٤٠ درصد FC)، تغییر معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد (شکل ٥). نتایج مطالعات انجام شده نشان داد که اثر تنش خشکی بر میزان کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های مایکوریزا در گیاهان یکسان نیست و بسته به گونه گیاهی متفاوت است. مطالعه انجام پذیرفته در گیاه یونجه نشان داد تشدید تنش خشکی موجب کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه شد (Goicoechea *et al*., 1996). با این حال، محققین در شرایط تنش خشکی چنین روندی را در ریشه سویا مشاهده نکردند و کاهش معنی‌داری در درصد کلونیزاسیون این گیاه گزارش نشد (Porcel and Ruiz-Lozano, 2004). در مقابل، در گیاه کاهو افزایش ۲۰ درصدی کلونیزاسیون ریشه را در شرایط افزایش تنش خشکی توسط محققین دیگر ثبت گردید (Aroca *et al*., 2008).

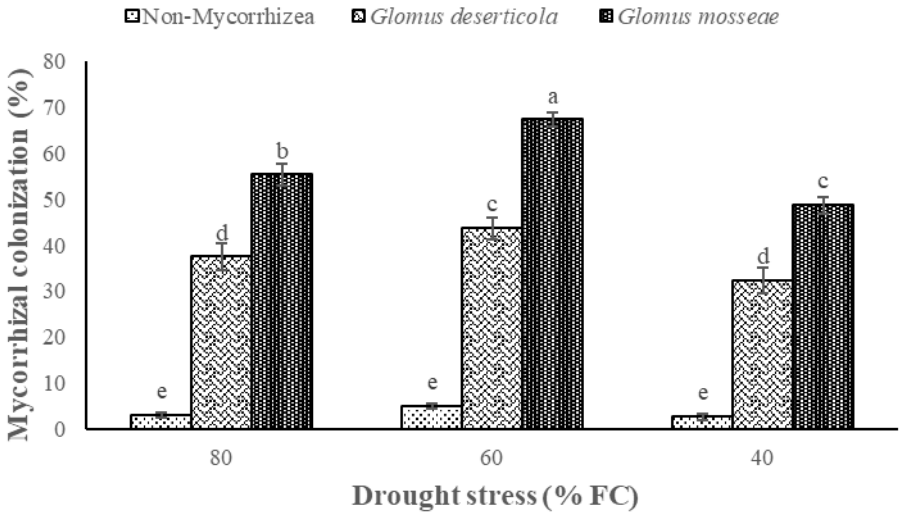



Fig. 5: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on root colonization in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

تفاوت در واکنش گیاهان مایکوریزایی به تنش خشکی را می‌توان علاوه‌بر شدت تنش و ویژگی‌های خاک، به برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه نیز نسبت داد. عواملی مانند پتانسیل آب برگ و میزان تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی از جمله پرولین ازجمله مؤلفه‌هایی هستند که می‌توانند در بروز این تفاوت‌ها نقش (Porcel and Ruiz-Lozano, 2004). درصد استقرار و گسترش قارچ‌های مایکوریزا در ریشه گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلفی ازجمله گونه گیاهی میزبان و نوع قارچ قرار دارد. علاوه‌براین، ایزوله‌های متعلق به یک گونه قارچی که از نواحی متفاوت جمع‌آوری شده‌اند نیز می‌توانند از نظر میزان کلونیزاسیون ریشه اختلاف قابل‌توجهی داشته باشند (Enebe and Erasmus, 2023). پژوهشگران در مطالعه خود بر روی گیاه جو مشاهده کردند که میزان کلونیزاسیون ریشه در شرایط اعمال تنش، به‌مراتب بیشتر از گیاهان شاهد بوده است که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت ندارد. آنان همچنین بیان کردند که قارچ *G. mosseae* از طریق افزایش کارایی جذب آب در شرایط محدودیت رطوبتی، نقش مؤثری در بهبود وضعیت گیاه و سازگاری آن با خشکی ایفا می‌کند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Khalvati *et al.*, 2005).

### ۳-۳. محتوای کلروفیل

نتایج نشان داد بیشترین میزان کلروفیل کل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* و بدون تنش خشکی (۲/۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود اگرچه از نظر آماری با گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. deserticola* تفاوت معنی‌داری نداشت ولی نسبت به گیاهان تلقیح نشده تفاوت معنی‌دار بود. کمترین میزان کلروفیل کل (۱/۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان تلقیح نشده و تیمار خشکی حداکثری ۴۰ درصد FC مشاهده شد (شکل ۶). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، محتوای کلروفیل برگ در گیاهان کاهش یافت. این کاهش احتمالاً ناشی از اختلال در جذب و انتقال عناصر غذایی ضروری، کاهش ظرفیت فتوسنتزی و تسریع فرایند تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب است. با این حال، گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های مایکوریزا در تمامی سطوح رطوبتی دارای محتوای کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی بودند که بیانگر نقش مؤثر این همزیستی در حفظ دستگاه فتوسنتزی گیاه تحت شرایط تنش است. کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی می‌تواند تا حدی به کاهش جذب عناصر کلیدی نظیر منیزیم و پتاسیم مرتبط باشد، عناصری که در سنتز کلروفیل، پایداری کلروپلاست‌ها و تنظیم فعالیت‌های فتوسنتزی نقش اساسی دارند. از آنجا که گیاهان مایکوریزایی معمولاً مقادیر بیشتری از

این عناصر را در بافت‌های خود انباشته می‌کنند، حفظ غلظت بالاتر کلروفیل در این گیاهان احتمالاً نتیجه بهبود وضعیت تغذیه‌ای و افزایش کارایی جذب عناصر غذایی از طریق شبکه هیفی قارچ‌های مایکوریزا است. بنابراین، به نظر می‌رسد یکی از مهم‌ترین سازوکارهای افزایش تحمل گیاهان مایکوریزایی به تنش خشکی، حفظ ظرفیت فتوسنتزی و جلوگیری از تخریب رنگیزه‌های کلروفیلی باشد (Tang *et al*., 2022).

### ۳-٤. محتوای کاروتنوئید

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین کاروتنوئید در گیاهان شاهد تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار بالاترین تنش خشکی و همین قارچ و تیمار شاهد و قارچ *G. deserticola* مشاهده نشد و کمترین میزان کاروتنوئید در گیاهان تیمار شده با بالاترین تنش خشکی و تلقیح نشده مشاهده شد (شکل ۷). نتایج این پژوهش نشان داد در هر سطح از تنش، گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا دارای کاروتنوئید بیشتری نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی بودند، اگرچه بالاترین میزان کاروتنوئید در تیمار بدون تنش و تلقیح‌شده با *G. mosseae* مشاهده شد. کاروتنوئیدها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مؤثر، از طریق حذف و غیرفعال‌سازی رادیکال‌های آزاد، نقش مهمی در کاهش آسیب‌های ناشی از تنش و حفاظت از ساختارها و فرایندهای حیاتی گیاه ایفا می‌کنند. مطالعات پیشین اثر مثبت همزیستی مایکوریزایی بر افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی را گزارش کرده‌اند (Asrar and Elhindi, 2011). یافته‌های این تحقیق نشان داد که تلقیح با قارچ‌های مایکوریزا موجب افزایش میزان کاروتنوئیدها شده و از این طریق توانایی گیاه را برای مقابله با پیامدهای ناشی از تنش، ازجمله مهار نوری و تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی، بهبود می‌بخشد. کاروتنوئیدها به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای سیستم دفاعی فتوسنتز شناخته می‌شوند و نقش مؤثری در محافظت از ساختارهای فتوسنتزی در برابر آسیب‌های ناشی از اکسیژن منفرد دارند. این ترکیبات علاوه‌بر آنکه خود قادر به غیرفعال‌سازی گونه‌های واکنش‌پذیر هستند، می‌توانند انرژی حالت سه‌گانه کلروفیل برانگیخته را نیز جذب و خنثی کنند (Foyer and Harbinson, 2019). برتری گیاهان مایکوریزایی از نظر محتوای کلروفیل را می‌توان به نقش این همزیستی در ارتقای فرایند فتوسنتز و بهبود جذب عناصر غذایی مؤثر در سنتز کلروفیل، به‌ویژه نیتروژن و منیزیم، نسبت داد، عواملی که در حفظ و افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی نقش اساسی دارند (Zare-Maivan *et al*., 2017).

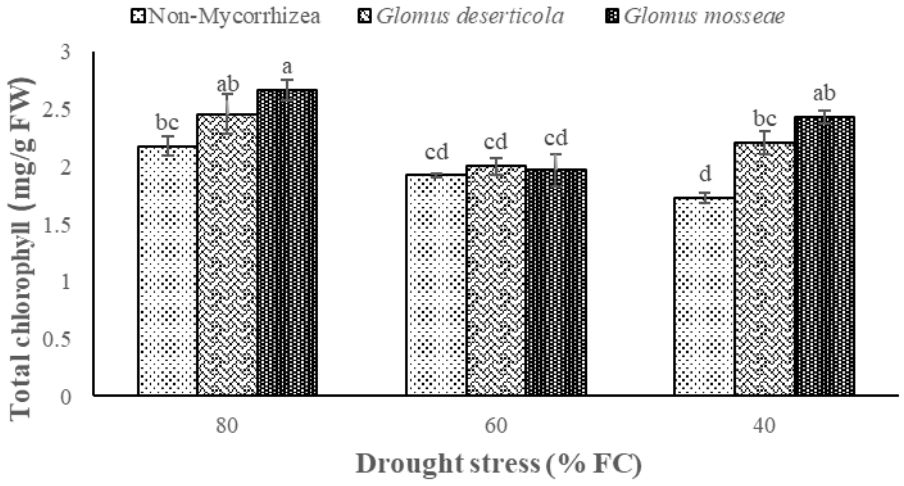



Fig. 6: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on total chlorophyll content in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

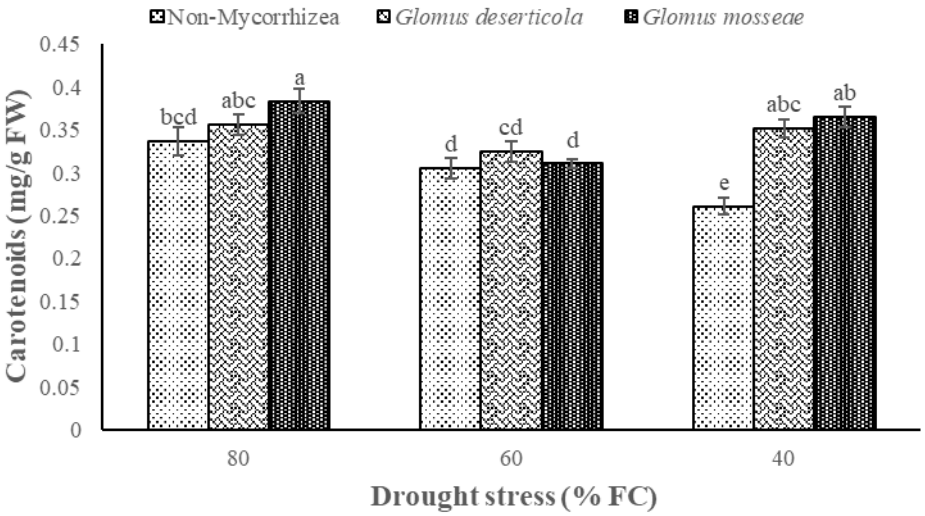



Fig. 7: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on carotenoid content in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

### ۳-۵. فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن بود که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۱۳۹ واحد) مربوط به گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* و سطح خشکی ۴۰ درصد FC بود و با تمامی تیمارهای دیگر به‌طور معنی‌داری متفاوت بود. کمترین آن در گیاهان تلقیح نشده و عدم تنش خشکی مشاهده گردید که با تیمارهای تلقیح شده قارچی و بدون تنش تفاوت معنی‌داری نداشتند (شکل ۸). تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و بروز تنش اکسیداتیو از مهم‌ترین پیامدهای کمبود آب در گیاهان است که رشد و توسعه آن‌ها را محدود می‌کند. ازاین‌رو، توانایی گیاه در کنترل و خنثی‌سازی این ترکیبات نقش مهمی در تحمل تنش خشکی دارد. تلقیح گیاهان با قارچ‌های مایکوریزا در شرایط تنش خشکی موجب تقویت سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو شد که در نهایت به افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش خشکی منجر می‌گردد. این نتایج احتمالاً نشان‌دهنده نقش قارچ‌های مایکوریزا در بهبود وضعیت آبی و تغذیه‌ای گیاه و تنظیم مؤثرتر سازوکارهای دفاعی آن است. بهبود جذب آب و عناصر غذایی در گیاهان همزیست می‌تواند از تجمع بیش‌ازحد گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) جلوگیری کرده و از طریق تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و احتمالاً تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی، شدت آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش دهد.

نتایج به‌دست‌آمده با گزارش‌های پیشین مبنی بر نقش مؤثر قارچ‌های مایکوریزا در تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو در شرایط خشکی همخوانی دارد (Begum *et al*., 2019; Kohler *et al*., 2008). همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود تحمل گیاه به خشکی در اثر همزیستی مایکوریزایی را گزارش کرده‌اند (Batool *et al*., 2020). در این پژوهش، بیشترین بهبود شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در تیمار *G. mosseae* و تنش ۴۰ درصد FC مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها فعالیت بیشتری در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ایجاد کرد. در مجموع، تنش خشکی در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی موجب ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه پروانش شد، اما کاربرد قارچ‌های مایکوریزا با تقویت سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی، شدت این آسیب‌ها را کاهش داده و به حفظ رشد گیاه کمک کرد (شکل ۸).

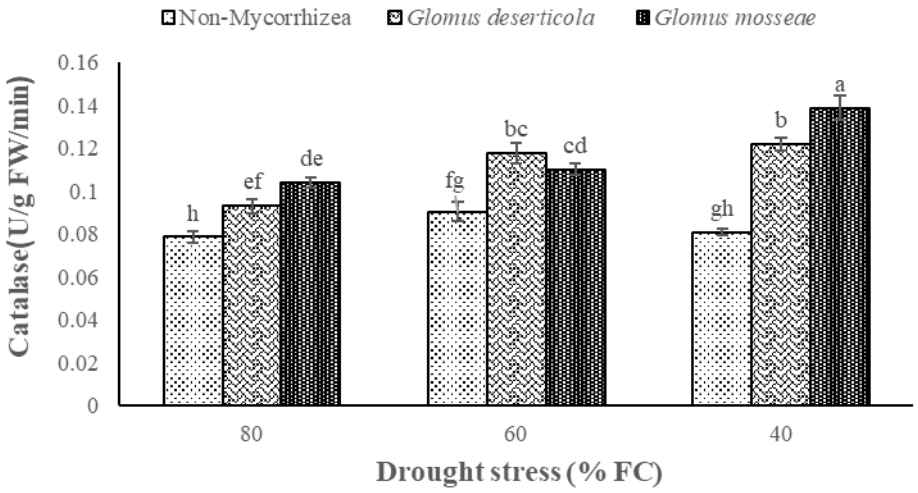



Fig. 8: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on catalase activity in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

### ۳-٦. پرولین

بیشترین میزان پرولین (۸٦/۱۱ میکرومول بر گرم) پروانش در گیاهان با سطح تنش خشکی ٤٠ درصد FC و عدم تلقیح با قارچ مشاهده شد که البته تفاوت معنی‌داری با تیمار تنش خشکی ٦٠ درصد و بدون تلقیح (۸۱/۰٤ میکرومول بر گرم) وجود نداشت. با کاربرد قارچ مایکوریزا بویژه *G. mosseae* بهبود معنی‌داری در شرایط تنش مشاهده گردید و در هر دو سطح تنش کاربرد قارچ باعث کاهش در تولید پرولین گردید (شکل ۹). در شرایط تنش خشکی، میزان پرولین در گیاهان غیرمایکوریزایی در مقایسه با گیاهان مایکوریزایی بیشتر بود. این نتایج بیانگر آن است که تغییرات در سنتز این اسیدآمینه در اثر تلقیح میکروبی با میزان تحمل گیاه به خشکی ارتباط دارد. با توجه به اینکه قارچ‌های مایکوریزا موجب بهبود رشد گیاه میزبان در شرایط تنش خشکی می‌شوند، گیاهان مایکوریزایی مقادیر کمتری از پرولین را نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی تولید می‌کنند. در مقابل، گیاهان غیرمایکوریزایی برای حفظ بقا به پرولین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی نیاز داشته و در نتیجه مقدار بیشتری از این ترکیب را سنتز می‌کنند (Bhosale and Shinde, 2011). با این وجود، اختلاف در میزان تجمع پرولین در گیاهان مختلف در اثر تلقیح با قارچ‌های مایکوریزا نشان‌دهنده آن است که این قارچ‌ها توانایی ایجاد سطوح متفاوتی از تنظیم اسمزی را در ژنوتیپ‌های مختلف دارند. به نظر می‌رسد گیاهان مایکوریزایی آسیب کمتری از تنش خشکی متحمل شده‌اند، زیرا در شرایط محدودیت آب از رشد مطلوب‌تر و وزن خشک برگ و ریشه بیشتری برخوردار بوده‌اند. در حقیقت، گیاهان مایکوریزایی توانسته‌اند سازگاری بهتری با شرایط تنش خشکی نشان دهند. کاهش تجمع پرولین در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های مایکوریزا را می‌توان نشانه‌ای از بهبود وضعیت آبی، افزایش جذب آب و عناصر غذایی و کاهش شدت تنش در این گیاهان دانست. نتایج مشابهی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است که نشان دادند کلونیزاسیون مایکوریزایی با بهبود وضعیت فیزیولوژیکی گیاه، نیاز به تجمع پرولین را کاهش می‌دهد. با این حال، کاهش پرولین در گیاهان مایکوریزایی لزوماً در همه شرایط به‌معنای وضعیت بهتر گیاه نیست؛ زیرا پرولین، علاوه بر اینکه می‌تواند شاخصی از پاسخ گیاه به تنش باشد، در برخی شرایط به‌عنوان بخشی از سازوکار سازگاری و تحمل تنش نیز ایفای نقش می‌کند (Chun *et al.*, 2018). در مجموع بر اساس نتایج می‌توان بیان کرد قارچ‌های مایکوریزا از یک سو با حفظ محتوای کلروفیل و افزایش کارایی فتوسنتز و از سوی دیگر با بهبود روابط آبی گیاه و کاهش نیاز به تجمع پرولین، نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی ایفا می‌کنند. این پاسخ‌ها بیانگر بهبود وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان مایکوریزایی و کاهش آثار زیان‌بار ناشی از کمبود آب است.

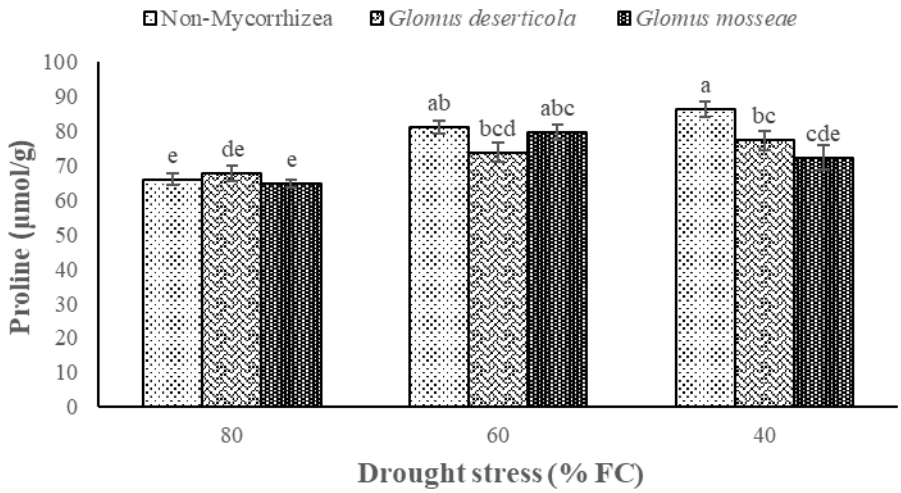



Fig. 9: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on proline content in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

### ۳-۷. آلکالوئید کل

براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین درصد آلکالوئید (۰/۹۸ درصد) در تیمار با کاربرد قارچ *G. mosseae* در سطح تنش خشکی ٤٠ درصد FC مشاهده شد که در همین سطح تنش خشکی با هر دو تیمار *G. deserticola* و عدم تلقیح قارچ به طور معنی‌داری تفاوت وجود داشت. کمترین سطح آلکالوئید (۰/۷٤ درصد) مربوط به تیمار شاهد بدون تنش و بدون تلقیح قارچ بود که تفاوت معنی‌داری هم بین تیمارهای قارچی در سطح عدم تنش مشاهده نگردید (شکل ۱۰). افزایش محتوای آلکالوئید در شرایط کمبود آب را می‌توان به‌عنوان یکی از پاسخ‌های سازگاری گیاه به تنش تفسیر کرد، زیرا تنش خشکی با ایجاد تغییر در مسیرهای متابولیکی، فعال‌سازی سامانه‌های آنزیمی و افزایش نیاز گیاه به ترکیبات دفاعی، سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه را تحریک می‌کند. در این زمینه، محققین گزارش کردند که پاسخ متابولیت‌های ثانویه به تنش خشکی وابسته به گونه گیاهی بوده و شدت تنش نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان تغییرات آن‌ها دارد (Azhar *et al.*, 2011). همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی و تجمع ترکیبات محلول از مهم‌ترین سازوکارهای گیاه برای مقابله با تنش کمبود آب است و در بسیاری از گیاهان دارویی، تنش خشکی با تحریک مسیرهای بیوسنتزی، موجب افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات زیست‌فعال می‌شود.

برتری تیمارهای تلقیح‌شده با *G. mosseae* نسبت به سایر تیمارها نشان‌دهنده نقش مؤثر همزیستی مایکوریزایی در تقویت تولید آلکالوئیدها است. قارچ‌های مایکوریزا از طریق بهبود جذب آب و عناصر غذایی، افزایش کارایی فتوسنتز و تعدیل پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه در شرایط تنش، شرایط لازم را برای تولید بیشتر پیش‌سازهای مورد نیاز سنتز آلکالوئیدها فراهم می‌کنند. در تأیید این نتایج، محققین گزارش کردند که قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار با افزایش جذب عناصر غذایی و تنظیم مسیرهای متابولیکی، موجب افزایش تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی می‌شوند. همچنین مایکوریزاها از طریق تنظیم هورمون‌های گیاهی و فعال‌سازی ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی، می‌توانند تولید آلکالوئیدها، فنل‌ها و سایر ترکیبات زیست‌فعال را افزایش دهند (Zhao *et al.*, 2022). افزایش بیشتر آلکالوئیدها در گیاهان تلقیح‌شده با *G. mosseae* نسبت به *G. deserticola* احتمالاً به تفاوت توانایی این گونه‌ها در کلونیزاسیون ریشه و کارایی جذب عناصر غذایی مربوط است. مطالعات اخیر نیز نشان داده‌اند که تأثیر قارچ‌های مایکوریزا بر تولید متابولیت‌های ثانویه به گونه قارچ، ژنوتیپ گیاه میزبان و شرایط محیطی بستگی دارد و برخی گونه‌ها توانایی بیشتری در تحریک مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات ثانویه دارند. از سوی دیگر، پایین بودن میزان آلکالوئید در گیاهان شاهد و بدون تنش نشان می‌دهد که در شرایط مطلوب رشد، نیاز کمتری به فعال شدن

سازوکارهای دفاعی و تولید متابولیت‌های ثانویه وجود دارد. همچنین عدم‌اختلاف معنی‌دار میان تیمارهای قارچی در شرایط بدون تنش بیانگر آن است که اثر مثبت مایکوریزا بر تولید آلکالوئیدها عمدتاً در شرایط تنش آشکار می‌شود، زمانی که گیاه برای حفظ تعادل فیزیولوژیک و مقابله با آثار کمبود آب به بهره‌گیری بیشتر از سازوکارهای دفاعی نیاز دارد. در مجموع، نتایج این پژوهش و یافته‌های مطالعات پیشین نشان می‌دهد که تلقیح با *G. mosseae* می‌تواند راهکاری مؤثر برای افزایش تولید آلکالوئیدها و بهبود سازگاری گیاه در شرایط محدودیت آب باشد (Begum *et al*., 2019; Sun *et al*., 2024).

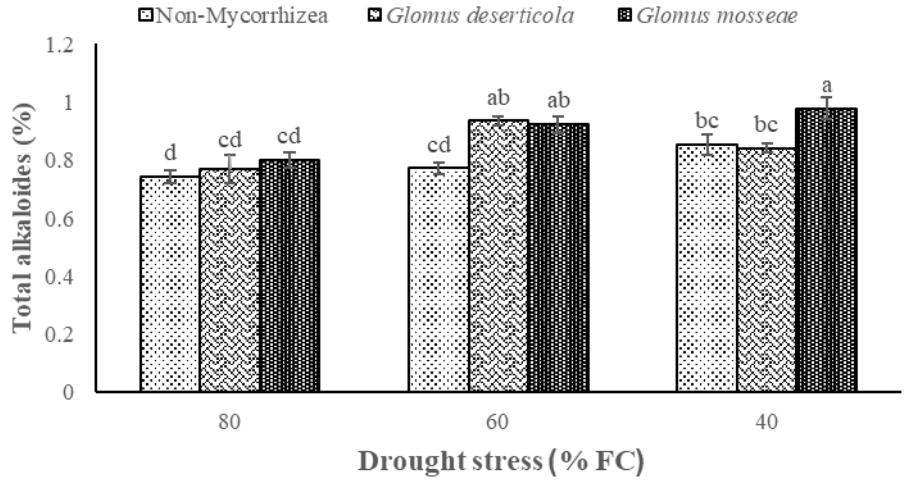



Fig. 10: Comparison of the interaction effects of different drought-stress levels and mycorrhizal fungal inoculation on total alkaloid content in periwinkle (*Catharanthus roseus*)

## ٤. نتیجه‌گیری

قارچ‌های مایکوریزای آربوسکولار می‌توانند اثرات منفی تنش کمبود آب را در گیاه گل پروانش به‌طور چشمگیری کاهش دهند. گیاهان مایکوریزایی در شرایط خشکی معمولاً رشد بهتر، وضعیت آبی مناسب‌تر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر، آسیب اکسیداتیو کمتر و تولید بیشتر ترکیبات دارویی ارزشمند را نشان می‌دهند. بنابراین، با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش تلقیح گیاه پروانش با *G. mosseae* می‌تواند یک روش زیستی و پایدار برای افزایش تحمل به خشکی و بهبود کیفیت دارویی و افزایش تولید آلکالوئیدهای دارویی در مناطق خشک پیشنهاد گردد.

## ٥. سپاسگزاری

از مسئول آزمایشگاه کشاورزی دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

## ٦. منابع

Aroca, R., Vernieri, P. and Ruiz-Lozano, J. M. (2008). Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *Journal of Experimental Botany*, *59*(8), 2029-2041. https://doi.org/10.1093/jxb/ern057

Asrar, A.-W .A. and Elhindi, K. M. (2011). Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. *Saudi journal of biological sciences*, *18*(1), 93-98. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.06.007

Augé, R. M., Schekel, K. A. and Wample, R. L. (1986). Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal and nonmycorrhizal rose plants in response to drought stress. *Plant physiology*, *82*(3), 765-770 .

Azhar, N., Hussain, B., Ashraf, M. Y. and Abbasi, K. Y. (2011). Water stress mediated changes in growth, physiology and secondary metabolites of desi ajwain (Trachyspermum ammi L.). *Pak. J. Bot*, *43*(1), 15-19 .

Batool, T., Ali, S., Seleiman, M. F., Naveed, N. H., Ali, A., Ahmed, K., Abid, M., Rizwan, M., Shahid, M. R. and Alotaibi, M. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. *Scientific Reports*, *10*(1), 16975. https://doi.org/10.1038/s41598-020-73482-z

Begum, N., Ahanger, M. A., Su, Y., Lei, Y., Mustafa, N. S. A., Ahmad, P. and Zhang, L. (2019). Improved drought tolerance by AMF inoculation in maize (*Zea mays*) involves physiological and biochemical implications. *Plants*, *8*(12), 579. https://doi.org/10.3390/plants8120579

Bhosale, K. and Shinde, B. (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 .

Chance, B. and Maehly, A. (1955). [136] Assay of catalases and peroxidases. In S. P. Colowick and N. O. Kaplan (Eds.), *Methods in Enzymology* (Vol. 2, pp. 764–775). Academic Press. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8

Chun, S. C., Paramasivan, M. and Chandrasekaran, M. (2018). Proline accumulation influenced by osmotic stress in arbuscular mycorrhizal symbiotic plants. *Frontiers in microbiology*, *9*, 2525. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02525

Davies, W. J., Tardieu, F. and Trejo, C. L. (1994). How do chemical signals work in plants that grow in drying soil? *Plant physiology*, *104*(2), 309–314. https://doi.org/10.1104/pp.104.2.309

Enebe, M. C. and Erasmus, M. (2023). Symbiosis—a perspective on the effects of host traits and environmental parameters in arbuscular mycorrhizal fungal richness, colonization and ecological functions. *Agriculture*, *13*(10), 1899. https://doi.org/10.3390/agriculture13101899

Evans, W. C.(2009). .*Trease and Evans' pharmacognosy*. Elsevier Health Sciences .

Foyer, C. H. and Harbinson, J. (2019). Oxygen metabolism and the regulation of photosynthetic electron transport. In *Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants* (pp. 1-42). CRC press .

Goicoechea, N., Antolin, M., Strnad, M. and Sánchez-Díaz, M. (1996). Root cytokinins, acid phosphatase and nodule activity in drought-stressed mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa plants. *Journal of Experimental Botany*, *47*(5), 683-686. https://doi.org/10.1093/jxb/47.5.683

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M. and Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, *9*(8), 681. https://doi.org/10.3390/antiox9080681

Jacobs, D. I., Snoeijer, W., Hallard, D. and Verpoorte, R. (2004). The Catharanthus alkaloids: pharmacognosy and biotechnology. *Current medicinal chemistry*, *11*(5), 607-628. https://doi.org/10.2174/0929867043455846

Khalvati, M., Hu, Y., Mozafar, A. and Schmidhalter, U. (2005). Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant biology*, *7*(06), 706-712. https://doi.org/10.1055/s-2005-872893

Khan, A. and Naz, H. (2024). Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in the Production of Medicinal Crops. In *Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Sustainable Agriculture: Nutrient and Crop Management* (pp. 363-379). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-97-0300-5_16

Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F. and Roldán, A. (2008). Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. *Functional Plant Biology*, *35*(2), 141-151. https://doi.org/10.1071/FP07230.

Kumar, T. S., Swaminathan, V. and Kumar, S. (2009). Influence of nitrogen, phosphorus and biofertilizers on growth, yield and essential oil constituents in ratoon crop of davana (*Artemisia pallens* Wall .(.

Mendonce, K. C., Palani, N., Rajadesingu, S., Radhakrishnan, K., Ayyar, M. and Priya, L. S. (2025). Pharmacological potential of bioactive compounds in *Catharanthus roseus* extract: A comprehensive review. *Toxicology Reports*, *14*, 101998. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2025.101998.

Paul, A., Acharya, K. and Chakraborty, N. (2023). Biosynthesis, extraction, detection and pharmacological attributes of vinblastine and vincristine, two important chemotherapeutic alkaloids of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don: A review. *South African Journal of Botany*, *161*, 365-376. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.09.012

Phillips, J. M. and Hayman, D. (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*(1), 158--161. https://doi.org/10.1016/S0007-1536 (70)80110-3

Porcel, R. and Ruiz-Lozano, J. M. (2004). Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, *55*(403), 1743-1750. https://doi.org/10.1093/jxb/erh188

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H. and Gautam, S. (2001). Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation. *Microbiological research*, *156*(2), 145-149. Azospirillum inoculation. *Microbiological research,* *156*(2), 145-149. https://doi.org/10.1078/0944-5013-00091

Sadasivam, S. (1996). Manickam. Biochemical Methods. *New Age Int. Pak J Bot*, *36*, 801-809.

Shamshiri, M., Mozafari, V., Sedaghati, E. and Bagheri, V. (2025). Response of petunia plants (*Petunia hybrida* cv. Mix) inoculated with *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* to phosphorous and drought stress. *Journal of agricultural science and technology*, *13*(6), 929-942.

Strain, H. H. and Svec, W .A. (1966). Extraction, separation, estimation, and isolation of the chlorophylls. In *The chlorophylls* (pp. 21-66). Elsevier.

Sun, D., Shang, X., Cao, H., Lee, S.-J., Wang, L., Gan, Y. and Feng, S. (2024). Physio-biochemical mechanisms of arbuscular mycorrhizal fungi enhancing plant resistance to abiotic stress. *Agriculture*, *14*(12), 2361. https://doi.org/10.3390/agriculture14122361

Tang, H., Hassan, M. U., Feng, L., Nawaz, M., Shah, A. N., Qari, S. H., Liu, Y. and Miao, J. (2022). The critical role of arbuscular mycorrhizal fungi to improve drought tolerance and nitrogen use efficiency in crops. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 919166. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.919166

Tennant, D. (1975). A test of a modified line intersect method of estimating root length. *The Journal of Ecology*, 995-1001. https://doi.org/10.2307/2258617

Thokchom, S. D., Gupta, S. and Kapoor, R.. (2023). An appraisal of arbuscular mycorrhiza-mediated augmentation in production of secondary metabolites in medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *37*, 100515. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2023.100515

Wang, Y., Zou, Y.-N., Shu, B. and Wu, Q.-S. (2023). Deciphering molecular mechanisms regarding enhanced drought tolerance in plants by arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*, *308*, 111591. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111591

Yu, J.-B., Bai, M., Wang, C., Wu, H. and Liang, X. (2024). Regulation of secondary metabolites accumulation in medicinal plants by rhizospheric and endophytic microorganisms. *Medicinal Plant Biology*, *3*(1). https://doi.org/10.48130/mpb-0024-0006

Zare-Maivan, H., Khanpour-Ardestani, N. and Ghanati, F. (2017). Influence of mycorrhizal fungi on growth, chlorophyll content, and potassium and magnesium uptake in maize. *Journal of plant Nutrition*, *40*(14), 2026-2032.

Zarezadeh, A., Kholdebarin, B., Moradshahi, A., Babakhanlou, P. and Rajaee, H. (2000). Changes in total alkaloid substances in Physalis alkekengi in response to nitrogenous fertilizer. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *5*(1), 61-112.

Zhao, Y., Cartabia, A., Lalaymia, I. and Declerck, S. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi and production of secondary metabolites in medicinal plants. *Mycorrhiza*, *32*(3), 221-256. https://doi.org/10.1007/s00572-022-01097-9