



Effect of Mycorrhizal Fungi and Phosphorus Fertilizer on Yield and Coumaric Acid Content of Bitter Gourd Fruit under Different Irrigation Regimes

Narges Dolatmand Shahri¹ | Seyed Ali Mohammad Modarres Sanavy^{2✉} | Mohammad Hossein Mirjalili³ | Ali Mokhtassi-Bidgoli⁴

1. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2. Corresponding author, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Email: modaresa@modares.ac.ir
3. Department of Agriculture, Medicinal Plant and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
4. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: May 24, 2023

Received in revised form: July 09, 2023

Accepted: July 13, 2023

Published online: December 22, 2023

Keywords:

Antioxidant enzymes,
bitter gourd,
fruit phenolic composition,
leaf ion leakage,
proline.

ABSTRACT

In order to investigate AMF and phosphorus fertilizer effects on bitter gourd under different irrigation regimes, an experiment was conducted in the research farm of the faculty of agriculture of Tarbiat Modares university in 2020 as a split factorial based on a randomized complete blocks design with three replications. Three irrigation regimes including full irrigation, moderate irrigation deficit, and severe irrigation deficit were randomized in the main plot units and the factorial combination of two species of fungi *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* along with control (without fungi) and an amount of phosphorus with a control without phosphorus was randomly placed in the sub-plot units. The results showed that under water deficit stress, fruit yield, total chlorophyll, leaf phosphorus, and colonization percentage decreased compared to full irrigation, and proline, MDA, leaf ion leakage, CAT and APX enzymes, and coumaric acid increased. The use of AMF and phosphorus fertilizer under full and low irrigation conditions reduced MDA and improved fruit yield and the other investigated plant traits. The highest fruit yield (3133.27 g.m⁻²) was allocated to the plants under inoculation with *Glomus mosseae* species and phosphorus application under full irrigation regime. The highest amount of fruit coumaric acid (almost 11 ppm) was observed in inoculated plants with *Glomus mosseae* species and application and non-application of phosphorus fertilizer under severe irrigation deficit. According to the obtained results, it is possible to suggest the use of two species of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* and sufficient phosphorus element to improve the yield and quality of bitter gourd fruit under water deficit stress and full irrigation.

Cite this article: Dolatmand Shahri, N., Modarres Sanavy, A.M., Mirjalili, M.H., & Mokhtassi Bidgoli, A. (2023). Effect of mycorrhizal fungi and phosphorus fertilizer on yield and coumaric acid content of bitter gourd fruit under different irrigation regimes. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 54(4), 119-136. DOI: 10.22059/ijfcs.2023.359611.655005.





انتشارات دانشگاه تهران

علوم گیاهان زراعی ایران

Homepage: <https://ijfcs.ut.ac.ir/>

شاپا الکترونیکی: ۸۰۸۲-۲۴۲۳

اثر قارچ مایکوریزا و کود فسفر بر عملکرد و مقدار کوماریک اسید میوه خیار تلخ تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

نرگس دولت‌مند شهری^۱ سید علی محمد مدرس ثانوی^۲ | محمد حسین میرجلیلی^۳ علی مختصی بیدگلی^۴

۱. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: modaresa@modares.ac.ir

۳. گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

۴. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	به منظور بررسی تاثیر قارچ مایکوریزا و کود فسفر بر گیاه خیار تلخ تحت رژیم‌های مختلف آبیاری، آزمایشی در سال ۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به صورت اسپلیت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. سه رژیم آبیاری شامل آبیاری کامل، کم آبیاری متوسط و کم آبیاری شدید در کرت‌های اصلی و ترکیب فاکتوریل دو گونه قارچ <i>Glomus intraradices</i> و <i>Glomus mosseae</i> همراه با شاهد (بدون قارچ) و یک میزان فسفر به همراه شاهد بدون فسفر در کرت‌های فرعی به صورت تصادفی قرار گرفت. نتایج نشان داد تحت تنش کم آبیاری عملکرد میوه، کلروفیل کل، فسفر برگ و درصد کلونیزاسیون نسبت به آبیاری کامل کاهش و پرولین، مالون‌دی‌آلدهید، نشت یونی برگ، آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و کوماریک اسید میوه افزایش داشت. کاربرد قارچ‌های مایکوریزا و کود فسفر در شرایط کم آبیاری و آبیاری کامل باعث کاهش مالون‌دی‌آلدهید و بهبود عملکرد میوه و سایر صفات شد. بیشترین عملکرد میوه (۳۱۳۳/۲۷ گرم بر متر مربع) به بوته‌های تحت تلقیح با گونه <i>Glomus mosseae</i> و کاربرد فسفر در شرایط آبیاری کامل اختصاص داشت. بیشترین مقدار کوماریک اسید میوه (تقریباً ۱۱ پی‌پی‌ام) مربوط به بوته‌های تحت تلقیح با گونه <i>Glomus mosseae</i> در شرایط مصرف و عدم مصرف کود فسفر تحت شرایط کم آبیاری شدید بود. طبق نتایج به دست آمده می‌توان کاربرد دو گونه <i>Glomus intraradices</i> و <i>Glomus mosseae</i> و عنصر فسفر کافی را جهت بهبود عملکرد و کیفیت میوه خیار تلخ تحت تنش کم آبیاری و آبیاری کامل پیشنهاد کرد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۳	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۱۸	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۲	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱	
کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، ترکیب فنولیک میوه، خیار تلخ، نشت یونی برگ.	

استناد: دولت‌مند شهری، ن.، مدرس ثانوی، ع.م.، میرجلیلی، م.ح.، و مختصی بیدگلی، ع. (۱۴۰۲). اثر قارچ مایکوریزا و کود فسفر بر عملکرد و مقدار کوماریک اسید میوه خیار تلخ تحت رژیم‌های مختلف آبیاری. *علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۴(۴)، ۱۱۹-۱۳۶. DOI: 10.22059/ijfcs.2023.359611.655005



© نویسنندگان

ناشر: موسسه انتشارات دانشگاه تهران.

۱. مقدمه

در اکوسیستم‌های خاکی، گیاهان اغلب در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند. خشکی، یکی از تنش‌های غیر زیستی مهم است و زمانی رخ می‌دهد که پتانسیل آب و تورگر به حدی کاهش می‌یابد که عملکرد متابولیک‌های طبیعی و ظرفیت تولید مثلی گیاه را مختل می‌کند (Ahmad *et al.*, 2014). هنگامی که گیاهان در معرض کمبود آب قرار می‌گیرند، تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی بسیار پیچیده‌ای را تجربه می‌کنند (Sofy *et al.*, 2021; McDowell *et al.*, 2022). باین‌حال، گیاهان مجموعه‌ای از مکانیسم‌ها را برای مقاومت در برابر اثرات نامطلوب تنش خشکی در سطوح سلولی، بافتی و کل گیاه ایجاد کرده‌اند که ممکن است تفاوت‌هایی را در مورفولوژی، سرعت رشد، پتانسیل نفوذ بافت، پاسخ آنتی‌اکسیدانی و تنظیم هورمونی داشته باشند (Duan *et al.*, 2007). گیاهان علاوه بر برخورداری از سیستم‌های داخلی که آن‌ها را از تنش‌های زیستی و غیر زیستی محافظت می‌کند، می‌توانند روابط مفیدی با برخی از میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر برقرار کنند (Jatav *et al.*, 2021) و خسارت‌های ناشی از تنش خشکی را کاهش دهند. در این میان، همزیستی قارچ‌های مایکوریزی آربوسکولار (AMF¹) یک راه مؤثر برای کمک به گیاهان خشکی‌زی جهت زنده ماندن در شرایط نامطلوب است. شبکه هیف‌های خارجی مایکوریزا می‌تواند به طور قابل توجهی جذب آب و مواد مغذی (Verbruggen *et al.*, 2013)، بهبود فتوسنتز (Ruiz-Sanchez *et al.*, 2010) و تنظیم فرآیندهای متابولیک (Herrera-Medina *et al.*, 2007) را برای افزایش تحمل به خشکی گیاهان میزبان افزایش دهد. کارایی قارچ‌های مایکوریزا به نوع خاک، میزان فسفر خاک (Ortas, 2012) و نوع گونه‌های مایکوریزا (Kafkas & Ortas, 2009) بستگی دارد. فسفر مؤثرترین عنصر در توسعه و کارایی مایکوریزا است (Ortas, 2012). در پژوهشی روی خربزه (*Cucumis melo* L.)، مایکوریزا باعث بهبود پارامترهای فیزیولوژیکی و فتوسنتزی گیاهان تلقیح‌شده در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده در شرایط کم‌آبی شد (Cakmakci *et al.*, 2017). همچنین گزارش شده است که AMF به طور قابل توجهی باعث افزایش ترکیبات فنولی و تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در تحمل به تنش خشکی می‌شود (Begum *et al.*, 2019).

گیاهان خانواده کدوئیان به دلیل رشد سریع به‌ویژه در مرحله گیاهچه‌ای و داشتن برگ‌های بزرگ و سیستم ریشه‌ای سطحی به مقدار زیادی آب برای رشد و نمو نیاز دارند. بنابراین، تغییرات جزئی در محتوای رطوبت خاک اثرات سوء قابل ملاحظه‌ای بر رشد و عملکرد آنها دارد (An & Liang, 2013). خیار تلخ یا کارلا (*Momordica charantia*) گیاهی گرمسیری، تک‌پایه، یکساله، علفی و از خانواده کدوئیان (Cucurbitaceae) است که خاصیت دارویی فراوانی دارد (Mahmood *et al.*, 2019). بخش دارویی این گیاه شامل میوه و برگ‌ها بوده که حاوی بیش از ۳۴ ترکیب دارویی، کربوهیدرات‌ها، انواع پروتئین‌ها، فیبرها، ویتامین‌ها (شامل ویتامین C، A، E، B1، B2، B3، B9) و مواد معدنی (پتاسیم، کلسیم، منیزیم، روی، فسفر و آهن) می‌باشد (Sur & Ray, 2020). کوماریک اسید یک متابولیت ثانویه متعلق به ترکیبات فنلی در گیاهان و قارچ‌ها است که اثرات فارماکولوژی قوی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد التهابی، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، ضد سرطان، ضد جهش‌زایی، ضد دیابت و ضد چربی خون دارد (Pei *et al.*, 2016; Boo, 2019). کوماریک اسید یک پیش‌ساز مهم برای اسیدهای فنولیک (Li *et al.*, 2018)، فلاونوئیدها (Caverzan *et al.*, 2012) و استیلین‌ها (Raja *et al.*, 2017) می‌باشد. کافئیک اسید (Zou *et al.*, 2018)، کلروژنیک اسید (Ruelland *et al.*, 2009)، رزمارینیک اسید (Theocharis *et al.*, 2012) و فن‌اتیل استر کافئیک اسید (Dhillon *et al.*, 2017) از مشتقات کوماریک اسید هستند که ارزش دارویی بالایی دارند.

با وجود اینکه مطالعات زیادی در زمینه استفاده از قارچ‌های مایکوریزا و کودهای فسفر بر خصوصیات رشدی و کیفیت گیاهان زراعی و باغی صورت گرفته است، اما هیچ مطالعه‌ای در زمینه توانایی قارچ‌های مایکوریزا و کودهای فسفر بر بهبود رشد و ترکیبات فنولیک میوه گیاه خیار تلخ تحت تنش خشکی صورت نگرفته است. بنابراین با توجه به اهمیت موضوع و ضرورت بکارگیری راهکارهای زیستی برای تولید بهینه گیاهان دارویی و همچنین کاهش اثرات تنش کم‌آبی، آزمایشی با هدف بررسی اثر تلقیح دو گونه قارچ مایکوریزا و کود فسفر بر عملکرد و تغییرات کوماریک اسید میوه خیار تلخ تحت تنش رژیم‌های مختلف آبیاری صورت گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مشخصات محل آزمایش

به منظور بررسی اثر دو گونه قارچ مایکوریزا و کود فسفر بر صفات فیزیولوژیک، عملکرد و مقدار کوماریک اسید میوه خیار تلخ (*Momordica charantia*) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری، آزمایشی در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس اجرا شد. ارتفاع محل آزمایش از سطح دریا ۱۲۱۵ متر با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۳ دقیقه شمالی می‌باشد. میانگین بارندگی و دمای سالانه در طولانی مدت (۳۰ سال) به ترتیب ۲۳۲/۶ میلی‌متر و ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. قبل از شروع آزمایش، به منظور بررسی خصوصیات فیزیوشیمیایی خاک، در عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری، از چند نقطه زمین به صورت زیگزگی نمونه‌برداری انجام شد و پس از ترکیب نمونه‌ها با یکدیگر، نمونه مرکبی تهیه و به آزمایشگاه خاک‌شناسی جهت ارزیابی خصوصیات منتقل شد. نتایج آزمون خاک در جدول ۱ ارائه شده است. بافت خاک محل آزمایش لومی‌شنی بود.

جدول ۱. خصوصیات فیزیوشیمیایی خاک محل آزمایش.

Mn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	PWP (%)	FC (%)	pH	Ec (dS/m)	OC (%)	K (mg/kg)	P (mg/k)	N (%)	Depth (cm)
9.33	2.59	7.6	18.3	7.86	1.16	0.878	355	18.3	0.092	0-30

۲-۲. طرح آزمایشی

این تحقیق به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عوامل آزمایش شامل سه رژیم آبیاری: آبیاری کامل (I1) (قطع آبیاری تا تخلیه ۲۰ درصد آب قابل استفاده موجود در منطقه ریشه و سپس آبیاری تا حد ظرفیت زراعی)، کم‌آبیاری متوسط (I2) (قطع آبیاری تا تخلیه ۵۰ درصد آب قابل استفاده موجود در منطقه ریشه و سپس آبیاری تا حد ظرفیت زراعی) و کم‌آبیاری شدید (I3) (قطع آبیاری تا تخلیه ۸۰ درصد آب قابل استفاده موجود در منطقه ریشه و سپس آبیاری تا حد ظرفیت زراعی) در کرت‌های اصلی و ترکیب فاکتوریل دو گونه قارچ (*Glomus mosseae* (M1) و *Glomus intraradices* (M2)) همراه با شاهد بدون قارچ (M0) و کاربرد کود فسفر (P1) به همراه شاهد بدون فسفر (P0) در کرت‌های فرعی به صورت تصادفی قرار گرفت. مقدار کود فسفر بر اساس تجزیه خاک و همچنین نیاز خیار تلخ به کود فسفر در طی رشد، تعیین شد.

۲-۳. اعمال تیمارها

به منظور تولید نشاء برای کشت در زمین اصلی، ابتدا بذرها را خیار تلخ تهیه شده از پاکان بذر اصفهان با منشاء پاکستانی به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شد. سپس در سینی‌های نشاء ۴۵ تایی حاوی ترکیب کوکوپیت و پرلیت قرار گرفته و به صورت روزانه آبیاری شدند. بعد از گذشت ۱۰ تا ۱۵ روز از کاشت و در مرحله سه تا چهار برگی، نشاءها به زمین اصلی منتقل شدند. قبل از انتقال به زمین اصلی و در طی مدت رشد نشاء پس از سبز شدن اولین برگ از کود NPK با نسبت ۲۰:۲۰:۲۰ برای تقویت نشاءها همراه با آب آبیاری استفاده شد. قطعه زمین مورد نظر در پاییز سال قبل توسط گاو آهن برگردان دار شخم و برای نرم کردن کلوخه‌ها دوبار دیسک زده شد و سپس تسطیح شد. در بهار سال بعد، قبل از کشت، زمین با فاصله یک متر فاروبندی شد. وقتی حداقل دما به بالاتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد رسید (۲۰ اردیبهشت) نشاءها به زمین اصلی منتقل شدند.

کرت‌های آزمایشی دارای ابعادی معادل ۱۲ متر مربع (سه در چهار متر) با چهار خط کشت با فاصله یک متر و فاصله روی ردیف ۶۰ سانتی‌متر بودند. برای خاک‌های سبک با درصد رس کم مقدار کود مورد نیاز برای خیار تلخ ۱۸۴ کیلوگرم نیتروژن خالص، ۱۱۲ کیلوگرم فسفر خالص و ۱۲۴ کیلوگرم پتاسیم خالص در هکتار توصیه می‌شود. با توجه به آزمایش‌های تجزیه خاک و نیاز خیار تلخ به کود نیتروژنی مقدار ۳۱۸ کیلوگرم در هکتار کود اوره مصرف شد؛ به این صورت که نیمی از کود اوره مورد نیاز در گودال‌های کاشت به صورت زیر نشایی به زمین اضافه شد و نیمی دیگر در زمان گلدهی به خاک اضافه شد.

بر اساس نتایج آزمون خاک و نیاز خیار تلخ به کود فسفر مقدار ۱۶۲ کیلوگرم در هکتار کود سوپرفسفات تریپل (۷۴/۵۲) کیلوگرم در هکتار فسفر خالص) بر اساس تیمارهای مورد نظر به خاک اضافه شد. تمامی کود فسفر قبل از کشت همراه با کود نیتروژن به

چاله‌های کشت اضافه و مقدار کمی خاک روی کودها ریخته شد. مقدار کود فسفر طبق تیمارهای کودی ۹/۷۲ گرم برای هر بوته در نظر گرفته شد. باتوجه به غنی بودن خاک از پتاس هیچ گونه کود پتاسی به خاک اضافه نشد.

جهت تلقیح با قارچ، ریشه نشاها در خاک حاوی اسپور قارچ مایکوریزایی (هر گرم خاک مایکوریزایی حاوی ۵۰ عدد اسپور زنده) آغشته شده و در داخل هر چاله بر اساس تیمار مورد نظر کشت شد. پس از کاشت گیاه تا قبل از استقرار گیاه، آبیاری روزانه و به صورت قطره‌ای (توسط تیپ‌های با فواصل منفذ ۲۰ سانتی‌متر و قطر داخلی ۱۶/۵ میلی‌متر) و بر اساس نیاز گیاه انجام شد و پس از آن آبیاری به وسیله اعداد قرائت شده از TDR طبق تیمارهای آبیاری تا آخر فصل رشد انجام گرفت. کنترل علف‌های هرز بدون استفاده از علف‌کش‌ها و به صورت وجین دستی در طی فصل رشد انجام شد.

در آزمایشگاه میزان رطوبت وزنی و درصد رطوبت حجمی اندازه‌گیری و درصد آب قابل استفاده (D) بر اساس معادله (۱) تعیین (Martin et al., 1990) و سپس با استفاده از معادله (۲) درصد تخلیه آب قابل استفاده محاسبه شد.

$$D (\%) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{FCi - \theta i}{FCi - Wp} \times 100 \quad (1) \text{ معادله}$$

$$(\%) = 100 - D \quad (2) \text{ معادله}$$

n: تعداد نمونه خاک گرفته شده از عمق مؤثر توسعه ریشه، FCi: رطوبت خاک در ظرفیت مزرعه (پتانسیل رطوبتی معادل ۱۶ درصد وزنی و ۲۲/۵۶ درصد حجمی قرائت شده توسط دستگاه TDR) در نمونه i ام، θi : رطوبت خاک در نمونه i ام و Wp : رطوبت خاک در نقطه پژمردگی دائم (پتانسیل رطوبتی معادل ۶/۷۸ درصد وزنی و ۹/۵۶ درصد حجمی قرائت شده توسط دستگاه TDR) می‌باشد. از مقایسه رطوبت‌های اندازه‌گیری شده به وسیله حسگرها با روش نمونه برداری و توزین، اعتبارسنجی صورت گرفت (Vanclouster et al., 1994). حجم آب مصرفی در این تحقیق در طول فصل رشد خیار تلخ در شرایط آبیاری کامل با تعداد ۳۹ دفعه آبیاری ۱۳۱۰۴ لیتر، در شرایط کم آبیاری متوسط با ۲۶ دفعه آبیاری ۱۲۴۸۰ لیتر و در شرایط کم آبیاری شدید با ۱۳ دفعه آبیاری ۷۴۸۸ لیتر بود.

۲-۴-۲. اندازه‌گیری صفات مورد بررسی

۲-۴-۱-۱. کلروفیل کل

کلروفیل کل بر اساس روش Arnon (1967) و اصلاح شده Lichenthaler (1987) با استفاده از عصاره استونی برگ تازه (۰/۲ گرم برگ تازه فریز شده با ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و سانتریفوژ شد) در طول موج‌های ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Varian Cary Win UV 6000i, Australia) قرائت شده و طبق معادله (۳) محاسبه شد.

$$\text{معادله (۳)} = 7.15 A_{663.2} + 18.71 A_{646.8} = \text{کلروفیل کل}$$

۲-۴-۲-۲. نشت یونی برگ

به منظور تعیین نشت یونی برگ، ۰/۳ گرم از بافت تازه برگ در دو مرحله با آب دوبار تقطیر شده شستشو شد. بعد از خرد کردن، نمونه‌ها در فالكون حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر گذاشته و پس از آن توسط دستگاه EC متر نشت یونی محلول (L_1) اندازه‌گیری شد. در مرحله‌ی بعد به نمونه‌ها ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. در نهایت نشت یونی محلول (L_2) بعد از به تعادل رسیدن با دمای محیط اندازه‌گیری و میزان نشت یونی از معادله (۴) محاسبه شد (Lutts et al., 1996).

$$EL (\%) = (L_1/L_2) \times 100 \quad (4) \text{ معادله}$$

۲-۴-۳. مالون‌دی‌آلدهید و پرولین

جهت تعیین مقدار مالون‌دی‌آلدهید برگ از روش Heath & Packer (1968) و برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates et al. (1973) استفاده شد.

۴-۴-۲. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

۰/۲ گرم از بافت گیاهی تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار، pH=۷ در دمای ۴-۰ درجه سانتی‌گراد سائیده و عصاره‌گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Cakmak & Horst (1991) انجام شد. بر این اساس از عصاره آماده شده در مرحله قبل برای سنجش فعالیت کاتالاز استفاده شد. محلول واکنش شامل عصاره آنزیمی، بافر و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۱۰ میلی‌مولار بود. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر پیگیری و به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد. جهت تعیین فعالیت آسکوربات پراکسیداز، کمپلکس واکنشی (یک میلی‌لیتر) شامل ۲۵۰ میکرولیتر از محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر از آسکوربات یک میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۴ میلی‌مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر شده، ۱۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. جذب واکنش آنزیمی در طول موج ۲۹۰ نانومتر در زمان شروع و پس از یک دقیقه از شروع واکنش قرائت شد. واحد فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات اکسید شده بر دقیقه محاسبه شد (Yoshimura *et al.*, 2000).

۴-۴-۵. فسفر

جهت اندازه‌گیری فسفر، نمونه‌های برگ برداشت شده تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد طی ۷۲ ساعت خشک شد و با استفاده از یک آسیاب و بیبراتور پودر و از غربال یک میلی‌متری عبور داده شد. سپس از هر نمونه دو گرم توزین و با ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک یک نرمال در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و آماده‌سازی شد. برای اندازه‌گیری غلظت فسفر از یون‌های ارتوفسفات در محیط اسیدی با محلول وانادات مولیبدات که کمپلکس زرد رنگ فسفوانادات مولیبدات را تشکیل می‌دهد استفاده شد، حداکثر جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر قرائت شد (Chapman & Pratt, 1962).

۴-۴-۶. کلونیزاسیون ریشه

برای تعیین درصد همزیستی قارچ‌ها با ریشه گیاه خیار تلخ، ابتدا از ریشه بوته‌های موجود از هر کرت در زمان رسیدگی کامل نمونه برداری و با استفاده از روش Phillips & Hayman (1970) ریشه‌ها رنگ‌آمیزی شدند. برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه از روش تلاقی خطوط مشبک استفاده شد.

۴-۴-۷. عملکرد میوه

به منظور تعیین عملکرد نهایی، در طول آزمایش تعداد میوه شمارش و وزن میوه هر بار پس از برداشت توسط ترازوی دیجیتالی مدل A&D ساخت کشور ژاپن با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و ثبت شد. در نهایت وزن هر مرحله با هم جمع و به‌عنوان وزن نهایی میوه در بوته ثبت و سپس نسبت به هکتار محاسبه شد.

۴-۴-۸. کوماریک اسید میوه

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی میوه از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. برای این منظور ۲۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده از میوه خشک به HPLC مدل KNAUER-Germany تزریق شد (Aleksandra *et al.*, 2011).

۴-۴-۹. محاسبات آماری

از نرم‌افزار SAS 9.2 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، تست نرمال بودن داده‌ها انجام و پس از اطمینان از حالت توزیع نرمال، نسبت به تجزیه و تحلیل آن‌ها اقدام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن (۵٪) انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office 2013 استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

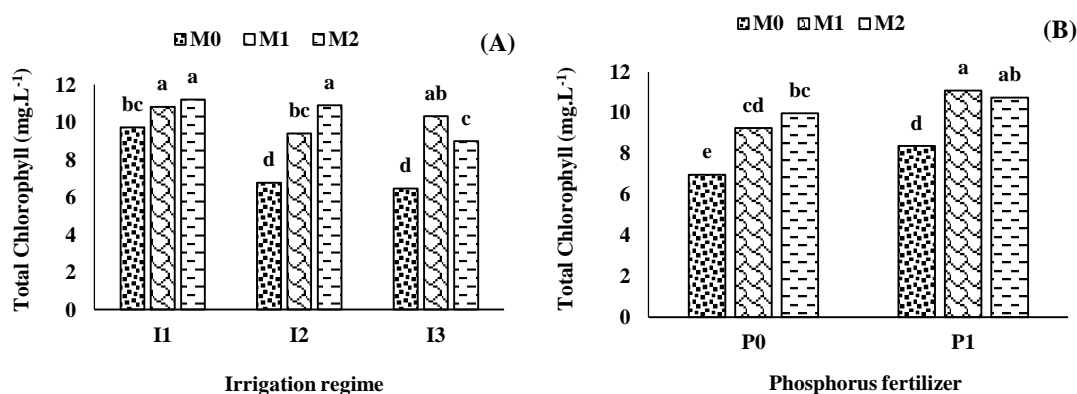
۳-۱. کلروفیل کل

باتوجه به نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها، مقدار کلروفیل کل برگ به‌طور معنی‌داری تحت اثرات اصلی رژیم آبیاری، کود فسفر،

قارچ مایکوریزا و اثرات متقابل دوگانه آبیاری در مایکوریزا ($p < 0.01$) و کود فسفر در مایکوریزا ($p < 0.05$) قرار گرفت؛ اما تغییر معنی‌داری نسبت به دیگر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه نداشت (جدول ۲).

طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه رژیم آبیاری در قارچ مایکوریزا، در هر دو شرایط تلقیح و عدم تلقیح قارچ مایکوریزا با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری شدید مقدار کلروفیل کل روندی کاهشی داشت و این کاهش تحت عدم تلقیح و تلقیح توسط گونه *Glomus intraradices* در کم آبیاری شدید نسبت به آبیاری کامل معنی‌دار بود. با تلقیح توسط گونه *Glomus mosseae* نیز با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری متوسط مقدار کلروفیل کل نسبت به آبیاری کامل کاهش معنی‌داری داشت؛ اما با کاهش بیشتر آبیاری تا سطح کم آبیاری شدید کاهش جزئی غیر معنی‌داری نسبت به آبیاری کامل نشان داد. نتایج همچنین نشان داد در هر سطح آبیاری تحت تلقیح هر دو گونه قارچ کاربردی مقدار کلروفیل کل نسبت به عدم تلقیح افزایش معنی‌داری داشت و در شرایط کم آبیاری متوسط گونه *Glomus intraradices* و تحت شرایط کم آبیاری شدید گونه *Glomus mosseae* بیشترین تأثیر را بر کلروفیل کل داشت (شکل ۱A). اختلاف معنی‌دار دو گونه در هر دو شرایط کم آبیاری متوسط و شدید می‌تواند به دلیل اختلاف در همزیستی گونه‌ها در هر دو شرایط آبیاری با گیاه میزبان بوده باشد که باعث اختلاف در جذب آب و عناصر غذایی و در نتیجه مقدار کلروفیل برگ شده است.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه کود فسفر در قارچ مایکوریزا، در شرایط عدم تلقیح و تلقیح توسط دو گونه قارچ مایکوریزا، با کاربرد کود فسفر مقدار کلروفیل کل افزایش یافت و این افزایش فقط تحت گونه *Glomus intraradices* غیر معنی‌دار بود. در هر دو سطح کود فسفر نیز هر دو گونه قارچ مایکوریزا اثر افزایشی معنی‌داری نسبت به عدم تلقیح بر کلروفیل کل داشتند. بیشترین مقدار کلروفیل کل نیز به بوته‌های تحت تلقیح با گونه *Glomus mosseae* در شرایط مصرف کود فسفر اختصاص داشت (شکل ۱B).



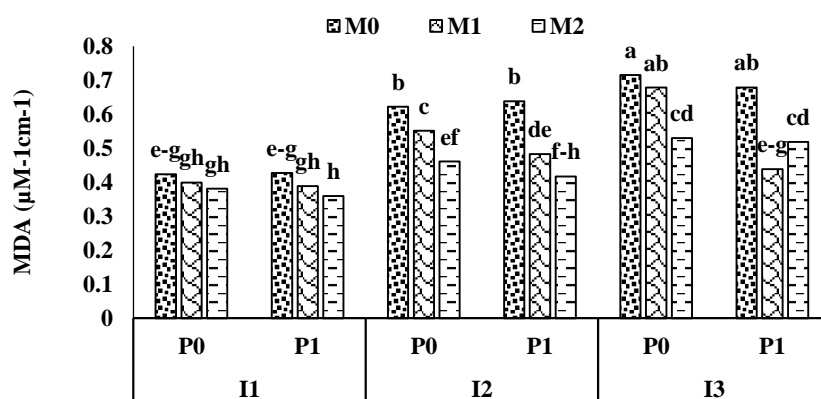
شکل ۱. مقایسه میانگین تغییرات کلروفیل کل برگ خیار تلخ تحت اثرات متقابل رژیم آبیاری قارچ مایکوریزا (A) و کود فسفر قارچ مایکوریزا (B). P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae*، و M2: *Glomus intraradices*

تنش خشکی با القای تولید ROS^۱ باعث آسیب اکسیداتیو و تخریب غشای سلولی می‌شود که کاهش مقدار کلروفیل برگ را به دنبال دارد. طبق یافته‌های Maluleke (2022) مقدار کلروفیل خیار تحت کم آبیاری شدید کاهش قابل توجهی نسبت به کم آبیاری متوسط و آبیاری مطلوب نشان داد که با نتایج حاصل از این بررسی مبنی بر کاهش مقدار کلروفیل تحت تنش کم آبیاری مطابقت دارد. نتایج بررسی حاضر نشان داد در هر سطح آبیاری، تلقیح توسط قارچ‌های مایکوریزا اثر افزایشی معنی‌داری بر مقدار کلروفیل برگ داشت (شکل ۱A). به نظر می‌رسد قارچ‌های AMF با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه کاهش ROS از تخریب غشای سلول و تجزیه کلروفیل جلوگیری کرده (Begum et al., 2019) و از طرف دیگر با تنظیم فعالیت آنزیم کلروپلاست

باعث سنتز کلروفیل در برگ می‌شوند. در بررسی‌هایی روی کدوی پوست‌کاغذی مقدار کلروفیل کل برگ با کاهش آبیاری کاهش و تحت تلقیح توسط قارچ‌های میکوریزا در هر سطح آبیاری افزایش داشت؛ اما این افزایش در شرایط کم‌آبیاری متوسط و شدید نسبت به عدم تلقیح معنی‌دار بود (Nazari Nasi et al., 2018).

۲-۳. مالون‌دی‌آلدهید

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای مالون‌دی‌آلدهید برگ به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت اثرات اصلی رژیم آبیاری، کود فسفر، قارچ میکوریزا و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه این عوامل قرار گرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه عوامل مورد بررسی نشان داد با کاهش آبیاری تا سطح کم‌آبیاری متوسط و شدید مقدار مالون‌دی‌آلدهید برگ روند افزایشی معنی‌داری نسبت به آبیاری کامل داشت. نتایج همچنین نشان داد در هر سطح آبیاری و در هر تیمار از کود فسفر تلقیح دو گونه قارچ میکوریزا اثری کاهش بر مقدار مالون‌دی‌آلدهید برگ داشت. طبق نتایج به‌دست‌آمده در شرایط کم‌آبیاری متوسط تحت کاربرد کود فسفر با تلقیح دو گونه قارچ میکوریزا مقدار مالون‌دی‌آلدهید کاهش معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد میکوریزا نشان داد؛ اما این کاهش در شرایط آبیاری کامل معنی‌دار نبود. در شرایط کم‌آبیاری شدید نیز با کاربرد کود فسفر مقدار مالون‌دی‌آلدهید کاهش داشت و این کاهش فقط تحت تلقیح با گونه *Glomus mosseae* قابل توجه و معنی‌دار بود. بیشترین مقدار مالون‌دی‌آلدهید به بوته‌های تلقیح‌نشده و عدم کاربرد کود فسفر در شرایط کم‌آبیاری شدید اختصاص داشت (شکل ۲).



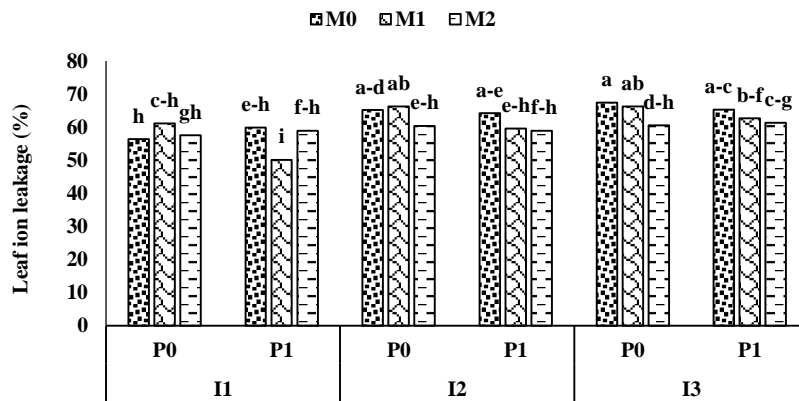
شکل ۲. مقایسه میانگین تغییرات مالون‌دی‌آلدهید برگ خیار تلخ تحت اثر متقابل رژیم آبیاری × کود فسفر × قارچ میکوریزا. P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم‌آبیاری متوسط، I3: تنش کم‌آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae*، M2: *Glomus intraradices*.

مالون‌دی‌آلدهید (MDA) شاخصی مهم برای آسیب به غشاء است. نتایج بررسی ما نشان داد که با کاهش آبیاری به دلیل تخریب غشای سلولی مقدار مالون‌دی‌آلدهید برگ خیار تلخ افزایش داشت؛ ولی در هر سطح آبیاری تلقیح توسط قارچ میکوریزا و مصرف کود فسفر باعث کاهش مالون‌دی‌آلدهید برگ شد (شکل ۲). به‌نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزا آرسکولار از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (شکل ۵) و آسکوربات‌پراکسیداز (شکل ۶) باعث کاهش تولید ROS و تخریب غشاء و کاهش مقدار MDA برگ شده‌اند. طبق یافته‌های Ahmad et al. (2018) در خیار، تحت تلقیح با قارچ میکوریزا گونه *Glomus versiforme* فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و POD افزایش و مقدار MDA نسبت به عدم تلقیح کاهش داشت. در مطالعات دیگری محققان نشان دادند که تلقیح با قارچ‌های میکوریزا آرسکولار باعث کاهش معنی‌دار محتوای MDA در گیاهان تحت تنش خشکی متوسط و شدید شد (Chandrasekaran, 2022).

۳-۳. نشت یونی برگ

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها، نشت یونی برگ به‌طور معنی‌داری تحت اثرات اصلی رژیم آبیاری ($p < 0.05$)، کود فسفر، قارچ میکوریزا ($p < 0.01$) و اثرات متقابل دوگانه آبیاری (بجز رژیم آبیاری در کود فسفر) و سه‌گانه ($p < 0.05$) قرار گرفت (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه فاکتورهای آزمایشی، کمترین نشت یونی برگ (۵۰/۰۵ درصد) به بوته‌های

تحت تلقیح توسط گونه *Glomus mosseae* در شرایط آبیاری کامل و مصرف کود فسفر اختصاص داشت. نتایج نشان داد در شرایط عدم کاربرد و کاربرد کود فسفر، با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری شدید نشت یونی برگ تحت عدم تلقیح و تلقیح توسط گونه *Glomus mosseae* افزایش معنی‌دار و تحت گونه *Glomus intraradices* افزایش غیر معنی‌داری نسبت به آبیاری کامل داشت. نتایج نشان داد در شرایط کم آبیاری متوسط و شدید گونه *Glomus intraradices* بیشترین تأثیر را بر پایداری غشای سلول تحت مصرف و عدم مصرف کود فسفر داشت؛ به طوری که باعث کاهش معنی‌دار نشت یونی برگ نسبت به عدم تلقیح شد. تحت شرایط آبیاری کامل در شرایط مصرف کود فسفر فقط گونه *Glomus mosseae* باعث کاهش معنی‌داری نشت یونی برگ نسبت به عدم تلقیح شد (شکل ۳).

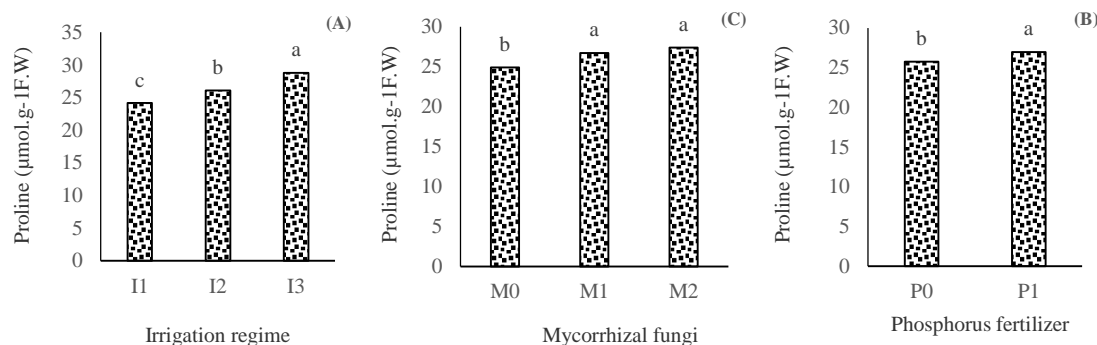


شکل ۳. مقایسه میانگین تغییرات نشت یونی برگ خیار تلخ تحت اثر متقابل رژیم آبیاری × کود فسفر × قارچ مایکوریزا. P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae* و M2: *Glomus intraradices*.

اندازه‌گیری نشت الکتروولت سلول‌های گیاهی روشی مناسب برای ارزیابی پایداری غشاء در اثر تنش‌های محیطی مانند تنش کم آبی است؛ زیرا تنش خشکی پایداری غشاء سلول را کاهش داده و نشت یون‌ها را به خارج از سلول افزایش می‌دهد (El Basyoni *et al.*, 2017). محققان در یک بررسی نشان دادند که قارچ مایکوریزا با افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و افزایش جذب عناصری همچون فسفر و کلسیم باعث استحکام دیواره سلولی و کاهش نشت یونی در شرایط تنش می‌شود (Goss *et al.*, 2017). این نتایج تأییدکننده پژوهش حاضر است. در یک بررسی محققان نشان دادند که تحت تلقیح توسط قارچ‌های مایکوریزا آریسکولار، نشت یونی برگ کاهش قابل توجهی نسبت به عدم تلقیح داشت (Chandrasekaran, 2022). در بررسی دیگری بر سویا گیاهان تلقیح‌شده با مایکوریزا آریسکولار کاهش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش نشت یونی را تحت تنش خشکی نشان دادند (Begum *et al.*, 2023).

۳-۴. پرولین

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای پرولین برگ به‌طور معنی‌داری تحت اثرات اصلی رژیم آبیاری، کود فسفر و قارچ مایکوریزا قرار گرفت؛ اما تغییر معنی‌داری نسبت به اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه این عوامل نداشت (جدول ۲). طبق نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری متوسط و شدید مقدار پرولین برگ نسبت به آبیاری کامل به ترتیب افزایش ۷/۳۹ و ۱۶/۱۴ درصدی و معنی‌داری داشت (شکل ۴A). با کاربرد کود فسفر نیز مقدار پرولین برگ افزایش ۴/۵۰ درصدی و معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد داشت (شکل ۴B). نتایج نشان داد تحت تلقیح توسط هر دو گونه *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* مقدار پرولین برگ نسبت به عدم تلقیح افزایش معنی‌داری داشت؛ اما بین دو گونه تفاوت معنی‌داری بر این صفت مشاهده نشد (شکل ۴C).



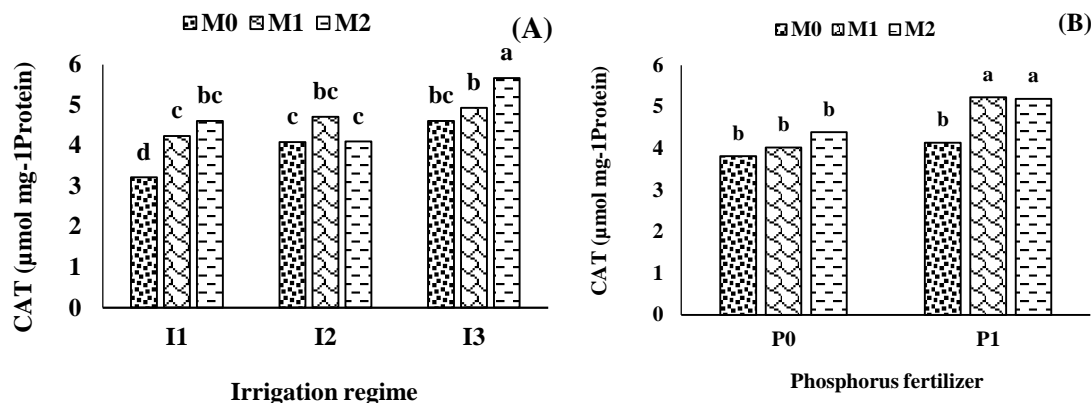
شکل ۴. مقایسه میانگین تغییرات پرولین برگ خیار تلخ تحت رژیم‌های مختلف آبیاری (A)، کود فسفر (B) و تلقیح با قارچ میکوریزا (C). P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم‌آبیاری متوسط، I3: تنش کم‌آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae*، و M2: *Glomus intraradices*

تنظیم اسمزی یکی از سازوکارهای مهم در پاسخ به تنش‌های محیطی است که نوعی سازگاری به تنش کمبود آب می‌باشد و از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها، می‌تواند به حفظ تورژانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین آب منجر شود. پرولین یک محافظ اسمزی حیاتی می‌باشد که مسئول تنظیم اسمزی، خاموش کردن ROS و حفظ تعادل ردوکس تحت تنش‌های غیر زیستی است (Hidangmayum & Dwivedi, 2018). براساس نتایج بررسی حاضر مقدار و پرولین برگ تحت تنش خشکی، تلقیح توسط دو گونه قارچ میکوریزا و مصرف کود فسفر افزایش داشت. در بررسی‌های Begum *et al.* (2019) قارچ‌های AMF باعث افزایش مقدار پرولین در شرایط تنش خشکی شدند که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. طبق یافته‌های Razavi *et al.* (2022) مقدار پرولین برگ سه ژنوتیپ رازیانه (*Foeniculum vulgare*) تحت تنش خشکی افزایش ۳۶ درصدی نشان داد. در بررسی دیگری تلقیح توسط AMF سنتز قندها و پرولین را افزایش داد و باعث بهبود تحمل به تنش خشکی در گیاهان شد (Mona *et al.*, 2017).

۳-۵. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

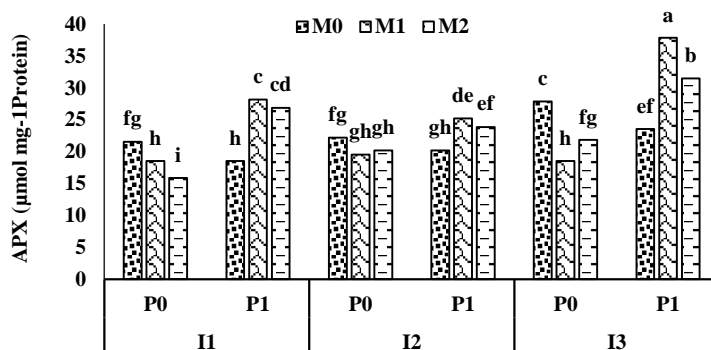
کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی بودند. طبق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت اثرات اصلی آبیاری، کود فسفر، قارچ میکوریزا و اثرات متقابل دوگانه آبیاری در میکوریزا و کود فسفر در میکوریزا قرار گرفت؛ اما تغییر معنی‌داری نسبت به دیگر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه نشان نداد (جدول ۲). آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز از واکنش معنی‌داری ($p < 0.01$) نسبت به اثرات اصلی آبیاری، کود فسفر، قارچ میکوریزا و اثرات متقابل دوگانه (بجز آبیاری در میکوریزا) و سه‌گانه برخوردار بود (جدول ۲).

براساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه رژیم آبیاری در قارچ میکوریزا، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز به بوته‌های تحت تلقیح با گونه *Glomus intraradices* در شرایط کم‌آبیاری شدید اختصاص داشت. در هر تیمار از قارچ میکوریزا با کاهش آبیاری تا سطح کم‌آبیاری شدید فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش معنی‌داری نسبت به آبیاری کامل داشت. نتایج نشان داد تحت شرایط کم‌آبیاری متوسط گونه *Glomus mosseae* و تحت شرایط کم‌آبیاری شدید گونه *Glomus intraradices* اثر افزایشی معنی‌داری نسبت به عدم تلقیح بر فعالیت این آنزیم داشت. با آبیاری کامل بوته‌های خیار تلخ هر دو گونه قارچ میکوریزا اثر افزایشی معنی‌داری نسبت به عدم تلقیح بر آنزیم کاتالاز داشتند (شکل ۵A). طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کود فسفر در قارچ میکوریزا، فعالیت آنزیم کاتالاز تحت هر دو گونه *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* با کاربرد کود فسفر افزایش معنی‌داری نسبت به عدم مصرف فسفر داشت و در شرایط کاربرد کود فسفر تلقیح هر دو گونه قارچ میکوریزا اثر افزایشی معنی‌داری نسبت به عدم تلقیح بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشت (شکل ۵B).



شکل ۵. مقایسه میانگین تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز برگ خیار تلخ تحت اثرات متقابل رژیم آبیاری در قارچ میکوریزا (A) و کود فسفر در قارچ میکوریزا (B). P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae* و M2: *Glomus intraradices*.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه بین تیمارها، بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به بوته‌های تحت تلقیح با گونه *Glomus mosseae* و مصرف کود فسفر در شرایط کم آبیاری شدید اختصاص داشت. نتایج نشان داد در شرایط آبیاری کامل و کم آبیاری شدید تحت عدم کاربرد کود فسفر با تلقیح بوته‌ها توسط دو گونه قارچ میکوریزا فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به عدم تلقیح کاهش معنی‌دار و تحت کاربرد کود فسفر افزایش معنی‌داری داشت. تحت شرایط کم آبیاری متوسط نیز در شرایط مصرف کود فسفر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با تلقیح دو گونه قارچ میکوریزا افزایش معنی‌داری نشان داد. نتایج همچنین نشان داد در هر سطح آبیاری و تلقیح توسط دو گونه قارچ میکوریزا با کاربرد کود فسفر فعالیت این نوع آنزیم از افزایش معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد کود فسفر برخوردار بود (شکل ۶).



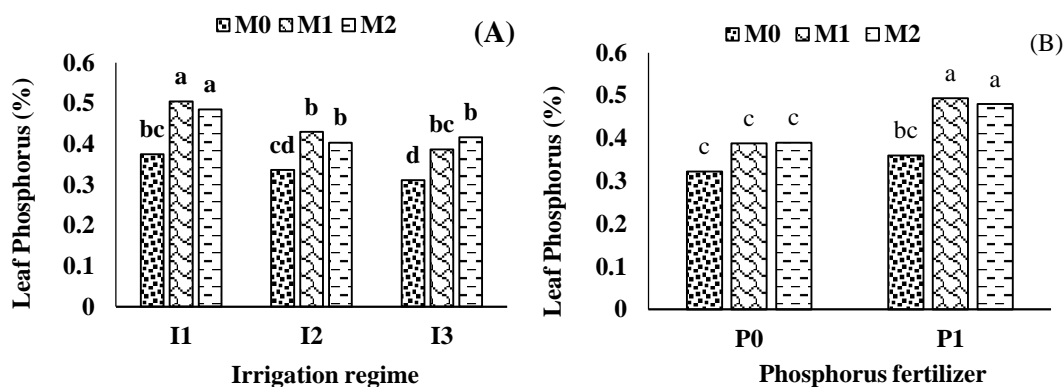
شکل ۶. مقایسه میانگین تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ خیار تلخ تحت اثر متقابل رژیم آبیاری × کود فسفر × قارچ میکوریزا. P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae* و M2: *Glomus intraradices*.

طبق نتایج بررسی حاضر با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری شدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات-پراکسیداز افزایش یافت و در هر سطح آبیاری، تلقیح دو گونه قارچ میکوریزا و مصرف کود فسفر اثر افزایشی بر مقدار دو آنزیم مذکور داشتند. نتایج یافته‌های دیگر محققان نیز نشان داد فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز سورگوم تحت تلقیح با قارچ‌های میکوریزا در شرایط تنش و عدم تنش افزایش داشت و فعالیت این آنزیم در شرایط تنش متوسط و شدید نسبت به آبیاری مطلوب افزایش یافت (Kamali & Mehranan, 2020). در بررسی دیگری بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز (APX) تحت تلقیح قارچ میکوریزا در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به‌دست آمد (Najafi et al., 2021). به نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزا با بهبود دسترسی به عناصر غذایی همچون نیتروژن، فسفر و پتاسیم نقش مهمی در تولید بیومولکول‌هایی همچون

پروتئین‌های مختلف دارند که منجر به تولید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نهایت کاهش اثرات منفی رادیکال‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش خشکی می‌شود (Hashem *et al.*, 2016).

۳-۶. فسفر برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مقدار فسفر برگ به‌طور معنی‌داری تحت اثرات اصلی آبیاری، کود فسفر، قارچ میکوریزا و اثرات متقابل دوگانه کود فسفر در قارچ میکوریزا ($p < 0.01$) و آبیاری در قارچ میکوریزا ($p < 0.05$) قرار گرفت؛ اما تغییر معنی‌داری نسبت به دیگر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه نداشت (جدول ۲). طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری در قارچ میکوریزا، در هر دو گونه قارچ میکوریزا و تیمار شاهد با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری شدید مقدار فسفر برگ روند کاهشی معنی‌داری نسبت به آبیاری کامل داشت؛ اما در هر سطح آبیاری مقدار فسفر برگ تحت تلقیح توسط دو گونه قارچ میکوریزا افزایش معنی‌داری نسبت به عدم تلقیح نشان داد (شکل ۷A). طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کود فسفر در قارچ میکوریزا، مقدار فسفر برگ تحت تلقیح و عدم تلقیح قارچ میکوریزا با کاربرد کود فسفر افزایش داشت و این افزایش در شرایط عدم تلقیح غیر معنی‌دار بود (شکل ۷B). این نشان می‌دهد که همزیستی هر دو گونه قارچ میکوریزا باعث بهبود جذب فسفر از خاک شده است. خشکسالی دسترسی گیاه را برای جذب مواد مغذی همچون فسفر، از خاک محدود می‌کند (Suriyagoda *et al.*, 2014). پژوهشگران بر این باورند که افزایش جذب فسفر تحت تلقیح قارچ میکوریزا، کمک قابل توجهی به اکوسیستم و همچنین افزایش تحمل گیاهان در برابر خشکسالی می‌کند (Hijikata *et al.*, 2004). در یک بررسی محققان نشان دادند تحت تلقیح توسط قارچ‌های میکوریزا مقدار فسفر برگ افزایش یافت؛ به طوری که باعث بهبود رشد و افزایش تحمل گیاه به خشکی شد (Tariq *et al.*, 2018). جذب یون‌های فسفات غیر قابل حل و انتقالی در خاک به سمت گیاه (Fitter *et al.*, 2011)، افزایش سطح جذب فسفر و تولید و ترشح آنزیم‌های فسفاتاز می‌تواند از دلایل افزایش جذب فسفر تحت تلقیح با قارچ‌های میکوریزایی بوده باشد (Marschner, 2012).

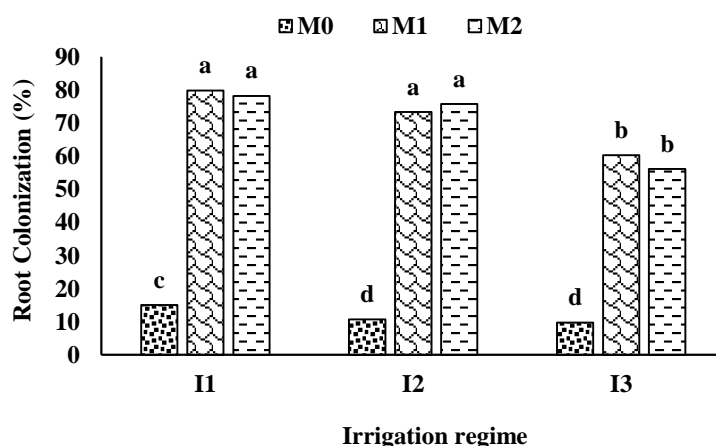


شکل ۷. مقایسه میانگین تغییرات فسفر برگ خیار تلخ تحت اثرات متقابل رژیم آبیاری در قارچ میکوریزا (A) و کود فسفر در قارچ میکوریزا (B). P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae*، و M2: *Glomus intraradices*

۳-۷. کلونیزاسیون ریشه

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد کلونیزاسیون ریشه به‌طور معنی‌داری تحت اثرات اصلی آبیاری، قارچ میکوریزا ($p < 0.01$) و اثر متقابل دوگانه آبیاری در قارچ میکوریزا قرار گرفت؛ اما تغییر معنی‌داری نسبت به کود فسفر و دیگر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه نداشت (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری در قارچ میکوریزا، با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری شدید درصد کلونیزاسیون هر دو گونه قارچ میکوریزا کاهش معنی‌داری نسبت به آبیاری کامل و کم آبیاری متوسط داشت. با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری متوسط درصد کلونیزاسیون هر دو گونه قارچ مورد بررسی تغییر معنی‌داری نشان نداد. در تیمار عدم تلقیح با کاهش آبیاری از سطح آبیاری مطلوب درصد کلونیزاسیون کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۸). کلونیزاسیون

ریشه توسط قارچ‌های مایکوریزا آریسکولار باعث افزایش تشکیل ریشه و خواص هیدرولیکی ریشه شده که نتیجه در ایجاد یک سیستم ریشه بسیار کارآمد برای جذب آب و مواد مغذی دارد (Quiroga et al., 2018). مطالعات قبلی نشان داد که کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های مایکوریزا آریسکولار و رشد هیف تحت تنش کمبود آب کاهش یافت (Boutasknif et al., 2018; Zou et al., 2019) که تاییدکننده نتایج پژوهش حاضر است. به نظر می‌رسد در شرایط محدودیت آب خاک، جوانه‌زنی و توسعه هاگ قارچ کاهش یافته که در نتیجه در کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه داشته است (Püschel et al., 2021). در بررسی دیگر محققان نیز کاهش کلونیزاسیون ریشه تحت تنش کم‌آبی گزارش شده است (Zhang et al., 2019). در مطالعه‌ای دیگر نیز درصد کلونیزاسیون ریشه شنبليله توسط قارچ گونه *Glomus intraradices* با کاهش میزان رطوبت خاک کاهش معنی‌داری نشان داد (Siavash Moghaddam et al., 2017).

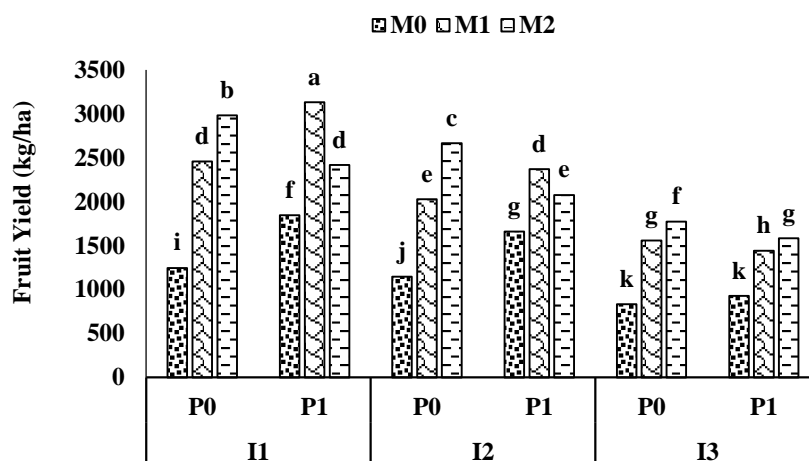


شکل ۸. مقایسه میانگین تغییرات درصد کلونیزاسیون ریشه خیار تلخ تحت اثر متقابل رژیم آبیاری×قارچ مایکوریزا. I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae* و M2: *Glomus intraradices*.

۳-۸. عملکرد میوه

باتوجه به نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها، عملکرد میوه به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت اثرات اصلی آبیاری، کود فسفر، قارچ مایکوریزا و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه این عوامل قرار گرفت (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه بین تیمارها، بیشترین عملکرد میوه خیار تلخ (۳۱۳۳/۲۷ گرم بر متر مربع) به بوته‌های تلقیح‌شده توسط گونه *Glomus mosseae* در شرایط آبیاری کامل و مصرف کود فسفر اختصاص داشت که دارای اختلاف معنی‌داری با سایر ترکیبات تیماری بود. نتایج نشان داد در هر سطح آبیاری و در هر تیماری از کود فسفر با تلقیح بوته‌ها توسط دو گونه قارچ *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* عملکرد میوه نسبت به عدم تلقیح افزایش معنی‌داری داشت. نتایج همچنین نشان داد در شرایط آبیاری کامل و کم آبیاری متوسط تحت عدم تلقیح و تلقیح توسط گونه *Glomus mosseae* با کاربرد کود فسفر عملکرد میوه افزایش و تحت تلقیح با گونه *Glomus intraradices* کاهش معنی‌داری نشان داد. در شرایط کم آبیاری شدید نیز با کاربرد کود فسفر تحت تلقیح هر دو گونه قارچ مایکوریزا عملکرد میوه کاهش معنی‌داری نسبت به عدم مصرف کود فسفر نشان داد (شکل ۹).

خانواده کدوئیان به‌خصوص خیار گیاهانی حساس به کمبود آب می‌باشند. طی بررسی‌های انجام‌شده در خیار تلخ (*Momordica Charantia* L.) با کاهش آبیاری از سطح ۸۰ تا ۴۰ درصد ظرفیت زراعی وزن میوه کاهش معنی‌داری داشت (Mohasseli & Farbood, 2022) که با نتایج حاصل از این بررسی مبنی بر کاهش عملکرد میوه تحت تنش کم آبیاری مطابقت دارد. در بررسی‌های دیگری بر هندوانه، کاربرد قارچ مایکوریزا در شرایط تنش خشکی عملکرد میوه را در سطحی برابر شرایط آبیاری مطلوب افزایش داد (Yang & He, 2022). قارچ مایکوریزا همچنین با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز و پراکسیداز و تجمع پرولین تحت تنش خشکی نقش مهمی در افزایش رشد و عملکرد دارد (Sheteiwy et al., 2021).

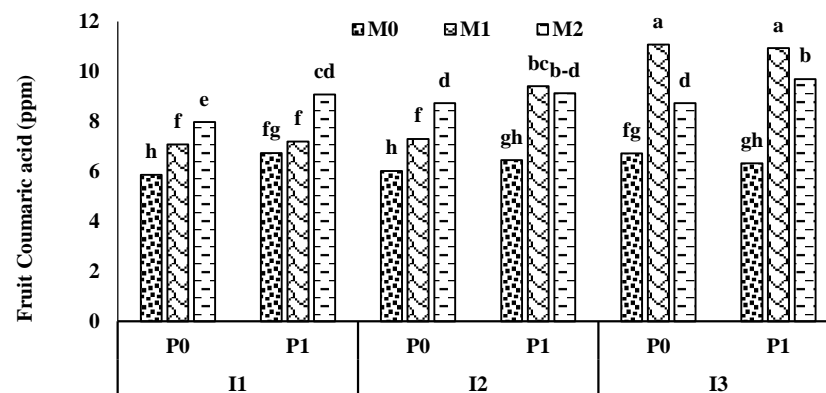


شکل ۹. مقایسه میانگین تغییرات عملکرد میوه خیار تلخ تحت اثر متقابل رژیم آبیاری × کود فسفر × قارچ میکوریزا. P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae*، و M2: *Glomus intraradices*.

۳-۹. کوماریکاسید

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مقدار کوماریکاسید میوه به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت اثرات اصلی آبیاری، کود فسفر، قارچ میکوریزا و اثرات متقابل دوگانه (بجز کود فسفر در میکوریزا) و سه‌گانه قرار گرفت (جدول ۲). طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه بین تیمارها، بیشترین مقدار کوماریکاسید میوه (۱۱ پی‌پی‌ام) به بوته‌های تحت کم آبیاری شدید و تلقیح‌شده توسط گونه *Glomus mosseae* با کاربرد و عدم کاربرد کود فسفر اختصاص داشت. نتایج نشان داد در هر سطح آبیاری و در شرایط مصرف و عدم مصرف کود فسفر با تلقیح بوته‌ها توسط هر دو گونه قارچ میکوریزا مقدار کوماریکاسید میوه افزایش معنی‌داری نسبت به عدم تلقیح نشان داد. براساس نتایج به‌دست‌آمده با کاهش آبیاری تا سطح کم آبیاری شدید با تلقیح بوته‌ها توسط هر دو گونه *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* مقدار کوماریکاسید افزایش معنی‌داری نسبت به آبیاری کامل در هر دو شرایط مصرف (بجز تیمار شاهد) و عدم مصرف کود فسفر داشت (شکل ۱۰).

فنولیک‌ها به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد دیابتی خود مورد توجه هستند، آنها به‌عنوان یک جزء حیاتی رژیم غذایی انسان در نظر گرفته می‌شوند و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی فوق‌العاده هستند (Kumar & Goel, 2019). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اغلب ترکیبات فنولی هستند که در همه بخش‌های یک گیاه وجود دارند. این ترکیبات متابولیت‌های ثانویه هستند که به‌دلیل دارا بودن خصوصیات اکسایش و کاهش می‌توانند گونه‌های فعال اکسیژن را با دادن اتم هیدروژن و تبدیل آنها به ترکیبات غیر رادیکالی پایدارتر مهار کنند (Wijngaard et al., 2009). بنابراین در شرایط تنش افزایش این متابولیت‌های ثانویه می‌تواند یک واکنش دفاعی در مقابل تولید گونه‌های فعال اکسیژن بوده باشد. در پژوهشی با کاهش آبیاری اسیدهای فنولیکی همچون فرولیک-اسید، کوماریکاسید و کافئیکاسید دو رقم انگور افزایش معنی‌داری نسبت به آبیاری روزانه داشت (Moayedinezhad et al., 2020) که با نتایج حاصل از این بررسی مبنی بر افزایش ترکیب فنولیکی کوماریکاسید تحت تنش خشکی مطابقت دارد. قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار با بهبود متابولیسم گیاه هم بر کیفیت و هم بر کمیت متابولیت‌های ثانویه تأثیر می‌گذارند (Fokom et al., 2019). طبق نتایج بررسی حاضر تحت کاربرد هر دو گونه قارچ میکوریزا مقدار ترکیب فنولیکی کوماریکاسید میوه افزایش یافت (شکل ۱۰).



شکل ۱۰. مقایسه میانگین تغییرات کوماریک اسید میوه خیار تلخ تحت اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری × کود فسفر × قارچ مایکوریزا.

P0: عدم کاربرد کود فسفر، P1: کاربرد کود فسفر، I1: آبیاری نرمال، I2: تنش کم آبیاری متوسط، I3: تنش کم آبیاری شدید، M0: شاهد (بدون تلقیح)، M1: *Glomus mosseae* و M2: *Glomus intraradices*.

جدول ۲. تجزیه واریانس برای تغییرات صفات فیزیولوژیک برگ، فسفر برگ، کلونیزاسیون ریشه، عملکرد و کوماریک اسید میوه خیار تلخ تحت قارچ مایکوریزا و کود فسفر در شرایط تنش کم آبیاری.

S.O.V	DF	Mean Square (M.S)									
		Total chlorophyll	Leaf Ion Leakage	MDA	Proline	CAT	APX	Leaf P	Root Colonization	Fruit yield	coumaric acid
Block (Repeat)	2	0.748 ^{ns}	0.567 ^{ns}	0.003 ^{ns}	3.25 ^{ns}	0.205 ^{ns}	2.54 ^{ns}	0.00 ^{ns}	3.94 ^{ns}	3637.36 ^{ns}	0.040 ^{ns}
Irrigation (I)	2	20.43 ^{**}	215.21 [*]	0.18 ^{**}	98.34 ^{**}	5.27 ^{**}	157.90 ^{**}	0.035 ^{**}	1172.84 ^{**}	4571254.89 ^{**}	11.90 ^{**}
Error (a)	4	0.494	16.42	0.003	1.67	0.124	1.49	0.00	12.79 ^{ns}	2251.13	0.46
Phosphorus (P)	1	23.98 ^{**}	68.64 ^{**}	0.029 ^{**}	19.82 ^{**}	8.20 ^{**}	411.16 ^{**}	0.082 ^{**}	47.903 ^{ns}	96647.51 ^{**}	4.95 ^{**}
I × P	2	0.066 ^{ns}	2.17 ^{ns}	0.009 ^{**}	0.78 ^{ns}	0.086 ^{ns}	38.02 ^{**}	0.00 ^{ns}	0.65 ^{ns}	105749.80 ^{**}	0.83 ^{**}
Mycorrhiza (M)	2	40.62 ^{**}	54.22 ^{**}	0.091 ^{**}	29.69 ^{**}	3.34 ^{**}	24.59 ^{**}	0.056 ^{**}	20673.50 ^{**}	5231940.13 ^{**}	37.71 ^{**}
I × M	4	5.93 ^{**}	22.24 [*]	0.009 ^{**}	0.816 ^{ns}	1.14 ^{**}	2.005 ^{ns}	0.002 [*]	174.88 ^{**}	160807.49 ^{**}	6.217 ^{**}
P × M	2	1.332 [*]	79.85 ^{**}	0.013 ^{**}	0.121 ^{ns}	0.87 ^{**}	264.71 ^{**}	0.006 ^{**}	5.07 ^{ns}	973764.91 ^{**}	0.339 ^{ns}
I × P × M	4	0.399 ^{ns}	17.69 [*]	0.007 ^{**}	5.45 ^{ns}	0.147 ^{ns}	30.49 ^{**}	0.002 ^{ns}	19.53 ^{ns}	157395.15 ^{**}	1.152 ^{**}
Error (b)	30	0.328	6.14	0.001	2.082	0.114	2.043	0.001	18.17	3512.56	0.108
CV (%)		6.096	4.05	6.75	5.48	7.56	6.10	7.06	8.36	3.12	4.10

ns, * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشند.

۴. نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج کلی از این بررسی تحت تلقیح دو گونه قارچ مایکوریزا و مصرف کود فسفر تجمع پرولین در برگ افزایش یافت که با حفظ یکپارچگی غشاء (کاهش MDA) و کاهش نشت یونی برگ باعث حفاظت دستگاه فتوسنتزی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از کم‌آبیاری و افزایش جذب فسفر و سنتز کلروفیل شد که به افزایش رشد و عملکرد میوه منجر شد. بیشترین عملکرد میوه به بوته‌های تحت تلقیح با گونه *Glomus mosseae* و کاربرد فسفر در شرایط آبیاری کامل اختصاص داشت. از طرفی قارچ‌های مایکوریزا با افزایش ترکیبات فنولیک کوماریک‌اسید میوه در شرایط کم‌آبیاری نقش مهمی در افزایش کیفیت میوه داشتند. بیشترین مقدار کوماریک‌اسید میوه (تقریباً ۱۱ پی‌پی‌ام) به بوته‌های تحت تلقیح با گونه *Glomus mosseae* در شرایط مصرف و عدم مصرف کود فسفر و تحت شرایط کم‌آبیاری شدید مربوط بود. بنابراین باتوجه به نتایج به دست آمده از بررسی حاضر می‌توان کاربرد دو گونه *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* و عنصر فسفر کافی را جهت بهبود عملکرد و کیفیت میوه گیاه خیار تلخ تحت شرایط کم‌آبیاری و آبیاری کامل پیشنهاد کرد.

۵. منابع

- Ahmad, H., Hayat, S., Ali, M., Liu, T., & Cheng, Z. (2018). The combination of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation (*Glomus versiforme*) and 28-homobrassinolide spraying intervals improves growth by enhancing photosynthesis, nutrient absorption, and antioxidant system in cucumber (*Cucumis sativus* L.) under salinity. *Ecology and Evolution*, 8(11), 5724-5740.
- Ahmad, P., Jamsheed, S., Hameed, A., Rasool, S., Sharma, I., Azooz, M.M., & Hasanuzzaman, M. (2014). Drought stress induced oxidative damage and antioxidants in plants. In *Oxidative damage to plants*. Academic Press. 345-367.
- Aleksandra, C.M., Neda, M.M., Anamarija, I.M., Marijana, B.S., Ivan, L.M., & Ivana, J.S. (2011). Development of a rapid resolution HPLC method for the separation and determination of 17 phenolic compounds in crude plant extracts. *Central European Journal of Chemistry*, 9(1), 133-142.
- An, Y., & Liang, Z. (2013). Drought tolerance of *Periploca sepium* during seed germination: Antioxidant defense and compatible solutes accumulation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(3), 959-967.
- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23(1), 112-121.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Begum, N., Ahanger, M.A., Su, Y., Lei, Y., Mustafa, N.S.A., Ahmad, P., & Zhang, L. (2019). Improved drought tolerance by AMF inoculation in maize (*Zea mays*) involves physiological and biochemical implications. *Plants*, 8(12), 579.
- Begum, N., Xiao, Y., Wang, L., Li, D., Irshad, A., & Zhao, T. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* alleviates drought stress in soybean with overexpressing the *GmSPL9d* gene by promoting photosynthetic apparatus and regulating the antioxidant system. *Microbiological Research*, 273, 127398.
- Boo, Y.C. (2019). p-Coumaric acid as an active ingredient in cosmetics: A review focusing on its antimelanogenic effects. *Antioxidants*, 8(8), 275.
- Boutasknit, A., Baslam, M., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Ben-Laouane, R., Douira, A., ..., & Meddich, A. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi mediate drought tolerance and recovery in two contrasting carob (*Ceratonia siliqua* L.) ecotypes by regulating stomatal, water relations, and (in) organic adjustments. *Plants*, 9(1), 80.
- Cakmak, I., & Horst, W. (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max* L.). *Plant Physiology*, 83, 463-468.
- Cakmakci, O., Cakmakci, T., Durak, E.D., Demir, S., & Sensoy, S. (2017). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi in melon (*Cucumis melo* L.) seedling under deficit irrigation. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(12), 7513-7520.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S.B., Ribeiro, C.W., Lazzarotto, F., & Margis-Pinheiro, M. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 1011-1019.
- Chandrasekaran, M. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi mediated alleviation of drought stress via non-enzymatic antioxidants: A meta-analysis. *Plants*, 11(19), 2448.
- Chapman, H.D., & Pratt, P.F. (1962). Methods of analysis for soils, plants and waters. *Soil Science*, 93(1), 68.
- Dhillon, N.P., Lin, C.C., Sun, Z., Hanson, P.M., Ledesma, D.R., Habicht, S.D., & Yang, R.Y. (2017). Varietal and harvesting stage variation in the content of carotenoids, ascorbic acid and tocopherols in the fruit of bitter melon (*Momordica charantia* L.). *Plant Genetic Resources*, 15(3), 248-259.
- Duan, B., Yang, Y., Lu, Y., Korpelainen, H., Berninger, F., & Li, C. (2007). Interactions between drought stress, ABA and genotypes in *Picea asperata*. *Journal of Experiment Botany*, 58, 3025-3036.
- El Basyoni, I., Saadalla, M., Baenziger, S., Bockelman, H., & Morsey, S. (2017). Cell membrane stability and association mapping for drought and heat tolerance worldwide wheat collection. *Sustainability*, 9, 1606.

- Fitter, A.H., Helgason, T., & Hodge, A. (2011). Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Implications for sustainable agriculture. *Fungal Biology Reviews*, 25(1), 68-72.
- Fokom, R., Adamou, S., Essono, D., Ngwasiri, D.P., Eke, P., Mofor, C.T., ..., & Sharma, A.K. (2019). Growth, essential oil content, chemical composition and antioxidant properties of lemongrass as affected by harvest period and arbuscular mycorrhizal fungi in field conditions. *Industrial Crops and Products*, 138, 111477.
- Goss, M.J., Carvalho, M., & Brito, I. (2017). Functional diversity of mycorrhiza and sustainable agriculture: Management to overcome biotic and abiotic stresses. Academic press, London.
- Hashem, A., Abd_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Al-Huqail, A.A., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2016). The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1089.
- Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198.
- Herrera-Medina, M.J., Steinkellner, S., Vierheilig, H., Ocampo Bote, J.A., & Garcia Garrido, J. (2007). Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 175(3), 554-564.
- Hidangmayum, A., & Dwivedi, P. (2018). Plant responses to *Trichoderma* spp. and their tolerance to abiotic stresses: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 758-766.
- Hijikata, N., Murase, M., Tani, C., Ohtomo, R., Osaki, M., & Ezawa, T. (2010). Polyphosphate has a central role in the rapid and massive accumulation of phosphorus in extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. *The New Phytologist*, 186(2), 285-289.
- Jatav, S.S., Parihar, M., Patra, A., Singh, S.K., Chitara, M.K., Mohapatra, K.K., & Rana, K. (2021). Soil microbes in plant growth promotion and for mitigation of abiotic stress of drought. *Soil Microbiomes for Sustainable Agriculture: Functional Annotation*, 175-201.
- Kafkas, S., & Ortas, I. (2009). Various mycorrhizal fungi enhance dry weights, P and Zn uptake of four *Pistacia* species. *Journal of Plant Nutrition*, 32(1), 146-159.
- Kamali, S., & Mehraban, A. (2020). Nitroxin and arbuscular mycorrhizal fungi alleviate negative effects of drought stress on *Sorghum bicolor* yield through improving physiological and biochemical characteristics. *Plant Signaling & Behavior*, 15(11), 1813998.
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
- Li, S., Yang, Y., Zhang, Q., Liu, N., Xu, Q., & Hu, L. (2018). Differential physiological and metabolic response to low temperature in two zoysiagrass genotypes native to high and low latitude. *Plos One*, 13(6), e0198885.
- Lichthentaler, H.K. (1987). Chlorophyll and carotenoids-pigments of photosynthetic biomembranes, In *Methods in Enzymology*. Edited by Colowick, SP., Kaplan, No. Vol. 148.
- Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78(3), 389-398.
- Mahmood, M.S., Rafique, A., Younas, W., & Aslam, B. (2019). *Momordica charantia* L.(bitter gourd) as a candidate for the control of bacterial and fungal growth. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 56(4).
- Maluleke, M.K. (2022). Metabolite profile of African horned cucumber (*Cucumis metuliferus* E. May. Ex Naudin) fruit grown under differing environmental conditions. *Scientific Reports*, 12(1), 1-18.
- Marschner, P. (2012). *Phosphorus*, in *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plant*, 3rd Edn. London: Academic Press; Elsevier Ltd.), 265-277.
- Martin, D.L., Stegman, E.C., & Fereres, E. (1990). Irrigation scheduling principles. IN: *Management of Farm Irrigation Systems. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI. 1990. p 155-203, 19 fig, 9 tab, 81 ref.*
- McDowell, N.G., Sapes, G., Pivovarov, A., Adams, H.D., Allen, C.D., Anderegg, W.R., ..., & Xu, C. (2022). Mechanisms of woody-plant mortality under rising drought, CO₂ and vapour pressure deficit. *Nature Reviews Earth & Environment*, 3(5), 294-308.
- Moayedinezhad, A., Mohammadparast, B., Hosseini Salekdeh, G., Mohsenifard, E., & Nejatian, M.A. (2020). Effects of drought stress on total phenolics, phenolic acids, polyamines and some organic acids in two important Iranian grapevine cultivars. *Journal of Plant Process and Function*, 8(34), 19-26.
- Mohasseli, V., & Farbood, F. (2022). Effect of compost on growth characteristics and macronutrients concentration in *Momordica Charantia* L. under moisture stress. *Iranian Journal of Soil Research*, 35(4), 353-366.
- Mona, S.A., Hashem, A., Abd_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Soliman, D.W.K., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2017). Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8), 1751-1757.
- Najafi, S., Nazari Nasi, H., Tuncturk, R., Tuncturk, M., Sayyed, R.Z., & Amirmia, R. (2021). Biofertilizer application enhances drought stress tolerance and alters the antioxidant enzymes in medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. pepo var. Styriaca). *Horticulturae*, 7(12), 588.
- Nazari Nasi, H., Amirmia, R., & Zardashti, M. (2018). Effect of drought stress and biofertilizers on some physiological characteristics and grain yield of medicinal pumpkin plants. *Journal of Crops Improvement*, 20(1), 205-217.
- Ortas, I. (2012). The effect of mycorrhizal fungal inoculation on plant yield, nutrient uptake and inoculation effectiveness under long-term field conditions. *Field Crops Research*, 125, 35-48.

- Pei, K., Ou, J., Huang, J., & Ou, S. (2016). p-Coumaric acid and its conjugates: Dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(9), 2952-2962.
- 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(1), 158-181.
- Püschel, D., Bitterlich, M., Rydlová, J., & Jansa, J. (2021). Drought accentuates the role of mycorrhiza in phosphorus uptake. *Soil Biology and Biochemistry*, 157, 108243.
- Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R., Zamarreño, Á.M., García-Mina, J.M., & Ruiz-Lozano, J.M. (2018). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and salicylic acid regulate aquaporins and root hydraulic properties in maize plants subjected to drought. *Agricultural Water Management*, 202, 271-284.
- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K.I., & John, R. (2017). Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, 137, 142-157.
- Razavi, S.M., Ghorbanian, A., & Abadi, A. (2022). Impact of drought stress on growth–yield parameters, volatile constituents and physio-biochemical traits of three *Foeniculum vulgare* genotypes. *Agricultural Research*, 11(4), 591-607.
- Ruelland, E., Vaultier, M.N., Zachowski, A., & Hurry, V. (2009). Cold signalling and cold acclimation in plants. *Advances in Botanical Research*, 49, 35-150.
- Ruiz-Sánchez, M., Aroca, R., Muñoz, Y., Polón, R., & Ruiz-Lozano, J.M. (2010). The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 167(11), 862-869.
- Sheteiwy, M.S., Ali, D.F.I., Xiong, Y.C., Brestic, M., Skalicky, M., Hamoud, Y.A., ..., & El-Sawah, A.M. (2021). Physiological and biochemical responses of soybean plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium* under drought stress. *BMC Plant Biology*, 21(1), 1-21.
- Siavash Moghaddam, S., Rahimi, A., Heydarzadeh, S., Moradzadeh, S., & Hasanloo, M. (2017). The effect of mycorrhizal symbiosis on the yield and biochemical traits of fenugreek under water deficit stress. *Journal of Medicinal Plants Biotechnology*, 3(1), 39-52.
- Sofy, M.R., Aboseidah, A.A., Heneidak, S.A., & Ahmed, H.R. (2021). ACC deaminase containing endophytic bacteria ameliorate salt stress in *Pisum sativum* through reduced oxidative damage and induction of antioxidative defense systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 40971-40991.
- Sur, S., & Ray, R.B. (2020). Bitter melon (*Momordica charantia*), a nutraceutical approach for cancer prevention and therapy. *Cancers*, 12(8), 2064.
- Suriyagoda, L.D., Ryan, M.H., Renton, M., & Lambers, H. (2014). Plant responses to limited moisture and phosphorus availability: A meta-analysis. *Advances in Agronomy*, 124, 143-200.
- Tariq, A., Pan, K., Olatunji, O.A., Graciano, C., Li, Z., Sun, F., ..., & Zhang, A. (2018). Phosphorous fertilization alleviates drought effects on *Alnus cremastogyne* by regulating its antioxidant and osmotic potential. *Scientific Reports*, 8(1), 5644.
- Theocharis, A., Clément, C., & Barka, E.A. (2012). Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta*, 235, 1091-1105.
- Vanclooster, M., Viaene, P., Diels, J., & Chistiaens, K. (1994). WAVE, A mathematical model for simulating water and agrochemicals in the soil and vadose environment, Release 2.1.
- Verbruggen, E., van der Heijden, M.G., Rillig, M.C., & Kiers, E.T. (2013). Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: Factors determining inoculation success. *New Phytologist*, 197(4), 1104-1109.
- Wijngaard, H.H., Rossle, C., & Brunton, N. (2009). A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 116(1), 202-207.
- Yang, P., & He, S. (2022). The effects of arbuscular mycorrhizal fungi and deficit irrigation on the yield and sugar content of watermelons (*Citrullus lanatus*). *Horticultural Science*, 49(4), 225-233.
- Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T., & Shigeoka, S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, 123(1), 223-234.
- Zhang, Z., Zhang, J., Xu, G., Zhou, L., & Li, Y. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and drought tolerance of *Zenia insignis* seedlings under drought stress. *New Forests*, 50(4), 593-604.
- Zou, K., Shang, S., Tian, L., Zhu, G., Zhou, M., & Pan, Q. (2018). Effects of low temperature stress on osmotic solutes of grafted bitter melon seedlings. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 39(8), 1533-9.
- Zou, Y.N., Wu, H.H., Giri, B., Wu, Q.S., & Kuča, K. (2019). Mycorrhizal symbiosis down-regulates or does not change root aquaporin expression in trifoliate orange under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 292-299.