

دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع ایران
جلد ۱۰ شماره ۱، صفحه ۳۲-۱۹، (۱۳۹۱)

تأثیر برقراری همزیستی اکتومیکوریزایی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و روشی ریزقلمه‌های سفیدپلت (*Populus caspica* Bornm.)

سیده معصومه زمانی^۱، ابراهیم محمدی گل‌تپه^۲، ناصر صفایی^{۳*}، میترا امام^۴، جمشید بوجاری^۵ و محمد جعفر فارسی^۶

۱- دانشجوی دکترا، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- استاد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۳* - نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

پست الکترونیک: nsafaie@modares.ac.ir

۴- مربی پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۵- مربی پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۶- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱۶

چکیده

امروزه با توجه به از بین رفتن جنگلهای طبیعی به لحاظ فرسایش، تنش‌های محیطی و بهره‌برداری‌های بی‌رویه، نیاز به برنامه‌های پژوهشی در امر بهینه‌سازی جنگلکاری‌ها ضرورت بیشتری نسبت به قبل دارد. در این خصوص استفاده از قارچ‌های میکوریز بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به طوری که هیف این قارچ‌ها در میان ریزوسفر گسترش می‌یابد و موجب اصلاح و بهبود جذب آب و عناصر معدنی از خاک می‌گردد؛ بنابراین یک ارتباط قوی بین سیستم ریشه گیاه و خاک برقرار می‌شود. در نتیجه، گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی اغلب قدرت رقابت و توانایی بالاتری را برای رشد و نیز تحمل تنش‌های محیطی دارند. در این تحقیق همزیستی اکتومیکوریزایی در شرایط درون شیشه‌ای روی ریزقلمه‌های سفید پلت (*Populus caspica*) انجام شد تا امکان بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و روشی و افزایش مقاومت آن در برابر خشکی، پس از انتقال به گلخانه در مرحله سازگار سازی مورد ارزیابی قرار گیرد. از این رو گیاهچه‌های سفید پلت از طریق کشت بافت تکثیر شدند، سپس برقراری همزیستی با قارچ *Pisolithus tinctorius* انجام شد. اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیولوژیک، رشد و وضعیت آبی گیاه انجام گردید تا تأثیر قارچ میکوریز روی این ویژگی‌ها تعیین شود. نتایج این تحقیق نشان داد که برقراری همزیستی اکتومیکوریزایی روی گیاهچه‌های سفید پلت سبب افزایش ارتفاع ساقه، بیومس ریشه، ساقه و برگ، فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و کلروفیل برگ شده و از سوی دیگر اثرات منفی تنش خشکی را کنترل نمود. بنابراین با توجه به بهبود وضعیت آبی، افزایش رشد و بیومس و اصلاح خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه تلقیح شده با قارچ میکوریز در مقایسه با شاهد، می‌توان برقراری همزیستی اکتومیکوریزایی را راهکاری نوین برای افزایش موفقیت نهال‌کاری در برنامه‌های احیائی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: همزیستی اکتومیکوریزایی، سفید پلت، ویژگی‌های رشد، ویژگی‌های فیزیولوژیک.

تأثیر برقراری همزیستی اکتومیکوریزایی ...

مقدمه

جنگل‌های طبیعی ارکان زیربنایی توسعه پایدار و ذخیرگاه ارزشمند ژنتیکی هر کشور در سطح جهان می‌باشند. امروزه با توجه به نیاز روزافزون جوامع به چوب و کاهش سطح جنگل‌های طبیعی به علت بهره‌برداریهای بی‌رویه، نیاز به پژوهش در امر بهینه‌سازی کشت گونه‌های تند رشد، شناسایی پایه‌های مقاوم به تنش‌های محیطی و در نهایت روش‌های تکثیر این پایه‌ها بیش از پیش احساس می‌شود (Parhizkar et al., 2002). خصوصیات مهم اکولوژیکی و ساختاری درختان صنوبر مانند سرعت رشد قابل توجه در سال و کاربرد فراوان آن در صنایع مختلف چوبی مانند کاغذسازی، آن را به‌عنوان یک گونه مهم جهت کاهش فشار بر جنگل‌های طبیعی معرفی می‌نماید. هرگونه فرایندی که به افزایش کمی و کیفی تولید چوب صنوبر منجر گردد، نه فقط از دیدگاه اقتصادی سبب افزایش درآمد در واحد سطح و اشتغال بیشتر خواهد شد بلکه با گسترش کاشت این گونه‌ها در مناطق مختلف، موجبات بر خورداری از مزایای زیست محیطی آن نیز فراهم می‌گردد (Asadi et al., 2005). اما گونه‌های صنوبر معمولاً در زمین‌های مرطوب رشد می‌کنند و اغلب ژنوتیپ‌های آن نسبت به خشکی حساسند (Sixto et al., 2006).

تخمین زده شده که در حال حاضر حدود ۲۸ درصد از اراضی زمین به‌دلیل خشک بودن زیاد برای کشت و کار گیاهان مناسب نیستند؛ البته پیش‌بینی می‌شود گرم شدن همه‌گیر زمین شدت و گسترش خشکی را افزایش خواهد داد (Luo et al., 2009b; Schar et al., 2004). خشکی عامل محدود کننده مهمی برای رشد گیاهان و تولیدات آنها به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک مدیترانه‌ای

به‌شمار می‌رود (Ciais et al., 2005). به‌عنوان مثال، خشکی گسترده و موج گرما در سال ۲۰۰۳ در اروپا تأثیر منفی معنی‌داری روی رشد گیاهان و سلامت جنگل‌ها داشته است (Breda et al., 2006). علاوه بر اینها، خشکی مهمترین فاکتور محدودکننده پایداری و استقرار نهال‌ها، به‌ویژه در طی جنگلکاری‌ها و احیاء جنگل‌های تخریب‌شده می‌باشد (Rennenberg et al., 2006).

برای غلبه و چیره شدن بر خشکی، راهکارهایی لازم است که توانایی درختان یا نهال‌ها را در برابر تنش خشکی در مناطق با رطوبت پایین از طریق بهبود جذب آب و عناصر غذایی افزایش دهد و بدین ترتیب برنامه‌های جنگلکاری و مدیریت جنگل را با موفقیت روبرو سازد. در این خصوص، یکی از راهکارهایی که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه واقع شده، استفاده از قارچ‌های میکوریز می‌باشد. قارچ‌های میکوریز می‌توانند با ریشه گیاهان میزبان تعامل نموده تا یک همزیستی دو جانبه را برقرار نمایند. در این همزیستی گیاهان میزبان ترکیبات معدنی را از قارچ دریافت کرده و قارچ نیز ترکیبات کربنی بدست‌آمده از فتوسنتز را از میزبان کسب می‌نماید (Smith & Read, 2008). قارچ‌های میکوریز می‌توانند وضعیت آب در گیاهان را بهبود بخشند و بدین ترتیب بقا و رشد گیاهان را در شرایط خشکی افزایش دهند (Auge, 2001; Smith & Read, 2008)؛ اما سازوکار این نوع حفاظت هنوز بدرستی روشن نشده است (Marjanovic et al., 2005). به‌عنوان مثال گزارش شده که در نهال‌های *Populus tremuloides* Michx. با قارچ‌های اکتومیکوریز تلقیح شده بودند، قابلیت رسانش آب در ریشه‌ها افزایش یافته و میزان آب در شاخ و برگ بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بوده است (Landhausser et

بودن غلظت فلزات سنگین در خاک داشته و از این رو قادر است رشد و پایداری درختان همزیست در این مناطق را بهبود بخشد (Marx & Bryan, 1975; Marx, 1991; Han et al., 2001).

با توجه به باستانی بودن جنگل‌های هیرکانی و در خطر انقراض قرار گرفتن گونه‌های انحصاری مانند سفید پلت، باید تحولی اساسی در مدیریت جنگل‌داری کشور با اندیشه‌ای نو مبتنی بر حفاظت اصولی از این گونه‌ها انجام شود. در این تحقیق وضعیت آبی، رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه تلقیح شده با قارچ میکوریز در مقایسه با شاهد تحت تنش، جهت ارائه راهکارهای نوین در راستای برنامه‌ریزی مدیریت صحیح حفاظت و احیاء این ذخیره ژنتیکی ارزشمند جنگل‌های هیرکانی مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین نتایج این تحقیق می‌تواند به‌عنوان یک الگو کاربرد فراوانی در برنامه‌های احیایی مناطق خشک و نیمه‌خشک داشته باشد.

مواد و روش‌ها

- کشت گیاهچه‌های سفید پلت و قارچ اکتومیکوریز گیاهچه‌های سفید پلت (دریافت شده از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور) از طریق کشت بافت تکثیر شدند. بدین ترتیب، برای شاخه‌زایی این گیاهچه‌ها از محیط MS (Murashige & Skoog, 1962) حاوی ۰/۵ mg/lit از سیتوکینین BAP (6-Benzylaminopurine) استفاده شد و به‌منظور ریشه‌زایی، شاخه‌های تولید شده به محیط MS با غلظت نصف از املاح نیترات و عناصر ماکرو و حاوی هورمون ریشه‌زایی اکسین ۰/۳ mg/lit از NAA و Naphthalene Acetic Acid: (۰/۱ mg/lit) از IBA: 3- و Indolebutyric acid (متقل و پس از دو هفته ریشه‌دار

2002, al.). همچنین تأثیر مثبت برقراری این همزیستی روی بهبود وضعیت آبی نهال‌های *P. euphratica* Olivier که تحت تنش خشکی قرار داشتند در مقایسه با شاهد مشخص شده است (Luo et al., 2009b).

در این تحقیق، از گونه سفید پلت (*P. caspica*) استفاده شده تا امکان بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و رویشی و نیز افزایش مقاومت آن در برابر تنش خشکی، پس از برقراری همزیستی میکوریزایی با قارچ *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker and Couch مورد بررسی قرار گیرد. درخت سفید پلت از گونه‌های بومی (Marvi, 2005) در خطر انقراض جنگل‌های جلگه‌ای شمال کشور (جنگل‌های هیرکانی) است (Jalili & Jamzad, 1999) که دامنه گسترش آن از ارسباران و طالش تا گرگان و اطراف بجنورد می‌باشد (Jalilvand, 1988) و به دلیل فشارهای محیطی و اقتصادی حاکم، به شدت در معرض تخریب قرار گرفته است (Asadi et al., 2005). این گونه از جنس صنوبر (*Populus*)، بخش *(Leuce)*، زیربخش *(Albide)* و از خانواده بیدیان (*Salicaceae*) می‌باشد و تنها گونه صنوبر در ایران است که توان گسترش در نواحی جنگلی را دارد (Ziyai, 1993). قارچ *P. tinctorius* قارچ اکتومیکوریزی از بازیدیومیست‌هاست که توانایی برقراری همزیستی با دامنه وسیعی از جنس‌های گیاهی (Marx, 1977) از جمله جنس صنوبر (Han et al., 2011) را دارد. نتایج مطالعات انجام شده روی این قارچ نشان داده‌اند که این قارچ اکتومیکوریز قابلیت بالایی را برای بکارگیری در برنامه‌های جنگلکاری دارد؛ زیرا تحمل بالایی به طیف وسیعی از تنش‌های محیطی نظیر دمای بالای خاک، اسیدی بودن خاک، پایین بودن فسفر خاک، خشکی، بالا

تلقیح قرار گرفتند.

پس از ۱۰ هفته گیاهان تلقیح شده و شاهد به خاک منتقل و سازگارسازی آنها با شرایط گلخانه‌ای^۳ طبق روش Luo و همکاران (۲۰۰۹a) انجام شد. در این مرحله از میسلیم قارچ کشت شده در محیط کشت استاندارد (Lambilliotte *et al.*, 2004) مایع برای تلقیح سوبستریایی که شامل ترکیبی از پیت، پرلیت و ورمیکولیت به ترتیب با نسبت ۲: ۰/۵: ۲ بود استفاده گردید. البته در مورد شاهد محیط مایع بدون میسلیم قارچ به خاک اضافه شد. مقادیر مساوی از خاک‌های کلونیزه شده یا شاهد درون گلدان-های کوچکی که دارای منفذی در انتها بود منتقل گردید؛ سپس یک گیاهچه به هریک از گلدانها منتقل و هریک از گیاهان روزانه با مقادیر مساوی از محیط کشت استاندارد مایع و آب، آبیاری شدند. نگهداری این گیاهان در گلخانه (دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۱۳ هفته صورت گرفت (Luo *et al.*, 2009a).

– اعمال تنش خشکی، برداشت گیاهچه‌ها و اندازه‌گیری متغیرها

پس از ۱۳ هفته، به منظور اعمال تنش خشکی، آبیاری نیمی از گیاهان تلقیح شده و نیز نیمی از گیاهان شاهد متوقف گردید. بعد از پنج روز تنش خشکی، گیاهان تحت تنش و گیاهان آبیاری شده (۱۰ گیاهچه از هر تیمار) مورد ارزیابی ویژگی‌های فیزیولوژیکی قرار گرفتند (Luo *et al.*, 2009b). به طوری که متغیرهای فیزیولوژیک مورد ارزیابی شامل میزان کلروفیل، فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای بود. به منظور اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ از دستگاه اندازه‌گیری مقدار کلروفیل^۴ استفاده شد.

شدند (Emam & Shahrzad, 2001). در تمام آزمایش‌ها pH محیط با استفاده از HCl و KOH روی ۵/۸-۵/۷ تنظیم شد. به منظور سترون‌سازی، محیط‌های کشت در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. نگهداری کشت‌ها در اتاقک‌های رشد در دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت نور (۵۰۰۰-۳۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی انجام شد و کشت‌ها بطور مداوم هر ۴ تا ۵ هفته به محیط جدید منتقل شدند.

قارچ مورد استفاده برای برقراری همزیستی، قارچ *Pisolithus tinctorius* (دریافت شده از جناب آقای دکتر محمدی گل‌تپه، دانشگاه تربیت مدرس) بود که نگهداری آن روی محیط کشت استاندارد (Lambilliotte *et al.*, 2004) انجام شد.

– برقرارسازی همزیستی میان گیاهچه‌های سفید پلت و قارچ اکتومیکوریز

برای برقرارسازی همزیستی روی گیاهچه‌های کشت‌بافتی سفید پلت در شرایط درون شیشه‌ای^۱ از روش Oliveira و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد. ابتدا سازگارسازی میسلیم قارچ با محیط WPM^۲ انجام شد (Lloyd & Mc Cown, 1980)، سپس از آن برای تلقیح محیط همزیستی درون ظروف شیشه‌ای استفاده گردید. بدین ترتیب که گیاهچه‌ها در هریک از شیشه‌ها بصورت تصادفی کشت و به مدت یک هفته در شرایط محیطی توصیف شده برای شاخه‌زایی و ریشه‌دهی قرار داده شدند. پس از این مدت محیط‌ها توسط قارچ تلقیح شده و سپس در همان شرایط محیطی ذکر شده نگهداری شدند؛ و در شیشه‌های شاهد در کنار گیاهچه پلاگ بدون قارچ

3- *in vivo*

4- Chlorophyll Content Meter

1- *in vitro*

2- Woody Plant Medium

نتایج

- برقرارسازی همزیستی میان گیاهچه‌های سفید

پلت و قارچ اکتومیکوریز

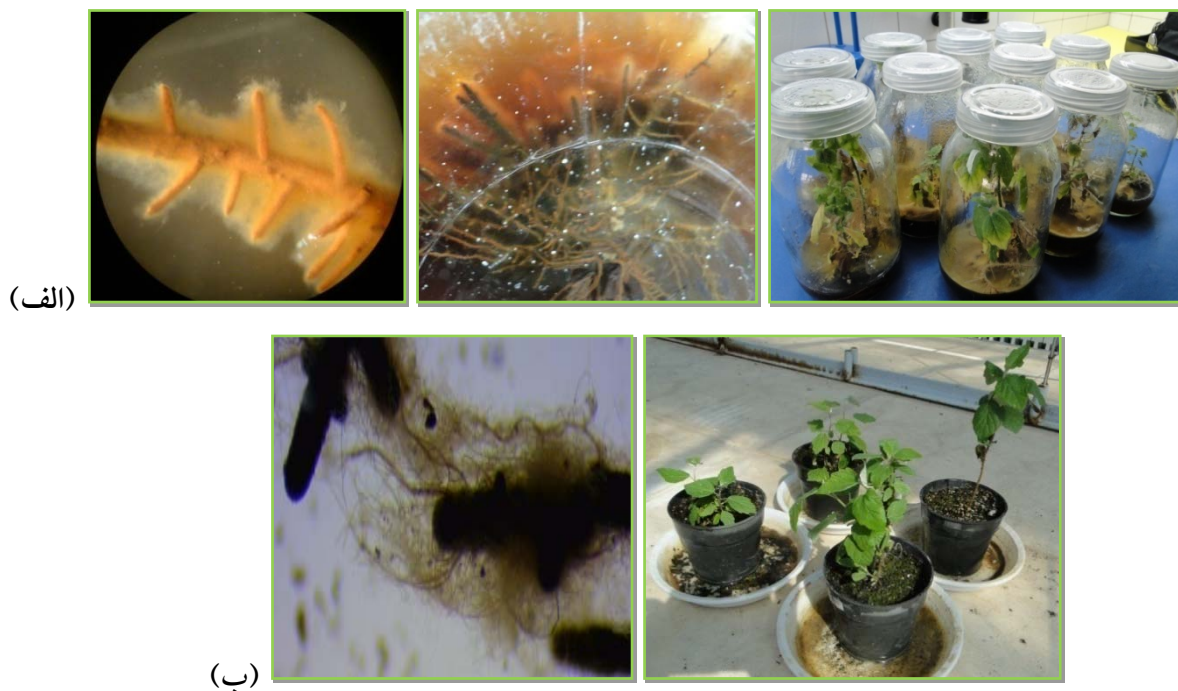
پس از ۱۰ هفته نگهداری همزمان قارچ و گیاه در محیط همزیستی در شرایط آزمایشگاهی، میسلیم قارچی اطراف سیستم ریشه گیاه را احاطه نمود. این مسئله موجب برقراری تعامل بالاتر میان قارچ و گیاه و افزایش درصد کلونیزاسیون گیاه توسط قارچ در مرحله سازگارسازی^۶ و انتقال گیاهان به خاک شد. به طوری که پس از ۱۳ هفته نگهداری گیاهچه‌های صنوبر تلقیح شده با قارچ اکتومیکوریز در گلخانه، همزیستی اکتومیکوریزایی در بیش از ۶۵ درصد سیستم ریشه‌ای این گیاهچه‌ها وجود داشت (شکل ۱).

فتوستنتر، تعرق و هدایت روزنه‌ای توسط دستگاه LCA-4، ACD بین ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح ثبت گردید. از میان متغیرهای رشد نیز ارتفاع ساقه و طول ریشه اصلی گیاهچه (به وسیله خط‌کش تا دقت میلی‌متر) مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس گیاهچه‌ها برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک به دو قسمت شاخ و برگ و ریشه تقسیم شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک بافت به مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. همچنین میزان نسبی آب گیاهان^۷ بر اساس رابطه زیر محاسبه شد:

$$۱۰۰ \times \text{وزن تر} / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}) = \text{میزان نسبی آب} \%$$

- تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver انجام شد.



شکل ۱- برقراری همزیستی میان گیاهچه‌های سفید پلت و قارچ اکتومیکوریز
(الف: همزیستی در آزمایشگاه، ب: همزیستی در گلخانه)

معنی‌داری روی فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و کلروفیل داشته است. هم‌چنین تیمار تنش خشکی نیز روی مشخصه‌های اندازه‌گیری شده مذکور اثر معنی‌دار داشت (جدول ۱).

- تأثیر قارچ میکوریز روی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه
نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تأثیر برقراری همزیستی میکوریزایی روی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاهچه‌های سفید پلت نشان داد که تیمار میکوریز تأثیر

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس خصوصیات فیزیولوژیکی گیاهچه‌های سفید پلت در تیمارهای مختلف

میانگین مربعات				درجه آزادی	منبع تغییرات
کلروفیل	هدایت روزنه‌ای	تعرق	فتوسنتز		
۳/۵۹۷★★	۰/۰۰۲★★	۱/۳۰۵★★	۶/۰۶۳★★	۱	همزیستی میکوریزایی
۱۲/۴۶۴★★	۰/۰۰۵★★	۱/۵۵۷★★	۱۰/۳۲۳★★	۱	خشکی
۰/۹۱۳	۳/۰۰۸	۰/۰۲۸	۰/۲۳۲	۱	تأثیر متقابل تیمارها
۰/۲۰۵	۲/۳۷۵	۰/۰۴۷	۰/۱۸۳	۸	خطا

★★ در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار

پس از مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون دانکن مشخص شد که میزان فتوستنز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و کلروفیل در تیمار برقراری همزیستی میکوریزایی بطور معنی‌داری از گیاهچه‌های فاقد همزیستی بیشتر بود؛ تیمار آبیاری نیز در مقایسه با تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار این مشخصه‌ها شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات فیزیولوژیکی گیاهچه‌های سفید پلت در تیمارهای مختلف توسط آزمون دانکن

تیمار	فتوستنز ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	تعرق ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	هدایت روزنه‌ای ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	کلروفیل ($\mu\text{g cm}^{-2}$)
خشکی	۱/۵۳±۰/۲۰ c	۰/۲۴±۰/۰۵ c	۰/۰۲۱±۰/۰۰۵ d	۵/۵۷±۰/۲۵ c
آبیاری	۳/۶۷±۰/۰۷ b	۰/۸۶±۰/۰۳ b	۰/۰۶۱±۰/۰۰۱ b	۸/۱۶±۰/۱۱ a
میکوریز+خشکی	۳/۲۳±۰/۲۲ b	۰/۸۰±۰/۰۸ b	۰/۰۴۵±۰/۰۰۱ c	۷/۲۲±۰/۳۴ b
میکوریز+آبیاری	۴/۸۱±۰/۳۹ a	۱/۶۲±۰/۲۳ a	۰/۰۹۱±۰/۰۰۳ a	۸/۷۱±۰/۲۹ a

حروف مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار می‌باشد

معنی‌دار داشته است (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون دانکن نشان داد که گیاهان تلقیح شده با قارچ بطور معنی‌داری دارای ارتفاع ساقه و بیومس ریشه، ساقه و برگ بیشتری نسبت به گیاهان فاقد همزیستی میکوریزایی بودند؛ در حالیکه طول ریشه اصلی در گیاهچه‌های میکوریزایی شده نسبت به گیاهچه‌های فاقد همزیستی کوتاه‌تر بود (شکل ۲).

- تاثیر قارچ میکوریز روی وضعیت آبی و ویژگی‌های رشد گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به میزان رشد گیاهچه‌های سفید پلت تلقیح شده با قارچ میکوریز نشان داد که برقراری این همزیستی تاثیر معنی‌داری روی تمام این مشخصه‌ها اعم از طول ریشه اصلی، ارتفاع شاخه و نیز بیومس گیاه داشته؛ درحالی‌که تیمار آبیاری تنها روی طول ریشه اصلی و بیومس ریشه اثر

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های رشد گیاهچه‌های سفید پلت در تیمارهای مختلف

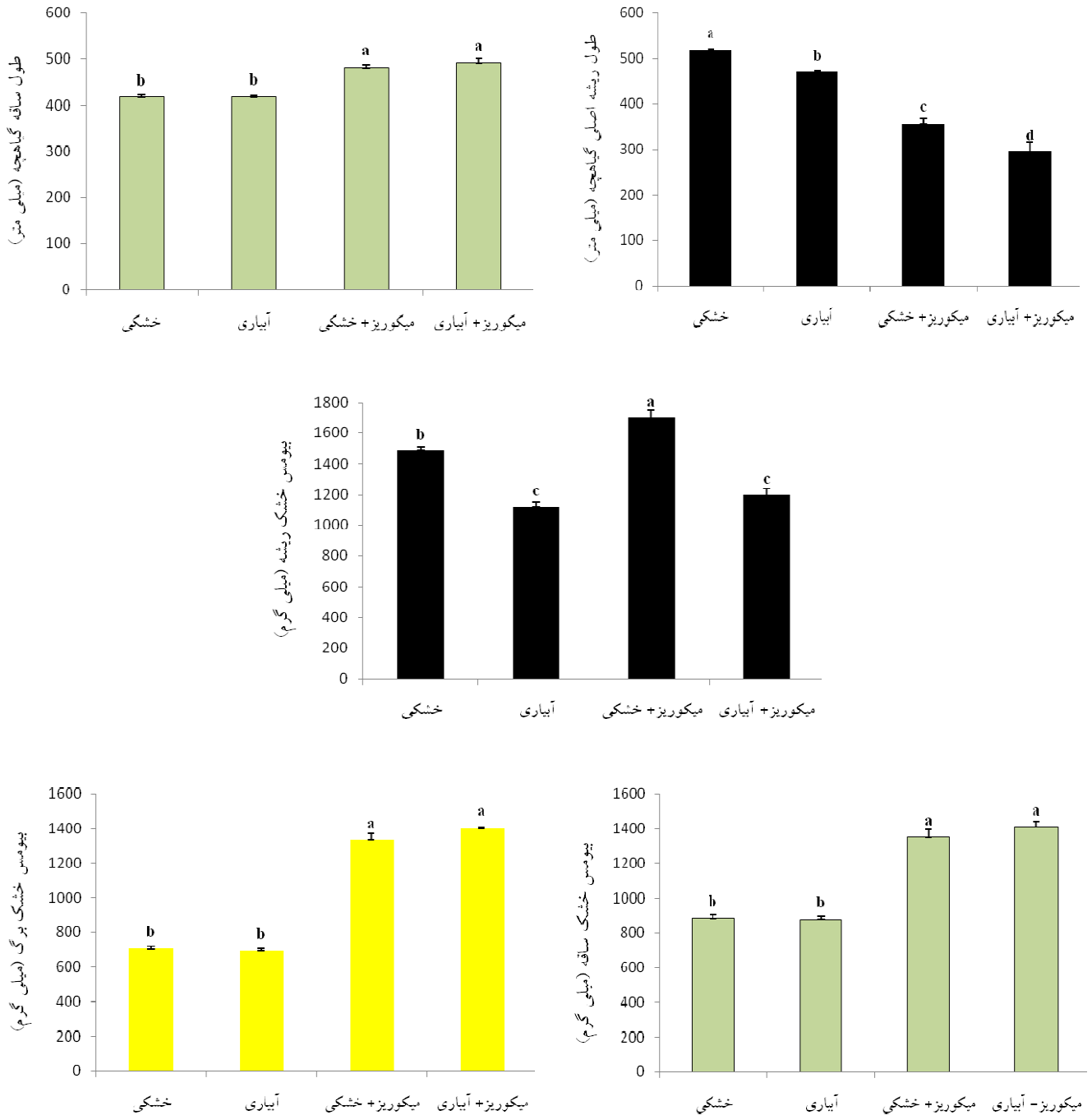
میانگین مربعات					درجه آزادی	منبع تغییرات
بیومس برگ (میلی گرم)	بیومس ساقه (میلی گرم)	بیومس ریشه (میلی گرم)	ارتفاع ساقه (میلی متر)	طول ریشه اصلی (میلی متر)		
۱۳۳۹۳۴۰/۰۳★★	۷۴۷۵۰۲/۰۸★★	۶۴۱۶۷/۱۸۸★★	۱۴۶۳۰/۰۸۳★★	۸۵۹۳۶/۶۸۸★★	۱	همزیستی میکوریزایی
۲۲۱۴/۷۵	۲۰۰۲/۰۸۳	۵۶۴۴۱۷/۱۸۸★★	۸۵/۳۳۳	۹۲۶۸/۵۲۱★★	۱	خشکی
۴۸۴۰/۰۸	۳۱۶۸/۷۵۰	۱۵۲۲۹/۶۸۸	۶۰/۷۵۰	۱۵۰/۵۲۱	۱	تاثیر متقابل تیمارها
۱۵۸۷/۳۳۳	۲۷۰۰	۴۲۰۱/۰۲۱	۱۱۷/۶۶۷	۴۶۱/۹۳۷	۸	خطا

★★ در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار

★ در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار

نیز بیومس ریشه تحت تنش خشکی افزایش یافت (شکل ۲).

همچنین تنش خشکی اثر معنی داری روی ارتفاع ساقه و بیومس ساقه و برگ نداشت؛ در حالی که طول ریشه اصلی و



شکل ۲- مقایسه میانگین ویژگی‌های رشد گیاهچه‌های سفید پلت در تیمارهای مختلف توسط آزمون دانکن

همچنین پس از جمع‌آوری داده‌های رشد گیاهچه‌های تلقیح شده در مقایسه با شاهد تحت تنش خشکی و آنالیز آنها مشخص شد که تیمار میکوریز و نیز تیمار آبیاری هر دو اثر معنی‌داری روی میزان نسبی آب گیاهان در ریشه، ساقه و برگ داشته‌اند (جدول ۴). این نتایج نشان داد که میانگین میزان نسبی آب در ریشه، ساقه و برگ بسته به نوع تیمار به ترتیب ۸۳/۰۸ -

۶۳/۸۸، ۵۴/۹۵ و ۷۸/۴۷ - ۵۸/۵۹٪ بود. پس از مقایسه میانگین داده‌ها در تیمارهای مختلف به روش آزمون دانکن مشخص شد که میزان نسبی آب در اندام‌های ریشه، ساقه و برگ در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز بیشتر از گیاهچه‌ها غیرمیکوریزی بود (جدول ۵).

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس میزان نسبی آب در گیاهچه‌های سفید پلت در تیمارهای مختلف

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	میزان نسبی آب در ریشه	میزان نسبی آب در ساقه	میزان نسبی آب در برگ
همزیستی میکوریزی	۱	۸۹/۶۵۳★★	۵۱/۰۴۷★	۲۴۱/۳۸۳★★★	
خشکی	۱	۲۴۵/۷۰۸★★★	۶۹/۳۶۰★	۳۵۵/۹۹۴★★★	
تأثیر متقابل تیمارها	۱	۴۲/۹۴۱★	۱۳/۱۲۵	۱۶۰/۷۴۷★	
خطا	۸	۵/۵۰۸	۶/۱۰۹	۱۸/۳۹۳	
★★ در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار					
★ در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار					

جدول ۵- مقایسه میانگین میزان نسبی آب در گیاهچه‌های سفید پلت در تیمارهای مختلف توسط آزمون دانکن

تیمار	میزان نسبی آب در ریشه (درصد)	میزان نسبی آب در ساقه (درصد)	میزان نسبی آب در برگ (درصد)
خشکی	۶۸/۵۶±۰/۸۹ c	۵۴/۹۵±۰/۹ b	۵۸/۵۹±۴/۴۲ b
آبیاری	۸۱/۴±۱/۱۱ ab	۶۱/۸۵±۱/۵۹ a	۷۶/۸۲±۱/۴۳ a
میکوریز+خشکی	۷۷/۸۱±۲/۲۳ b	۶۱/۱۶±۱/۸۲ a	۷۴/۸۹±۱/۴۸ a
میکوریز+آبیاری	۸۳/۱±۰/۵۹ a	۶۳/۸۸±۱/۱۹ a	۷۸/۴۷±۰/۸۶ a

حروف مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار می‌باشد

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهان میکوریزی شده بطور معنی‌داری میزان فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزی داشتند. همچنین با مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که قارچ‌های میکوریز و تیمار آبیاری تأثیر مشابهی روی این خصوصیات فیزیولوژیکی گیاهچه‌های سفید پلت دارند. به طوری که میانگین فتوسنتز و تعرق در تیمار همزیستی میکوریزی همراه با خشکی با میانگین این مشخصه‌ها در تیمار آبیاری در یک سطح قرار گرفتند. این یافته‌ها مطابق با گزارش دیگر محققین است که گزارش نموده‌اند حضور همزیستی میکوریزی روی سیستم ریشه‌ای گیاه با افزایش

نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهان میکوریزی شده بطور معنی‌داری میزان فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزی داشتند. همچنین با مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که قارچ‌های میکوریز و تیمار آبیاری تأثیر مشابهی روی این

میکوریزایی بطور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های غیرمیکوریزایی با غلظت فسفر مشابه در شاخ و برگ بوده است؛ این مسئله نشان می‌دهد برقراری همزیستی میکوریزایی می‌تواند موجب تحریک انجام فتوسنتز در گیاه از طریق مکانیسم‌های دیگری (علاوه بر افزایش فسفر در گیاه) نیز گردد (Rousseau & Reid, 1990). از آنجاکه قارچ‌های اکتومیکوریز برای تامین کربن مورد نیازشان بطور کامل به میزبان گیاهی خود وابسته‌اند، بدون شک سعی در بهبود و افزایش عملکرد سیستم ریشه گیاه خواهند داشت؛ از این‌رو همزیستی میکوریزایی از طریق بهبود قدرت سیستم ریشه گیاه، افزایش سطح قابل دسترس خاک، بهبود خاصیت اسمزی و افزایش جذب آب می‌تواند موجب اصلاح فعالیت آنزیم‌ها و کلروفیل گیاه شده نرخ فتوسنتز را در گیاه میزبان افزایش دهد (Rousseau & Reid, 1990; Martins *et al.*, 1997;) (Marjanovic *et al.*, 2005).

همچنین در این تحقیق گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان تلقیح نشده دارای تعرق و هدایت روزنه‌ای بالاتری بودند. گیاهان در معرض تنش خشکی، از طریق بستن روزنه‌های خود و کاهش میزان تعرق از سطح برگ، موجب کاهش تلفات آب می‌شوند. اما بسته ماندن روزنه‌ها و ممانعت از تعرق گیاه در طولانی مدت اثرات مضرى برای گیاه دارد؛ چراکه تعرق فواید بیشماری از جمله ایجاد نیروی مکشی برای صعود شیره خام، جذب آب و مواد غذایی توسط ریشه، انتقال مواد از قسمتی به قسمت دیگر و تنظیم دمای سطح برگ داشته و از این‌رو روی فتوسنتز نیز تاثیرگذار است (Polle *et al.*, 2006). همان‌گونه که در نتایج این تحقیق مشاهده شد، گیاهچه‌های سفید پلت در مواجهه با تنش خشکی روزنه‌های

جذب آب و بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه، منجر به افزایش میزان فتوسنتز آن می‌گردد (Martins *et al.*, 1998; Nylund & Wallander, 1997; 1996). تاکنون دو فرضیه برای توضیح این افزایش میزان فتوسنتز توسط محققین پیشنهاد شده است؛ فرضیه اول^۷ مربوط به افزایش جذب عناصر غذایی، بخصوص فسفر و ازت می‌باشد (Reid *et al.*, 1993)؛ اما فرضیه دوم^۸ مربوط به دریافت کربوهیدرات توسط قارچ از گیاه است؛ در این فرضیه بیان می‌شود که با جذب کربن از گیاه، گیاه بطور مداوم نیازمند انجام فتوسنتز بیشتر خواهد بود (Martins *et al.*, 1997). در مجموع بهبود وضعیت غذایی گیاهان میکوریزایی (بخصوص از نظر عناصر فسفر و ازت) یک پدیده بخوبی اثبات شده است و بالا رفتن نرخ فتوسنتز به دنبال این افزایش عناصر در گونه‌های گیاهی متفاوتی گزارش شده است (Reid *et al.*, 1993; Finlay, 1996; Wallander & Nylund (1992) گزارش نمودند که افزایش جذب عنصر فسفر توسط گیاه موجب افزایش تولید کربوهیدرات‌ها در گیاه می‌شود؛ در اینصورت در گیاهان میکوریزایی نشده تجمع نشاسته در کلروپلاست صورت گرفته و این مسئله موجب کاهش نرخ فتوسنتز می‌گردد. همچنین این محققین نتیجه گرفته‌اند که به این ترتیب در گیاهان میکوریزایی (که فرآیند جذب عنصر فسفر توسط قارچ برای گیاه و جذب کربن از گیاه توسط قارچ در جریان است) افزایش فتوسنتز یک پدیده قابل توجیه است؛ چراکه در این گیاهان تجمع کربوهیدرات‌ها و در نتیجه ممانعت از فتوسنتز صورت نمی‌گیرد. اگرچه، مطالعات دیگری نشان داده‌اند نرخ فتوسنتز در گیاهچه‌های

7- Nutritional effect concept

8- Source sink concept

(2005; Nylund & Wallander, 1998).

محتوای کلروفیل برگ یک شاخص فیزیولوژیک مهم برای اندازه‌گیری میزان فتوسنتز است (Kumar et al., 2010)؛ چراکه کلروفیل با جذب نور خورشید نقش مهمی در فتوسنتز گیاه ایفا می‌کند. نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهچه‌های میکوریزایی سفید پلت نسبت به گیاهچه‌های غیرمیکوریزایی میزان کلروفیل بیشتری دارند و این مسئله با نتایج دیگر محققین مطابقت دارد (Martins et al., 2010; 1997; Kumar et al., 1996).

نتایج این تحقیق نشان داد برقراری همزیستی میکوریزایی بطور معنی‌داری موجب افزایش بیومس ساقه، برگ و ریشه و نیز طول ساقه گیاهچه‌های سفید پلت نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی شده است. بر اساس نتایج Finlay (۱۹۹۶) افزایش فتوسنتز و تجمع کربوهیدرات در گیاه منحصراً به نفع شریک قارچی نیست، بلکه بخشی از این محصولات فتوسنتز به ترکیبات مورد نیاز برای ساخت بیومس گیاهی تبدیل می‌گردد و بدین ترتیب وزن خشک و تر اندام‌های گیاهی بیشتر خواهد شد؛ این مسئله مطابق با یافته‌های دیگر محققین می‌باشد (Reid et al., 1993; Martins et al., 1996, 1997). از سوی دیگر، طول ریشه اصلی در گیاهچه‌های میکوریزایی شده کوتاه‌تر از گیاهچه‌های فاقد همزیستی بود. قارچ‌های میکوریز با گسترش میسلیم خود در خاک و جذب عناصر معدنی و آب از فواصل دور نیاز گیاه را برای افزایش طول ریشه مرتفع ساخته و در نتیجه‌ی این بهبود در دسترسی گیاه به آب، طول ریشه در گیاهچه‌های میکوریزایی کمتر خواهد بود. درحالی‌که طول ریشه اصلی و نیز بیومس ریشه تحت تنش خشکی افزایش یافت تا اینکه گیاه بتواند آب را از فواصل دورتری جذب کند.

خود را بسته و میزان تعرق را تا حد زیادی کاهش دادند که در نهایت این فرآیند موجب کاهش فتوسنتز و رشد آنها شد، اما از سوی دیگر، برقراری همزیستی میکوریزایی در شرایط تنش میزان تعرق و هدایت روزنه‌ای را بهبود بخشید (جدول ۲). بهبود هدایت روزنه‌ای و تعرق گیاهچه‌های *Ziziphus spinosa* (Bunge) Hu ex F. H. (Chen et al., 2007) و *Castanea sativa* (Martins et al., 1996) نیز در اثر همزیستی با قارچ‌های میکوریز گزارش شده است. براساس یافته‌های Allen (۱۹۹۱)، تحت تنش خشکی، گیاهانی که میکوریزایی شده‌اند (نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی) از طریق باز نگه‌داشتن روزنه‌های خود قادرند مقدار بیشتری دی‌اکسید کربن را جذب کنند؛ به‌طوری‌که در گیاه میکوریزایی نشده *Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Griffiths. در شرایط تنش خشکی نسبت به گیاهان میکوریزایی سریعتر روزنه‌ها بسته شد، از این‌رو گیاهان تلقیح شده با قارچ با تاخیر در بستن روزنه‌های خود توانستند به فتوسنتز ادامه دهند. در حالت کلی باز و بسته شدن روزنه‌ها از طریق نگه‌داشتن غلظت میان سلولی دی‌اکسید کربن در گیاه در یک سطح پایدار، موجب توانایی سلولها در تثبیت دی‌اکسید کربن می‌شوند (Chandler & Dale, 1993). حال با در نظر گرفتن این مسئله که در گیاهان میکوریزایی شده نیز از طریق شریک قارچی عناصر معدنی و آب به میزان بیشتری در دسترس قرار گرفته و نرخ فتوسنتز افزایش می‌یابد و بدین ترتیب غلظت میان سلولی دی‌اکسید کربن در یک سطح ثابت و پایدار نگه داشته می‌شود؛ می‌توان نتیجه گرفت روزنه‌های این گیاهان تحت تنش خشکی می‌تواند مدت زمان بیشتری باز بماند (Jinying et al., 2007; Choi et al., 2007).

که در این پژوهش ما را یاری نمودند سپاسگزاریم.

منابع مورد استفاده

- Allen, M.F., 1991. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press, Cambridge, 184 p.
 - Asadi, F., Mirzaei-Nadushan., H., Modirrahmati, E. & Naderi-shaahab, M.E., 2005. Identification of poplar clones using morphological markers. Iranian J. Forest and Poplar Research, 12: 267-300.
 - Auge R.M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza, 11: 3-42.
 - Breda, N., Huc, R., Granier, A. & Dreyer, E., 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. Annals of Forest Science, 63: 625-644.
 - Chandler, J.W. & Dale, J.E., 1993. Photosynthesis and nutrient supply in needles of Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.). New Phytologist, 125:101-111.
 - Choi, D.S., Quoreshi, A.M., Maruyama, Y., Jin, H.O. & Koike, T., 2005. Effects of ectomycorrhizal infection on growth and photosynthetic of *Pinus densiflora* seedling grown under elevated CO₂ concentrations. Photosynthetica, 43(2): 223-229.
 - Ciaia, P.H., Reichstein, M., Viovy, N., Granier, A., Allard, V., Aubinet, M. & Buchmann, N., 2005. Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. Nature, 437: 529-533.
 - Emam, M. & Shahrzad, Sh., 2001. Micropropagation of *Populus caspica*. Pajouhesh va Sazandegi in Natural Resource, 53:84-90.
 - Finlay, R.D., Brun, A., Chalot, M. & Soderstrom, B., 1996. Interactions in the carbon and nitrogen metabolism of ectomycorrhizal associations: 279-283. In: Azcon-Aguilar, C. & Barea, J.M., (Eds.). Proceedings of the 4th European Symposium on Mycorrhizas. Granada European Commission. Mycorrhizas in integrated systems from genes to plant development.
 - Green, J.J., Baddeley, J.A., Cortina, J. & Watson, C.A., 2005. Root development in the Mediterranean shrub *Pistacia lentiscus* as affected by nursery treatment. Journal of Arid Environment, 61: 1-12.
 - Han, S.H., Kim, D.H., Lee, J.C., 2011. Effects of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and Cd on physiological properties and Cd uptake by *Populus alba*. Journal of Ecology and Field Biology, 34(4): 393-400.
 - Han, S.H., Lee, K.J., Hyun, J.O., 2001. The Cd and Pb accumulation in various tissues of rooted cuttings of Luo و همکاران (۲۰۰۹) و Green و همکاران (۲۰۰۵) نیز کاهش رشد طولی ریشه پس از برقراری همزیستی میکوریزایی را گزارش نموده‌اند. در واقع گیاه همزیست با قارچ میکوریز بیشتر انرژی خود را صرف بخش‌های هوایی می‌کند؛ بدین ترتیب افزایش بیومس شاخ و برگ گیاهچه‌های میکوریزایی نتیجه‌ی این مسئله است. افزایش وزن برگ، ساقه و ریشه گیاهچه‌های میکوریزایی در گونه‌های *Quercus faginea*, *Pinus halepensis* Miller (Nunez et al.,) *Q. petrea* (Matt.) Liebl و Lam. Choi et) *Pinus densiflora* Siebold & Zucc. (2008)، *C. sativa* (Martins et al., 1996) و کاج (al., 2005)، در مقایسه با گیاهچه‌های میکوریزایی نشده نیز گزارش شده است که مطابق با نتایج این تحقیق است.
- بطور کلی نتایج بدست آمده از این تحقیق، برقراری همزیستی اکتومیکوریزایی موجب افزایش رشد و اصلاح خصوصیات فیزیولوژیکی و رشد گیاهچه‌های سفید پلت شده و با وجود اینکه تنش خشکی موجب کاهش این مشخصه‌ها شد قارچ میکوریز توانست همانند تیمار آبیاری این کاهش‌ها را به میزان قابل توجهی جبران کند. این مسئله نشان دهنده‌ی جایگاه ویژه قارچ‌های میکوریز در حفاظت اصولی از گونه‌های گیاهی در برنامه‌های مدیریت جنگل‌های کشور بوده و راهکاری مناسب جهت افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی را ارائه می‌دهد.

سپاسگزاری

این تحقیق در گروه مستقل تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور انجام گردید؛ از این‌رو از مسئولان موسسه و گروه مذکور

- sativa* Mill. Mycorrhiza, 6 :265–270.
- Martins, A., Casimiro, A. & Pais, M.S., 1997. Influence of mycorrhization on physiological parameters of micropropagated *Castanea sativa* Mill. plants. Mycorrhiza, 7 :161–165.
 - Marvi Mohajer, M., 2005. Silviculture, Tehran University Presss, Tehran, 387 p.
 - Marx, D.H. & Bryan, W.C., 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. Forestry Society, 21: 245-254.
 - Marx, D.H., 1977. Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. Canadian Journal of Microbiology, 23: 217-223.
 - Marx, D.H., 1991. Forest Application of the Ectomycorrhizal Fungus *Pisolithus tinctorius*. The Marcus Wallenberg Prize, Stockholm.
 - Murashige, T. & Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiology of Plants, 15:437-442.
 - Nunez, J.A.D., Gonzalez, R.P., Barreal, J.A.R. & Gonzalez, A.S., 2008. The effect of Tuber melanosporum mycorrhization on growth, nutrition and water relations of *Quercus faginea*, *Q. petraea* and *Pinus halepensis* seedlings. New Forest, 35: 159-171.
 - Nylund, J.E. & Wallander, H., 1998. Effects of ectomycorrhiza on host growth and carbon balance in a semi-hydroponic cultivation system. New Phytologist, 112 :389–398.
 - Oliveira, P., Barriga, J., Cavaleiro, C., Peixe, A. & Potes, A.Z., 2003. Sustained *in vitro* root development obtained in *Pinus pinea* inoculated with ectomycorrhizal fungi. Forestry, 76: 579-587.
 - Parhizkar, P., Ali Ahmad Korori, S. & Moraghebi, F., 2002. Peroxidase enzyme in order to lookoing for resistance individuals. Pajouhesh and Sazandegi Journal, 56: 44-47.
 - Polle, A., Altman, A. & Jiang, X.N., 2006. Towards genetic engineering for drought tolerance in trees: 275–297. In: Fladung, M. & Ewald, D., (Eds.). Tree Transgenesis: recent developments. Springer Verlag, Berlin.
 - Reid, C.P.P., Kidd, F.A. & Ekwebelam, S.A., 1993. Nitrogen nutrition, photosynthesis and carbon allocation in ectomycorrhizal pine. Plant Soil, 71 : 415–431.
 - Rennenberg, H., Loreto, L., Polle, A., Brilli, F., Fares, S., Beniwal, R.S. & Gessler, A., 2006. Physiological responses of forest trees to heat and drought. Plant Biology, 8: 556–571.
 - Rousseau, J.V.D. & Reid, C.P.P., 1990. Effects of phosphorus and ectomycorrhizas on the carbon four *Populus* species inoculated with ectomycorrhizal fungi, *Pisolithus tinctorius*. Journal of Korean Forestry Society, 90: 495-504.
 - Jalili, A. & Jamzad, Z., 1999. Red Data Book of Iran. Iranian Research Institute of Forest and Rangeland, 748 p.
 - Jalilvand, H., 1988. Assesment Distribution and Ecological Characteristics of *Populus caspica* Bornm Species in North Forest of Iran. PhD thesis, Tarbiat Modares University. Tehran, 262 p.
 - Jinying, L., Min, L., Yongmin, M. & Lianying, S., 2007. Effects of mycorrhizas on the drought resistance of wild jujube (*Zizyphs spinosuus*) seedlings. Frontiers of Agriculture in China, 1(4): 468-471.
 - Kumar, A. Sharma, S. & Mishra, S., 2010. Influence of AM fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. Plant Growth Regulation, 29: 297-306.
 - Lambilliotte, R., Cooke, R., Samson, D., Fizames, C., Gaynard, F., Plassard, C., Tatry, M.V., Berger, C., Laudie, M., Legeai, F., Karsenty, E., Delseny, M., Zimmermann, S. & Sentenac, H., 2004. Large-scale identification of genes in the fungus *Hebeloma cylindrosporum* paves the way to molecular analyses of ectomycorrhizal symbiosis. New Phytologist, 164: 505–513.
 - Landhausser, S.M., Muhsin, T.M. & Zwiazek, J.J., 2002. The effect of ectomycorrhizae on water relations in aspen (*Populus tremuloides*) and white spruce (*Picea glauca*) at low soil temperatures. Canadian Journal of Botany, 80: 684–689.
 - Lioyd, G.B. & Mc Crown, B.H., 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain lourel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. Proceedings of the International Plant Propagator's Society, 30:421-437.
 - Luo, Z.B., Janz, D., Jiang, X., Gobel, C., Wildhagen, H., Tan, Y., Rennenberg, H., Feussner, I. & Polle A., 2009a. Upgrading Root Physiology for Stress Tolerance by Ectomycorrhizas: Insights from Metabolite and Transcriptional Profiling into Reprogramming for Stress Anticipation. Plant Physiology, 151: 1902-1917.
 - Luo, Z.B., Li, K., Jiang, X. & Polle, A., 2009b. The ectomycorrhizal fungus (*Paxillus involutus*) and hydrogels affect drought tolerance of *Populus euphratica*. Annals of Forest Science, 66: 106-170.
 - Marjanovic, Z., Nehls, U. & Hampp, R., 2005. Mycorrhiza formation enhances adaptive response of hybrid poplar to drought. Annals of the New York Academy of Sciences, 1048: 496–499.
 - Martins, A., Barroso, J. & Pais, M.S., 1996. Effect of ectomycorrhizal fungi on survival and growth of micropropagated plants and seedlings of *Castanea*

- balance of loblolly pine seedlings. Forest Science, 36 :101–112.
- Schar, C., Vidale, P.L., Luthi, D., Frei, C., Haberli, C., Mark, A., Liniger, M.A. & Appenzeller, C., 2004. The role of increasing temperature variability in European summer heat waves. Nature, 427: 332–336.
 - Sixto, H., Aranda, I. & Grau, J.M., 2006. Assessment of salt tolerance in *Populus alba* clones using chlorophyll fluorescence. Photosynthetica, 44: 169–173.
 - Smith, S.E. & Read, D.J., 2008. Mycorrhizal Symbiosis. 3rd ed. San Diego, CA: Academic Press, 787 p.
 - Wallander, H. & Nylund, J.E., 1992. Effects of excess nitrogen and phosphorus starvation on the extramatrical mycelium of ectomycorrhizas of *Pinus sylvestris* L. New Phytologist, 120: 495–503.
 - Ziyai Ziyabari, S.F., 1993. Genetic Resources of Poplar Species in Iran and Their Protection Methods. Pajouhesh and Sazandegi Journal, 16:28–31.