

بصود تحمل تنش شوری در نارنج سه برگ (*Poncirus trifoliata* L.) با استفاده از قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار^۱

Enhancing Salinity Stress Tolerance in *Poncirus trifoliata* L. Using
Arbuscular Mycorrhizal Fungi

مرضیه هادیان دلجو و محمود اثنی عشری^{۲*}

چکیده

مرکبات جز گیاهان حساس به شوری می‌باشند. در پژوهش حاضر واکنش دانهال‌های نارنج سه‌برگ در شرایط تنش شوری و در حضور Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) مورد بررسی قرار گرفت. دانهال‌های ۴۰ روزه نارنج سه‌برگ، ۱۷۵ روز پس از مایه‌زنی با سه گونه AMF در ۵ سطح بهصورت ترکیبی شامل *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Glomus hoi*, *Glomus intraradices mosseae* + *Glomus hoi* و بدون مایه‌زنی (شاهد)، بهمدت ۴۵ روز در برابر غلظت‌های صفر (شاهد)، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم قرار گرفتند. میکوریزاسیون بمویژه با ترکیب *G. mosseae* + *G. hoi* موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل و اسмолیت‌ها شد. کاهش قابل توجهی در مقدار مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در برگ‌های دانهال‌های مایکوریزا نسبت به دانهال‌های غیرمایکوریزا مشاهده گردید. با افزایش شوری، غلظت سدیم و کلر در برگ بهطور معنی‌داری افزایش و غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم کاهش یافت. از سوی دیگر، مایه‌زنی با AMF منجر به افزایش معنی‌دار غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در دانهال‌های مایکوریزا گردید. بهطور کلی، همزیستی AMF توانست از راه افزایش ماده‌ای غذایی برگ و کاهش آسیب اکسیداتیو به دانهال‌های نارنج سه‌برگ در برابر شوری کمک موثری نماید.

واژه‌های کلیدی: مایه‌زنی، مالون دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، آسیب اکسیداتیو.

مقدمه

مرکبات بخشی از محصول‌های کشاورزی اقتصادی و مهم در بخش‌های شمال و جنوب ایران هستند. ایران با تولید به تقریب ۳٪/۵ مرکبات جهان جزء ۷ کشور برتر تولیدکننده این محصول در دنیاست. نارنج سه‌برگ، یکی از بهترین پایه‌های مرکبات است و دورگه‌های متعدد تجاری از آن تهیه شده که با اهمیت می‌باشند و به عنوان پایه پاکوتاگ کننده استفاده می‌شود. یکی از مهمترین عوامل محدودکننده کشت مرکبات در نواحی خشک و نیمه‌خشک، شوری می‌باشد که بهطور پیوسته و آرام در جهان رو به گسترش است. در مقایسه با دیگر محصول‌های باغی، مرکبات جزء گیاهان خیلی حساس به شوری دسته‌بندی می‌شوند، زیرا سطح‌های بدنسبت پایین شوری در این گیاهان منجر به ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی می‌گردد. نارنج سه‌برگ به یون کلراید موجود در خاک حساس بوده و در واکنش به آن تحریک به تولید اتیلن می‌شود و در مدت زمان کوتاهی با نشان دادن نشانه‌های سمیت، برگ‌ها شروع به ریزش می‌کنند. همچنین در خاک‌های شور، خاک‌های شور pH بالا و آهکی رشد مطلوبی نداشته و این مسئله قدرت رشد و مقاومت آن را در برابر سرما کاهش می‌دهد. به‌منظور کاهش شوری خاک و کاستن از اثرهای مخرب آن روی گیاه، روش‌های متعددی پیشنهاد و به کار گرفته شده‌اند، اما عدم کارایی و هزینه‌بر بودن این روش‌ها باعث

۱- تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۲۹

۲- تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۲

۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (m.esnaashari@basu.ac.ir)

شده تا پژوهشگران به دنبال روش‌های موثرتری برای حل مسئله شوری باشند. مایکوریزا که مرکب از دو واژه myco به معنی قارچ و rhiza به معنی ریشه است به مفهوم همزیستی سازنده بین یک قارچ و ریشه‌های یک گیاه می‌باشد و مایکوریزا آربوسکولار، رایج‌ترین نوع قارچ‌های خاکزی هستند که همزیستی آن‌ها با ریشه گیاهان اهمیت بوم‌شناسی و اقتصادی فراوانی دارد (۱۷). این قارچ‌ها در افزایش جذب عنصرهای معدنی، بهویژه فسفر (۵)، افزایش رشد، افزایش ضریب فتوسنتزی (۱۳)، افزایش عملکرد آب قابل استفاده توسط گیاه، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش مقدار پروتئین و بالا بردن مقدار لپیدها و قندها (۵)، افزایش ضریب هدایت هیدرولیکی ریشه (۱۳)، سطح برگ، حفظ عملکرد و کیفیت میوه در شرایط کمبود ماده‌های غذایی، افزایش مقاومت گیاه میزان در برابر عوامل بیماری‌زا خاکی و حفظ خاکدانه‌ها (۲۴) نقش دارند. قارچ آربوسکولار با جلوگیری از جذب سدیم و کلر یا انتقال کمتر آن‌ها به اندام هوایی در خاک‌های شور تحمل گیاهان به شوری را افزایش می‌دهد. افزایش رشد گیاه زیر تنش شوری به دنبال کلونیزاسیون مایکوریزا ممکن است به سبب افزایش جذب فسفر توسط این قارچ باشد (۱۳). در واقع قارچ مایکوریزا می‌تواند به طور انتخابی عنصرهایی مانند پتاسیم و کلسیم را که در تعادل اسمزی یاخته نقش دارند جذب کند، در حالی که از جذب سمی سدیم جلوگیری می‌کند. بنابراین، می‌تواند اثر تنش شوری را در گیاه کاهش دهد. قارچ‌های مایکوریزا با ریشه گیاهان مختلف از جمله مرکبات رابطه همزیستی ایجاد می‌کنند و تاثیر گسترده‌ای بر رشد آن‌ها دارند. ریشه‌های مرکبات تمایل زیادی برای برقراری رابطه با قارچ‌های مایکوریزا دارند. از آنجایی که سیستم ریشه‌ای مرکبات کوچک، سطحی و در برابر تنش شوری آسیب‌پذیر است، قارچ‌های مایکوریزا ممکن است قدرت ماندگاری دانهال‌ها را با بهبود ارتباطهای آبی افزایش دهند. همچنین، تغییر ساختار ریشه در مرکبات کلونیزه شده با قارچ مایکوریزا می‌تواند عملکرد ریشه را در جذب آب بیشتر و تغذیه، در شرایط تنش شوری افزایش دهد (۲۵).

از آن‌جا که قارچ‌های آربوسکولار یکی از انواع کودهای زیستی محسوب می‌شوند و از راه همزیستی با ریشه گیاهان موجب افزایش کارآیی جذب عنصرهای غذایی پر مصرف و کم مصرف و نیز کاهش اثر تنش‌های زنده و غیرزنده می‌گردد، این پژوهش برآن شد تا تأثیر ۳ گونه قارچ مایکوریزا (*G. hoi* و *G. intraradices* و *G. mosseae*) روی نارنج سهبرگ را در شرایط تنش شوری مورد مطالعه قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه و آزمایشگاه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان اجرا شد. پژوهش به صورت یک آزمایش فاکتوریل با ۲ فاکتور بر پایه طرح به طور کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل تنش شوری در ۳ سطح (صفر (شاهد)، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و مایه‌زنی دانهال‌ها با قارچ در ۵ سطح به صورت ترکیبی شامل *Glomus Glomus hoi + Glomus intraradices*. *Glomus mosseae + Glomus hoi mosseae + Glomus intraradices* و *Glomus intraradices + Glomus hoi mosseae + Glomus intraradices + Glomus hoi* گلدان و هر تکرار شامل ۵ دانهال بود. بذرهای نارنج سهبرگ (*Poncirus trifoliata* L.) از پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرم‌سیری تهیه گردیدند و سپس در اتانول ۷۰٪ به مدت ۵ دقیقه گندздایی و به دنبال آن ۴ مرتبه با آب مقطّر سترون (۵ دقیقه برای هر بار) شستشو داده شدند (۲۶). سه عدد بذر درون هر گلدان پلاستیکی کوچک دارای ماسه مطروب کشت و پس از تنزگی تا مرحله چهار برگی شدن، به طور مرتب آبیاری شدند. در مرحله چهار برگی (۴۰ روز پس از کاشت)، دانهال‌های یکنواخت از لحاظ رشد و ظاهر، انتخاب و به گلدان‌های پلاستیکی (۱۸ سانتی‌متر ارتفاع و ۲۰ سانتی‌متر قطر دهانه) دارای خاک و ماسه (۱:۱ v:v) که پیشتر به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ اتمسفر اتوکلاو گردیده بودند، منتقل شدند (شکل ۱) و هم‌زمان عمل مایه‌زنی با گونه‌های قارچ انجام گرفت. صد گرم از مایه قارچ در عمق ۵ سانتی‌متری بستر گلدان در منطقه ریشه قرار داده شد و سپس یک دانهال در هر گلدان کشت گردید (۵۰ گرم از هر قارچ در ترکیب دوتایی و ۳۳ گرم از هر قارچ در ترکیب سه‌تایی استفاده شد).



Fig. 1. Seeds of *Poncirus trifoliata* L. (1), Three seeds in each pot (2), Forty-day-old seedlings (3 and 4), *Poncirus trifoliata* L. seedlings at the end of the experiment (5 and 6).

شکل ۱- بذرهای نارنج سه برگ (۱)، سه عدد بذر درون هر گلدان (۲)، دانهالهای نارنج سه برگ ۴۰ روزه (۳ و ۴)، دانهالهای نارنج سه برگ در انتهای دوره (۵ و ۶).

گلدانهای شاهد فقط دارای بستر بالا بدون مایه زنی بودند. در مدت انجام آزمایش، گیاهان با ۳۵۰ میلی لیتر محلول هوگلندر هفتاهای یک بار تغذیه شدند (۱۱) و بسته به نیاز که بیشتر از نظر شرایط دمایی بود، به طور معمول آبیاری گردیدند، اما برای ترغیب همزیستی در گلدانهای حاوی قارچهای مایکوریزی، از محلول هوگلندر بدون فسفر استفاده شد. دانهالهای به مدت ۱۷۵ روز در این شرایط نگهداری و سپس به مدت ۴۵ روز در مععرض تنفس شوری با استفاده از کلرید سدیم قرار گرفتند. برای جلوگیری از تنفس ناگهانی، شوری به صورت تدریجی اعمال شد که در انتها غلظت نمک به مقدار مد نظر رسید. گیاهان شاهد نیز تنها با آب مقطر آبیاری شدند. به منظور جلوگیری از انباست نمک در داخل بستر، اجازه داده شد تا زهکشی کامل صورت گیرد. پس از ۴۵ روز از اعمال تیمارهای شوری، ارزیابی‌های مربوطه به عمل آمد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹.۲ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید. میزان کلونیزاسیون، محتوی نسبی آب و نشت یونی برگ، کلروفیل کل برگ، کربوهیدرات محلول و پرولین برگ، پراکسید هیدروژن برگ، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا برگ و عنصرهای غذایی برگ مورد بررسی قرار گرفتند.

کلونیزاسیون ریشه

از روش تلاقي خطوط مشبك برای ارزیابی درصد همزیستی قارچ‌ها با ریشه دانهالهای استفاده شد (۱۹). ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده با تریپان‌بلو به قطعات ۱ تا ۲ سانتی‌متری برش داده شدند و به طور تصادفی در داخل ظرف پتروی پخش شدند. سپس زیر بینوکولار و با کمک کاغذ شترنجی مقدار همزیستی ریشه بر حسب طول ریشه همزیست تعیین شد. تعداد نقاطی از ریشه که با خطوط عمودی و افقی برخورد کرده بودند، شمرده شدند. سپس نقاطی که رنگ آبی پرنگتری داشتند و اندام‌های قارچ را در بر می‌گرفتند نیز شمارش شدند. در پایان از تقسیم این عدد بر کل برخوردها، درصد همزیستی ریشه با قارچ تخمین زده شد. این کار برای همه تیمارهای مایکوریز با ۳ تکرار انجام شد.

محتوی نسبی آب و نشت یونی برگ

محتوی نسبی آب و نشت یونی برگ بر حسب درصد و طبق فرمول زیر و به ترتیب مطابق با روش Kaya و همکاران (۱۲) و Lutts و همکاران (۱۵) اندازه‌گیری شد.

$$\frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن آماس برگ}} \times 100 = \text{محتوی نسبی آب}$$

$$\frac{\text{هدایت الکتریکی اولیه}}{\text{هدایت الکتریکی ثانویه}} \times 100 = \text{نشت یونی برگ}$$

کلروفیل کل برگ

استخراج و ارزیابی مقدار کلروفیل برگ‌ها در طول موج‌های ۶۶۴ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Carry 100, Varian Analytical Instruments, Walnut Creek, CA, USA) و مطابق با روش Porra (۲۱) انجام شد.

کربوهیدرات محلول و پرولین برگ

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول از روش Paquin و Lechasseur (۱۸) در طول موج ۶۲۵ نانومتر و برای پرولین از روش Bates و همکاران (۴) در طول موج ۵۲۰ نانومتر از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد.

پراکسید هیدروژن برگ

مقدار پراکسید هیدروژن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر بعد از واکنش با یدید پتابسیم و براساس روش Alexieva و همکاران (۳) اندازه‌گیری شد.

پراکسیداسیون لیپیدهای غشا برگ

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء براساس غلظت مالون‌دی‌آلدئید تولید شده در اثر آسیب به غشاء و واکنش آن با تیوباربیتوریک‌اسید که کمپلکس رنگی تیوباربیتوریک‌اسید-مالون‌دی‌آلدئید را تشکیل می‌دهد، اندازه‌گیری شد (۶). غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۳۲ نانومتر (A₅₃₂) تعیین شد. برای حذف اثر ترکیب‌های مزاحم، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۰۰ نانومتر (A₄₀₀) خوانده شد و از طول موج ۵۳۲ نانومتر کسر گردید. غلظت کمپلکس تیوباربیتوریک‌اسید-تری‌کلرواستیک‌اسید با استفاده از معادله زیر بر حسب میکرومول در گرم وزن تر محاسبه شد.

$$\frac{A_{532} - A_{400}}{155} \times 100 = \text{غلظت مالون‌دی‌آلدئید}$$

ضریب خاموشی = ۱۵۵ میلی‌مول در سانتی‌متر

عنصرهای غذایی برگ

به منظور اندازه‌گیری مقدار عنصرهای نیتروژن، فسفر، پتابسیم، سدیم، کلر، کلسیم و منیزیم در برگ، ابتدا عصاره به روش Hضم تر و براساس روش Abdel-Shafy و همکاران (۱) تهیه شد و سپس نیتروژن با روش کحدال، فسفر با کمک نیترووآندوموایبدات و به روش رنگ‌سنجی (۱) با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و پتابسیم و سدیم به روش نشر شعله‌ای با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر (مدل G ۴۰۵ ساخت ایران) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری عنصرهای کلسیم با ICP (GBC) و منیزیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Integra XL (GBC) (۲۲۰ انجام شد. برای اندازه‌گیری کلر در بافت گیاهی از روش تیتراسیون با استفاده از نیترات نقره ۰/۰۵ نرمال و در حضور شناساگر کرومات پتابسیم ۰/۵٪ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

کلونیزاسیون ریشه

کلونیزاسیون مایکوریزا در تمام سطوح‌های شوری به جز در دانهال‌های بدون قارچ مایکوریزا مشاهده شد و بالاترین مقدار آن مربوط به دانهال‌های مایه‌زنی شده در فقدان شوری بود که اختلاف معنی‌داری با همه تیمارها داشت (جدول ۱)، ضمن این‌که درصد کلونیزاسیون ریشه با افزایش شوری کاهش یافت.

نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش، کارایی قارچ‌های مایکوریزا آریوسکولار را در کاهش تنفس شوری در نارنج سه‌برگ نشان داد. نتیجه‌های مشابهی برای دیگر گونه‌های گیاهی گزارش شده است (۲۳). این اثربخشی مثبت به‌احتمال به بهبود تغذیه فسفر، جذب آب بیشتر توسط هیفه‌ای قارچ و افزایش تراکم طول ریشه مرتبط می‌باشد. براساس این نتیجه‌ها می‌توان گفت که گیاهان مایکوریزی نسبت به گیاهان غیرمایه‌زنی شده به مقدار کمتری زیر تاثیر تنفس شوری قرار می‌گیرند.

جدول ۱- برهمنکش شوری و همزیستی قارچ بر کلونیزاسیون و ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی دانهال‌های نارنج سه برگ.

Table 1. Interaction of salinity and mycorrhizal symbiosis on the AMF colonization and physiological and biochemical characteristics of trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L.) seedlings.

تیمار Treatment	کلونیزاسیون AMF (%)	محتوی نسبی آب RWC (%)	نشت یونی EC (%)	کلوفیل Chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	قندها Sugars (mg g ⁻¹ FW)	پروولین Proline (μmol g ⁻¹ FW)	پراکسیدهیدروژن H ₂ O ₂ (μmol g ⁻¹ FW)	مالون دی‌آلدهید MDA (μmol g ⁻¹ FW)
S ₁ G ₁	0 ^h	84.57 ^d	16.02 ^{fgh}	2.05 ^{d-g}	32.25 ^g	0.82 ^f	3.43 ^e	2.35 ^d
S ₁ G ₂	32 ^{bcd}	93.26 ^{ab}	9.44 ⁱ	2.49 ^b	42.58 ^{ef}	1.27 ^e	2.64 ^f	2.3 ^d
S ₁ G ₃	50.33 ^a	94.28 ^a	7.61 ⁱ	2.87 ^a	43.76 ^{ef}	1.48 ^{de}	2.15 ^g	1.7 ^e
S ₁ G ₄	38 ^b	94.11 ^a	15.61 ^{gh}	2.42 ^{bc}	38.51 ^f	0.83 ^f	3.31 ^e	1.86 ^e
S ₁ G ₅	35.33 ^{bc}	94.28 ^a	14.96 ^h	2.32 ^{bcd}	39.21 ^{ef}	1.44 ^{de}	3.21 ^e	2.2 ^d
S ₂ G ₁	0 ^h	84.78 ^d	21.65 ^{bcd}	1.57 ^h	43.97 ^{def}	1.5 ^{de}	5.64 ^c	2.7 ^c
S ₂ G ₂	26 ^{def}	91.38 ^{ab}	19.29 ^{def}	2.07 ^{defg}	44.58 ^{de}	1.59 ^d	4.58 ^d	2.7 ^c
S ₂ G ₃	29.66 ^{cde}	86.59 ^{ed}	16.47 ^{efgh}	2.1 ^{defg}	44.75 ^{de}	1.59 ^d	3.59 ^e	2.68 ^c
S ₂ G ₄	29.33 ^{cde}	93.51 ^{ab}	18.67 ^{defg}	2.17 ^{de}	49.62 ^{cd}	1.56 ^d	4.44 ^d	2.3 ^d
S ₂ G ₅	28.33 ^{cdef}	89.63 ^{abc}	19.78 ^{de}	2.13 ^{def}	44.57 ^{de}	1.53 ^d	5.36 ^c	2.65 ^c
S ₃ G ₁	0 ^h	75.09 ^e	25.6 ^a	1.5 ^h	44.1 ^{def}	1.53 ^d	7.93 ^a	3.01 ^a
S ₃ G ₂	13.33 ^g	89.35 ^{bed}	23.66 ^{ab}	2.02 ^{efg}	70.81 ^a	1.86 ^c	6.63 ^b	2.71 ^c
S ₃ G ₃	23 ^{ef}	86.58 ^{cd}	24.66 ^{ab}	1.86 ^{fg}	51.51 ^{bc}	2.62 ^a	6.34 ^b	2.71 ^c
S ₃ G ₄	21.33 ^f	85.84 ^{cd}	23.99 ^{ab}	1.83 ^g	55.17 ^b	1.63 ^d	6.32 ^b	2.91 ^{ab}
S ₃ G ₅	21 ^f	86.27 ^{cd}	22.8 ^{abc}	1.96 ^{efg}	50.6 ^{bc}	2.28 ^b	6.54 ^b	2.76 ^{bc}

† The same letters within each column indicate no significant difference among treatments (P < 0.05).

†† S₁: control, S₂: 35 mmol NaCl, S₃: 70 mmol NaCl.

††† G₁: control, G₂: *G. intraradices* and *G. mosseae*, G₃: *G. mosseae* and *G. hoi*, G₄: *G. hoi* and *G. intraradices*, G₅: *G. hoi* and *G. intraradices* and *G. mosseae*.

‡ حرف‌های مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ می‌باشد.

محتوی نسبی آب برگ

نشش شوری موجب کاهش معنی‌دار در محتوی نسبی آب برگ گردید. بیشترین و کمترین محتوی نسبی آب به ترتیب در شوری‌های شاهد، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. هم‌چنین کمترین محتوی نسبی آب در دانهال‌های غیرماکوریزی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با همه دانهال‌های مایه‌زنی شده نشان داد (جدول ۱). کاهش محتوی نسبی آب برگ همگام با افزایش نشش شوری می‌تواند مربوط به کاهش پتانسیل آب محیط ریشه و کاهش توان گیاه در جذب آب، افزایش مقاومت روزنایی و کاهش تعرق باشد. به طور کلی، شوری در تمام گیاهان باعث از دست رفتن آب برگ‌ها می‌شود که این امر باعث کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد و در شوری شدیدتر، باعث آسیب به برگ‌ها و ریزش آن‌ها می‌گردد. همزیستی قارچ مایکوریزا، بیشتر منجر به کاهش مقدار پتانسیل آب برگ در طول نشش می‌شود (۲۳). به خوبی مشخص است که همزیستی قارچ می‌تواند وضعیت آبی را در گیاهان میزان بهبود بخشد که برای رشد گیاه مفید است. در پژوهشی، که Sheng و همکاران (۲۱) روی ریشه‌های ذرت انجام دادند نیز نقش *G. mosseae* را در بهبود محتوی نسبی آب تایید کردند.

نشست یونی برگ

نشش شوری موجب افزایش معنی‌دار نشست یونی برگ گردید. بیشترین و کمترین مقدار نشست یونی به ترتیب در سطوح‌های شوری ۳۵ و صفر میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۱). افزایش کلونیزاسیون نیز منجر به کاهش معنی‌دار نشست یونی برگ گردید، به طوری که بیشترین نشست یونی در دانهال‌های غیرماکوریزی و با بالاترین سطح شوری مشاهده شد. اگرچه نشست یونی برگ با افزایش نشش شوری بالا رفت، اما این روند در دانهال‌های مایکوریزی شده کمتر بود. نشست یونی ملاک ارزیابی مناسبی برای اختلال در غشا پلاسمایی گیاهانی است که در معرض نشش می‌باشند. نشش شوری بر حفظ یکپارچگی غشا تاثیر منفی دارد که نتیجه آن خروج یون‌ها از یاخته است. گزارش‌های دیگری وجود دارد که بیان کرده‌اند تحمل نشش با

مایه‌زنی قارچ‌های مایکوریزی در انواع گونه‌های گیاهی افزایش می‌یابد و نتیجه‌های پژوهش حاضر با آن گزارش‌ها مطابقت دارند (۱۴).

کلروفیل کل برگ

تیمار شوری موجب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل کل برگ شد، به‌طوری که بیشترین مقدار کلروفیل کل مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن به‌ترتیب در تیمارهای تنفس شدید و میانه مشاهده شد. در مقابل، تیمار قارچ منجر به افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل شد به‌طوری که بالاترین مقدار کلروفیل کل در دانهال‌های مایکوریزی و کمترین آن در دانهال‌های مایه‌زنی نشده مشاهده شد. با افزایش شوری مقدار کلروفیل کل در همه دانهال‌ها کاهش یافت، اما این روند در دانهال‌های مایکوریزی کندر بود (جدول ۱). شوری باعث تخریب کلروپلاست، کمپلکس کلروفیل-پروتئین و کاهش مقدار کلروفیل و رنگدانه‌های دیگر می‌گردد. کاهش کلروفیل منجر به کاهش فتوسنتر شده و در پی آن کاهش فراورده‌های فتوسنتری و نیز کاهش در رشد و عملکرد را به دنبال دارد. علت کاهش مقدار رنگدانه‌ها زیر تاثیر تنفس شوری، می‌تواند به‌دلیل تغییر مسیر سوخت‌وساز نیتروژن در رابطه با ترکیب‌هایی مانند پرولین باشد که در تنظیم اسمزی به کار می‌رود. در این آزمایش، در تنفس شوری مقدار کلروفیل کاهش ولی مقدار پرولین افزایش یافت. اگرچه در این مطالعه کلروفیل به‌طور معنی‌داری توسط شوری کاهش یافت، اما گیاهان مایه‌زنی شده کلروفیل کل بیشتری از گیاهان مایه‌زنی نشده در شوری‌های ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولا ر داشتند. بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اثر شوری در جلوگیری از ساخت کلروفیل در گیاهان مایکوریزی نسبت به غیرمایکوریزی کمتر می‌باشد (۹، ۱۶). در پژوهش حاضر و برخی بررسی‌های انجام شده دیگر، غلظت بالای منیزیم در نتیجه کلونیزاسیون قارچ مایکوریزا مشاهده شده است. قارچ‌های مایکوریزا به جذب منیزیم در گیاه کمک می‌کنند، بدین مفهوم که این قارچ‌های اثر ضدیت سدیم بر جذب منیزیم را کاهش، غلظت کلروفیل را افزایش و بنابراین عملکرد فتوسنتر و رشد گیاه را بهبود می‌بخشند (۹، ۱۶).

کربوهیدراتات محلول و پرولین برگ

در شوری ۷۰ میلی‌مولا کلرید سدیم، بیشترین غلظت کربوهیدراتات و پرولین مشاهده شد و کمترین آن‌ها در تیمار شاهد دیده شد. هم‌چنان، غلظت اسمولیت‌ها زیرتاثیر تیمار قارچ قرار گرفت، به‌طوری که کمترین میزان اسمولیت‌ها در دانهال‌های مایه‌زنی نشده مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گیاهان مایکوریزی نشان داد (جدول ۱). یکی از پاسخ‌های عمومی یاخته به تغییرهای فشار اسمزی خارجی، انباست متابولیت‌هایی است که قابلیت اتحال داشته ولی سوخت‌وساز طبیعی گیاه را مختل نمی‌کنند و می‌توانند از ناهنجاری‌ها در غشاء یاخته‌ای جلوگیری کنند. این ماده‌ها به اسمولیت معروف هستند. شوری بر متابولیسم اسمولیت‌ها اثر می‌گذارد و انباست آن‌ها به عنوان پاسخی به تنفس گزارش شده است (۸) که به تنظیم اسمزی درون یاخته‌های گیاه کمک می‌کنند و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و غشاها می‌شوند. پژوهشگران بر این باورند که انباست اسمولیت‌ها در نتیجه تنفس شوری در بافت‌ها و یاخته‌های گیاهی می‌تواند به حفظ فشار تورژسانس در بافت‌های گیاهی، دسترسی به آب، سازوکارهای حفاظتی، پایدار نمودن پروتئین‌ها و غشا یاخته‌ای کمک کند (۸). یکی از سازوکارهایی که باحتمال در افزایش تحمل گیاه به شوری در حضور قارچ‌های مایکوریزا مورد توجه قرار می‌گیرد تحریک ساخت اسمولیت‌ها به وسیله قارچ‌های مایکوریزا است. در چندین پژوهش مشخص شده که این قارچ‌ها روی ترکیب اسیدهای آمینه و کربوهیدرات‌های گیاهان میزان در شرایط شوری تاثیر می‌گذارند (۲۲).

پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا برگ

زیرتاثیر تیمارهای شوری، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء برگ در همه دانهال‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش نشان دادند. کمترین میزان آسیب وارد به غشاء در دانهال‌های مایکوریزی و بالاترین آن در بیشترین سطح شوری در دانهال‌های مایه‌زنی نشده دیده شد (جدول ۱). با افزایش شوری آسیب اکسیداتیو افزایش یافت، اما این روند در دانهال‌های مایکوریزی کمتر بود. به عبارت دیگر انباست کمتر گونه‌های اکسیداتیو افزایش فعال^۱ و از جمله مقدار پراکسید هیدروژن در دانهال‌های مایه‌زنی شده نسبت به گیاهان غیرمایکوریزی کمتر بود که نتیجه آن کاهش آسیب اکسیداتیو در دانهال‌های مایکوریزی است.

اثرهای مخرب شوری می‌تواند به واسطه سمیت بیش از اندازه یون‌های سدیم و کلر در یاخته، پراکسیداتیوں لیپیدهای غشاء و ترکیبی از فاکتورهای یاد شده باشد. این اثرهای مخرب، باعث ایجاد تنفس‌های ثانویه مانند تنفس اکسیداتیو ناشی از تولید ROS در گیاهان می‌شوند. تنفس اکسیداتیو یکی از دلایل مهم آسیب به گیاهان زیر تنفس شوری است. تجمع ROS تولید شده در برگ‌ها، می‌تواند رشد و متابولیسم طبیعی گیاه را با پراکسیداتیوں لیپیدهای غشاء، اکسیداتیوں پروتئین‌ها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک و DNA تخریب کند (۲). قرار گرفتن گیاهان در بسیاری از شرایط نامساعد محیطی موجب افزایش تولید ROS و به دنبال آن آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد. در پژوهش حاضر شوری خاک به طور معنی‌داری انباست ROS از جمله پراکسید هیدروژن را در دانهال‌ها تحریک کرد (جدول ۱). بنابراین، پراکسیداتیوں لیپیدهای غشاء در گیاهان زیر تنفس شوری افزایش یافت که این نتیجه‌ها با یافته‌های Ahmad و همکاران (۲) همسو است. از سویی، حضور قارچ‌های انوفیت در ریشه‌ها می‌تواند به طور موثر از آسیب ایجاد شده توسط تنفس شوری به غشاء جلوگیری کند. نتیجه‌های پژوهش حاضر نشان داد که غلظت پراکسید هیدروژن و آسیب به غشاء به طور معنی‌داری در دانهال‌های مایکوریزی در مقایسه با دانهال‌های مایه‌زنی نشده کمتر بود (جدول ۱). انباست قارچ‌های مایکوریزا می‌تواند سازوکار دفاعی تنظیم اسمرزی و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بیشتری را ایجاد کند (۲۴) که منجر به آسیب کمتری به غشاء در دانهال‌های مایه‌زنی شده می‌گردد (۲۵).

عنصرهای غذایی برگ

تنفس شوری موجب کاهش غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در برگ دانهال‌ها شد. از سوی دیگر، مایه‌زنی دانهال‌ها با قارچ‌های مایکوریزا به طور معنی‌داری غلظت این عنصرهای را در برگ افزایش داد. در مقابل، برگ دانهال‌های غیرمایکوریزی کمترین غلظت این عنصرها را نشان دادند. اگرچه با افزایش شوری غلظت این عنصرها در همه دانهال‌ها کاهش یافت، اما این روند در دانهال‌های مایکوریزی کندر بود. بهویژه زیر تاثیر شوری، میزان سدیم و کلر افزایش یافت، اما نیمار قارچ منجر به کاهش غلظت آن‌ها در برگ گردید (جدول ۲).

جدول ۲- برهمکنش شوری و همزیستی قارچ بر درصد ترکیب ماده معدنی برگ دانهال‌های نارنج سه برگ.

Table 2. Interaction of salinity and mycorrhizal symbiosis on the percentage of leaf mineral composition of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata L.*) seedlings.

تیمار Treatment	N نیتروژن	P فسفر	K پتاسیم	Na سدیم	Cl کلر	Ca کلسیم	Mg منیزیم
S ₁ G ₁	3.2 ^{cd}	0.516 ^{bcd}	1.37 ^{ab}	0.08 ^f	0.354 ^{fg}	5.065 ^{cd}	0.271 ^{cd}
S ₁ G ₂	3.23 ^b	0.541 ^{abc}	1.37 ^{ab}	0.08 ^f	0.288 ^{gh}	5.384 ^b	0.321 ^a
S ₁ G ₃	3.25 ^a	0.594 ^{ab}	1.39 ^{ab}	0.08 ^f	0.177 ^h	5.603 ^a	0.275 ^c
S ₁ G ₄	3.19 ^{cde}	0.522 ^{abcd}	1.463 ^a	0.076 ^f	0.354 ^{fg}	5.491 ^{ab}	0.283 ^{bc}
S ₁ G ₅	3.21 ^c	0.598 ^a	1.443 ^a	0.073 ^f	0.332 ^{fg}	5.413 ^b	0.307 ^{ab}
S ₂ G ₁	3.15 ^{gh}	0.411 ^{ef}	1.22 ^{ab}	0.12 ^{def}	0.51 ^{de}	4.585 ^f	0.237 ^{ef}
S ₂ G ₂	3.173 ^{ef}	0.478 ^{cde}	1.27 ^{ab}	0.08 ^f	0.509 ^{de}	5.055 ^{cd}	0.26 ^{ode}
S ₂ G ₃	3.17 ^{efg}	0.489 ^{cde}	1.283 ^{ab}	0.083 ^f	0.428 ^{ef}	4.99 ^{de}	0.253 ^{cde}
S ₂ G ₄	3.183 ^{de}	0.475 ^{cde}	1.303 ^{ab}	0.083 ^f	0.369 ^{fg}	5.206 ^c	0.24 ^{def}
S ₂ G ₅	3.153 ^{fg}	0.483 ^{cde}	1.36 ^{ab}	0.11 ^{ef}	0.376 ^{fg}	4.847 ^e	0.24 ^{def}
S ₃ G ₁	3.1 ⁱ	0.386 ^f	1.1 ^b	0.34 ^a	0.953 ^a	3.794 ⁱ	0.181 ^g
S ₃ G ₂	3.13 ^h	0.411 ^{ef}	1.183 ^{ab}	0.143 ^{de}	0.621 ^{bcd}	4.291 ^{gh}	0.211 ^{fg}
S ₃ G ₃	3.13 ^h	0.469 ^{cdef}	1.166 ^{ab}	0.263 ^b	0.731 ^b	4.337 ^g	0.22 ^f
S ₃ G ₄	3.103 ⁱ	0.449 ^{def}	1.27 ^{ab}	0.19 ^c	0.606 ^{cd}	4.159 ^h	0.184 ^g
S ₃ G ₅	3.1 ⁱ	0.449 ^{def}	1.26 ^{ab}	0.16 ^{cd}	0.665 ^{bc}	4.16 ^h	0.211 ^{fg}

† The same letters within each column indicate no significant difference among treatments (P < 0.05).

†† S₁: control, S₂: 35mmol NaCl, S₃: 70mmol NaCl.

††† G₁: control, G₂: *G. intraradices* and *G. mosseae*, G₃: *G. mosseae* and *G. hoi*, G₄: *G. hoi* and *G. intraradices*, G₅: *G. hoi* and *G. intraradices* and *G. mosseae*.

† حرف‌های مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ می‌باشد.

بیشتر گیاهان باغی به شوری حساس بوده و تنها سطح‌های پایین نمک را تحمل می‌کنند. بنابراین، غلظت بالای سدیم و کلر در محلول خاک می‌تواند اثر مخربی بر فعالیت یون‌های مورد نیاز گیاه گذاشته و در نهایت طی تنش شوری، گیاه متحمل خسارت‌های ناشی از اثر اسمزی و سمیت بعضی از یون‌ها می‌شود که به هم خوردن تعادل غذایی، کاهش رشد و کاهش عملکرد گیاه را به دنبال خواهد داشت.

در خاک‌های شور، سدیم مانع از جذب عنصرهای ضروری پتاسیم، کلسیم و منیزیم می‌شود. کلر نیز به دلیل برهمکنش با نیتروژن مانع از جذب نیترات می‌گردد. قارچ‌های مایکوریزا از نظر بوم‌شناسی اهمیت بسیاری دارند، زیرا باعث افزایش ظرفیت جذب آب، جذب عنصرهای غذایی و تحمل گیاه به تنش‌ها می‌شوند. پژوهشگران بیان کرده‌اند که مایکوریزا با بهبود جذب عنصرهای غذایی سبب افزایش رشد و وزن گیاهان می‌شوند (۵). در حقیقت، در گیاهان مایه‌زنی شده، جذب نیتروژن و فسفر نسبت به گیاهان مایه‌زنی نشده بیشتر بوده است. بهبود تغذیه نیتروژن در گیاهان توسط قارچ‌های مایکوریزا نیز به اثبات رسیده است (۹). قارچ‌های مایکوریزا دارای یک سیستم آنژیمی پیچیده برای جذب ترکیب‌های نیتروژن دار می‌باشند. این قارچ‌ها می‌توانند کمپلکس‌های ماده‌های آلی خاک را تجزیه کرده و مقدار جذب نیتروژن را از این راه افزایش دهند. خاک‌های شور کاهش قابل توجهی در جذب ماده‌های معدنی به ویژه فسفر به دلیل رسوپ فسفر توسط یون‌های کلسیم، منیزیم و روی ایجاد می‌کنند. قارچ‌های مایکوریزا با کلونیزاسیون ریشه و گسترش ریسه‌های خود سبب آسانی جذب و انتقال عنصرهای غذایی به ویژه عنصرهای کم‌تحرک مانند فسفر شده و از این راه، بر رشد گیاهان در شرایط شور تأثیر می‌گذارند و از اثرهای منفی شوری می‌کاهند. با افزایش نمک، یون‌های سدیم وارد یاخته‌ها شده و باعث خروج مقادیر زیاد یون پتاسیم می‌گردد یا از ورود پتاسیم جلوگیری می‌نماید. اثرهای ضدیت دو عنصر و کاهش جذب پتاسیم توسط یون سدیم در بسیاری از بررسی‌ها نشان داده شده است (۲۶). اساس تحمل بالاتر گیاهان مایکوریزی نسبت به گیاهان غیرمایکوریزی در شرایط شوری جلوگیری از جذب یون‌های سدیم و کلر از خاک یا حبس نمودن آن‌ها در ریسه‌های درون یاخته‌ای قارچ، عدم انتقال آن به اندام هوایی گیاه و در نهایت ذخیره یون پتاسیم در گیاه به جای یون سدیم می‌باشد که موجب کاهش ورود آن‌ها به اندام‌های هوایی می‌شود (۱۰) و این اثرها نمایانگر توانایی قارچ مایکوریزا در تنظیم اسمزی گیاه است و می‌تواند یکی از دلایل افزایش تحمل گیاهان مایه‌زنی شده به تنش شوری باشد. هم‌چنین، پژوهشگران بیان نموده‌اند که افزایش ظرفیت رشد گیاهان مایکوریزی در شرایط شوری بیشتر به نقش واسطه‌گری مایکوریزا در افزایش جذب پتاسیم، کلسیم و منیزیم و بهبود نسبت پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم در گیاهان در تنش شوری برمی‌گردد (۷). به نظر می‌رسد یکی از سازوکارهای بهبود رشد گیاهان مایکوریزی در شرایط شوری این است که این گیاهان به احتمال از یک مسیر مستقیم برای جذب ماده‌های غذایی از راه میکوریزاسیون بهره می‌برند که می‌تواند دلیل روشی برای عملکرد مایکوریزا در افزایش جذب فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در شرایط تنش باشد که البته روش‌شدن جزئیات آن نیازمند بررسی‌های بیشتری می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتیجه‌های پژوهش حاضر نشان‌دهنده تاثیر مثبت کاربرد قارچ‌های مایکوریزا بر افزایش تحمل شوری در دانه‌الهای نارنج سه‌برگ است. هم‌چنین مشاهده شد که شوری موجب کاهش قابلیت دسترسی به عنصرهای غذایی گردید و نسبت جذب عنصرها و محتوی آن در داخل گیاه از حالت تعادل خارج شد. در تنش شوری نسبت سدیم به عنصرهای کلسیم، منیزیم و پتاسیم افزایش یافت. دانه‌الهای رشد کرده در تنش شوری کمبود فسفر را نشان دادند، اما کاربرد قارچ‌های مایکوریزا موجب افزایش جذب فسفر، پتاسیم، منیزیم و کلسیم در تنش شد و از این راه تعادل یونی داخل گیاه را حفظ نمود. هم‌چنین، قارچ‌های مایکوریزا موجب ورود بیشتر نیتروژن به گیاهان شدند. بنابراین، رشد دانه‌الهای میکوریزی در شرایط شوری با افزایش جذب عنصرهای غذایی، بهویژه نیتروژن و فسفر بهبود یافت. قارچ‌های مایکوریزا سطوح‌های اسمولیت‌ها (پرولین و کربوهیدرات‌ها) را در برگ افزایش و از این راه تحمل به شوری را بالا برند. براساس یافته‌های این پژوهش، ترکیب *G. mosseae + G. hoi* به دلیل بیشترین درصد کلونیزاسیون، کمترین نشت یونی، کاهش کمتر در محتوی نسبی آب برگ، بالا بودن غلظت رنگدانه برگ، انباسته بالای قندهای محلول و پرولین آزاد در برگ‌ها (تنظیم اسمزی)، انباسته کمتر ROS و

کاهش آسیب اکسیداتیو و همچنین، انباست بیشتر عنصرهای غذایی و کاهش سدیم و کلر، کارایی بیشتری در افزایش تحمل دانهال‌ها به شوری داشت.

References

منابع

1. Abdel-Shafy, H., W. Hegemann and A. Teiner. 1994. Accumulation of metals by vascular plant. Environ. Manag. Health. 5: 21-24.
2. Ahmad, P., C.A. Jeleel, M.M. Azooz and G. Nabi. 2010. Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. Bot. Res. Inter. 2(1): 11-20.
3. Alexieva, V., I. Sergiev, S. Mapelli and E. Karanov. 2001. The effect of drought and ultra violet radiation growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell Environ. 24: 1337-1344.
4. Bates, L.S., R.P. Waldron and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
5. Bdadarwaj, A. and S. Sharma. 2006. Reducing phosphorous requirement using AMF in Mulberry grown under alkaline condition. J. Agron. 5(3): 471-477.
6. Buege, J.A. and S.D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 52: 302-310.
7. Daeia, G., M.R. Ardekania, F. Rejalic, S. Teimurib and M. Miransarid. 2009. Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. J. Plant Physiol. 166(6): 617-625.
8. Dong, Y.J., S.S. Jinc, S. Liu, L.L. Xu and J. Kon. 2014. Effects of exogenous nitric oxide on growth of cotton seedlings under NaCl stress. J. Soil Sci. Plant Nut. 14(1): 1-13.
9. Giri, B. and K.G. Mukerji. 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptica* and *Sesbania gradiflora* under field condition: evidenced for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza, 14: 307-312.
10. Hammer, E.C., H. Nasr, J. Pallon, P.A. Olsson and H. Wallander. 2011. Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. Mycorrhiza, 21: 117-129.
11. Hoagland, D.R. and D.I. Arnon. 1950. The water culture method for growing plants without soil. California Agric. Exp. Stat. USA. 347.
12. Kaya, C., D. Higgs, H. Kirnak and I. Tas. 2003. Mycorrhizal colonization improves fruit yield ad water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb) grown under well-watered and water-stressed conditions. Plant Soil. 253: 287-292.
13. Khalil, H.A., A.M. Eissa, S.M. El-Shazly and A.M. Aboul Nasr. 2011. Improved growth of salinity stressed citrus after inoculation with mycorrhizal fungi. Sci. Hort. 130: 624-632.
14. Latef, A.A. and C.X. He. 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. Sci. Hort. 127: 228-233.
15. Lutts, S., J.M. Kinet and J. Bouharmont. 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice varieties differing in salinity resistance. J. Exp. Bot. 46: 1843-1852.
16. Navarro, J.M., O. Perez-Tornero and A. Morte. 2014. Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi depends on the rootstock salt tolerance. J. Plant Physiol. 171: 76-85.
17. Olsson,P.A., Thingstrup,I., Jakobsen,I. and Bath,E. 1999. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. Soil Biol.Biochem. 31:1879-1887.
18. Paquin, R. and P. Lechasseur. 1979. Observation sur la method de dosage de la proline liberdans les extraits de plants. Canadian J. Bot. 57: 1851-1854.
19. Phillips, J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. British Mycological Soc. 55: 158-61.
20. Porcel, R. and J.M. Ruiz-Lozano. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. J. Exp. Bot. 55: 1743-1750.
21. Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophyll a and b. Photo. Res. 73:149-156.
22. Sheng, M., M. Tang, H. Chen, B. Yang, F. Zhang and Y. Huang. 2009. Influence of arbuscular mycorrhizae on the root system of maize plants under salt stress. Canadian J. Microbiol. 55: 879-886.
23. Wu, Q.S. and R.X. Xia. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. J. Plant Physiol. 163: 417-425.
24. Wu, Q.S., A.K. Srivastava and Y.N. Zou. 2013. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: A review. Sci. Hort. 164: 77-87.

25. Wu, Q.S., Y.N. Zou, W. Liu, X.F. Ye, H.F. Zai and L.J. Zhao. 2010. Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with mycorrhiza: changes in leaf antioxidant defense systems. Plant Soil Environ. 56:470-5.
26. Zuccarini, P. 2008. Effects of silicon on photosynthesis water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. Biol. Plant. 52(1):157-160.

Enhancing Salinity Stress Tolerance in *Poncirus trifoliata* L. Using Arbuscular Mycorrhizal Fungi

M. Hadian-Deljou and M. Esna-Ashari^{*1}

Citrus trees are susceptible to salinity. In the present study, the response of trifoliate sour orange (*Poncirus trifoliata* L.) to the salinity stress at the presence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) was investigated. Forty-day-old seedlings were inoculated with three species of AMF in combinations including *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus hoi*, *Glomus intraradices* + *Glomus hoi*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Glomus hoi* and no fungi “control”. After 175 days of inoculation, seedlings were exposed to 35 and 70 mM NaCl for 45 days. Mycorrhizal inoculation especially with the combination of *G. mosseae* + *G. hoi* increased the leaves relative water content as well as the amounts of chlorophyll and osmolites. There was a significant reduction in the amounts of malondialdehyde and hydrogen peroxide in the leaves in colonized seedlings compared to the control. The concentrations of Na and Cl in the leaves were higher when salinity increased, while the concentration of N, P, K, Ca and Mg were significantly decreased. On the other hand, inoculation with AMF resulted in a significant increase in the concentrations of N, P, K, Ca, and Mg in colonized seedlings. In general, AMF was able to help the sour orange seedlings against salinity by increasing the leaf nutrient elements and reducing oxidative damage.

Keywords: Inoculation, Malondealdehyde, Hydrogen peroxide, Oxidative damage.

1. Ph.D. Student and Professor, respectively. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

* Corresponding author, Email: (m.esnaashari@basu.ac.ir)