

اثر همزیستی قارچ میکوریزا بر برخی از ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نارنج سه بر گچه‌ای (*Poncirus trifoliata* L.) تحت تنش شوری

محمود اثنی عشری^{۱*}، مرضیه هادیان دلجو^۲ و اصغر میرزایی اصل^۳

۱، ۲ و ۳. استاد، دانشجوی دکتری و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۱۴)

چکیده

تأثیر همزیستی ۳ گونه قارچ میکوریزا آربوسکولار (AMF) از جنس *Glomus*، در دو ترکیب دوتایی و سه‌تایی بر ویژگی‌های رشد، غلظت کلروفیل، تبادلات گازی، فلورسانس کلروفیل و فعالیت چند آنزیم آنتی‌اکسیدان در نارنج سه‌برگچه‌ای (*Poncirus trifoliata* L.) تحت تنش شوری مطالعه شد. دانهال‌های ۴۰ روزه نارنج سه‌برگچه‌ای، به گلدان‌های حاوی *G. intraradices*×*G. mosseae* و *G. hoi*×*G. intraradices*×*G. mosseae* و بدون قارچ همزیست (شاهد) منتقل شدند. بعد از ۱۷۵ روز، دانهال‌ها به مدت ۴۵ روز در معرض غلظت‌های صفر (شاهد)، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم قرار گرفتند. در دانهال‌های کلونیزه‌شده تحت تنش شوری در مقایسه با دانهال‌های کلونیزه‌نشده تحت تنش شوری، به‌ویژه با ترکیب سه‌تایی، میزان کلونیزاسیون، وزن خشک شاخه و ریشه، تعداد برگ، ارتفاع، تعرق و راندمان فتوشیمیایی (حداکثر بازده کوانتومی در وضعیت سازگاری به تاریکی "Fv/Fm") ارتقاء یافت. تلقیح دانهال‌ها با میکوریزا، در شرایط شوری، خصوصاً استفاده از ترکیب سه قارچ، منجر به افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز) در مقایسه با شاهد گردید. به‌طور کلی، AMF توانست دانهال‌ها را در برابر شوری، از طریق افزایش رشد و کاهش آسیب اکسیداتیو، کمک کند.

واژه‌های کلیدی: تلقیح، فتوسنتز، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، راندمان فتوشیمیایی.

Effect of mycorrhizal fungi symbiosis on some morphological, physiological and biochemical characteristics in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L.) under salinity stress

Mahmood Esna-Ashari^{1*}, Marziyeh Hadian Deljoo² and Asghar Mirzaee Asl³

1, 2, 3. Professor, Ph. D. Candidate and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
(Received: May 31, 2017 - Accepted: Nov. 5, 2017)

ABSTRACT

Symbiosis effect of three arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species from the *Glomus* genus with two and three mixtures were studied on growth characteristics, chlorophyll concentration, gas exchange, chlorophyll fluorescence and the activity of some antioxidant enzymes in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L.) under salinity stress. 40 days old trifoliolate orange seedlings were transferred into the pots containing *G. intraradices*×*G. mosseae*, *G. hoi*×*G. intraradices*×*G. mosseae* and no fungi (control). After 175 days, seedlings were exposed to 0 (control), 35 and 70 mM sodium chloride for 45 days. Mycorrhizal colonization, shoot and root dry weight, leaf number, plant height, transpiration rate and photochemical efficiency (maximum quantum yield through the dark adaptation "Fv/Fm") were increased in colonized seedlings under salinity stress specially when the three mixture of fungi were used compared with the non-AMF seedlings under salinity stress. Seedling colonization particularly with three fungi mixture caused increase in the activity of antioxidant enzymes (catalase and ascorbate peroxidase) compared with the control. Overall, AMF colonization could help trifoliolate orange seedlings against salt stress through increasing growth and oxidative damage reduction.

Keywords: Antioxidant enzymes, colonization, photosynthesis, photochemical efficiency.

* Corresponding author E-mail: m.esnaashari@basu.ac.ir

مقدمه

شوری خاک یکی از مهمترین تنش‌های غیرزنده و یک مشکل جدی در بخش کشاورزی محسوب می‌شود، که شدیداً قابلیت تولید محصول را از طریق تجمع یون‌های سمی، به‌ویژه سدیم و کلر و عدم تعادل ماده غذایی، متاثر می‌سازد و به‌طور پیوسته در مناطق زیادی از دنیا، خصوصاً در اراضی خشک و نیمه‌خشک رو به افزایش است (Abdel Latef, 2010). مرکبات از جمله محصولات مهم باغبانی می‌باشند که رشد تجاری آنها بیش از ۵۰ کشور دنیا را شامل می‌شود و همه ساله به سطح زیرکشت و میزان تولید آنها در جهان افزوده می‌شود (Storey & Walker, 1999). کمبود منابع آب در مناطق تحت کشت مرکبات، سبب استفاده از آب‌های با کیفیت پایین از سفره آب‌های زیرزمینی که حاوی غلظت‌های فراوان از نمک‌های محلول، به‌ویژه کلرید سدیم^۱ می‌باشند، شده است. مرکبات به‌عنوان گیاهان حساس به شوری طبقه‌بندی شده‌اند؛ زیرا سطوح نسبتاً پایین شوری، منجر به اختلال فیزیولوژی، ممانعت از ظرفیت فتوسنتزی، کاهش هدایت روزنه‌ای و کاهش رشد و بازده میوه در آنها می‌گردد (Garcia-Sanchez & Syvertsen, 2006). شوری همچنین تنش اکسیداتیو را در گیاهان القا می‌کند (Abdel Latef, 2010). قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار^۲ به‌عنوان بهبوددهنده‌های مهم زیستی در خاک‌های شور مطرح‌اند. در واقع، کلونیزاسیون AMF می‌تواند رشد و توان گیاه و قابلیت تحمل شوری را افزایش داده، و آسیب ایجادشده توسط شوری خاک را در گیاه میزبان کاهش دهد (Evelin et al., 2009). بیشتر ارقام مرکبات، ریشه‌های موئین کوتاه و کمی دارند، بنابراین به کلونیزاسیون AMF که بیشتر آن‌ها گونه‌های *Glomus* می‌باشند، وابسته‌اند. تغییر ساختار ریشه در مرکبات کلونیزه‌شده با AMF می‌تواند عملکرد ریشه را در به‌دست‌آوردن آب و تغذیه بیشتر تحت شرایط تنش شوری افزایش دهد (Wu et al., 2010 a, b). تنش شوری می‌تواند توانایی فتوسنتز را کاهش و خشکی فیزیولوژیکی را در گیاهان ایجاد کند

که منجر به کاهش در تولید محصول می‌گردد. AMF مستقیماً فعالیت آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز^۳، کاتالاز^۴، گایاکول پراکسیداز^۵ و آسکوربات پراکسیداز^۶) را تحریک و بنابراین، از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو طی تنش شوری محافظت می‌کند (He et al., 2007; Evelin et al., 2009). هرچند، ارتباط بین AMF و آنتی‌اکسیدان‌ها بسیار کم شناخته شده است؛ بنابراین، مطالعات بیشتری درباره فعل و انفعال بین مرکبات و AMF تحت شرایط شوری، بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تبادلات گازی لازم است. همچنین تاکنون گزارشی در خصوص استفاده توأم از قارچ‌های همزیست، به‌صورت ترکیبی و تأثیر آنها در مقاومت به شوری در پایه‌های بذری نارنج سه‌برگچه‌ای منتشر نشده است. نارنج سه‌برگچه‌ای، یکی از بهترین پایه‌های مرکبات است و دورگ‌های متعدد تجاری تهیه‌شده از آن، حائز اهمیت هستند. این گیاه بسیار مقاوم به سرما و تنها گونه خزان‌کننده مرکبات بوده و به‌عنوان پایه پاکوتاه برای نارنج ساتسوما و پرتقال، در کشورهای ژاپن، چین، آرژانتین، استرالیا و ایران استفاده می‌شود (Tozlu et al., 2000). بنابراین براساس اثر مثبت AMF بر مرکبات، در این تحقیق بر آن شدیم تا تأثیر همزیستی ۳ گونه قارچ *Glomus* شامل *Glomus mosseae*، *Glomus intraradices* و *Glomus hoi* را بر رشد، تغییرات فیزیولوژی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پایه بذری نارنج سه‌برگچه‌ای مورد مطالعه قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه و آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه بوعلی‌سینا صورت گرفت. بذری نارنج سه‌برگچه‌ای (*Poncirus trifoliata* L.) از موسسه تحقیقات مرکبات کشور تهیه شد. این تحقیق به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل با ۲ فاکتور بر پایه طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. فاکتور اول، قارچ همزیست از جنس

3. Superoxide dismutase (SOD)
4. Catalase (CAT)
5. Guaiacol peroxidase (POD)
6. Ascorbate peroxidase (APX)

1. NaCl
2. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید. ویژگی‌های مورد بررسی به شرح ذیل بودند.

کلونیزاسیون ریشه

برای تعیین میزان همزیستی میکوریزی ریشه‌ها و اندازه‌گیری درصد آن، از روش تلاقی خطوط مشبک استفاده گردید (Phillips & Hayman, 1970).

شاخص‌های رشد

۴۵ روز پس از اعمال تنش شوری و قبل از برداشت گیاهان ارتفاع گیاه، قطر ساقه، تعداد برگ و سطح برگ اندازه‌گیری شد. پس از برداشت گیاهان و ضمن شستشوی کامل، ریشه‌ها و اندام هوایی از هم جدا و توزین گردیدند و سپس اندام‌های مذکور در داخل آون (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت) قرار داده شدند و در نهایت وزن خشک آنها به‌طور جداگانه محاسبه گردید.

کلروفیل کل برگ

استخراج کلروفیل برگ‌ها با کمک آستون ۸۰ درصد و اندازه‌گیری میزان آن به روش Porra (2002) در طول موج‌های ۶۶۴ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل کری ۱۰۰، واریان، آمریکا) انجام شد.

فلورسانس کلروفیل

از فلوریمتر (مدل OS-30p) برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل‌ها استفاده گردید و جوان‌ترین و کامل‌ترین برگ‌ها، قبل از استفاده از فلوریمتر، به مدت ۲۰ دقیقه توسط گیره‌های مخصوص در تاریکی قرار گرفتند (Genty et al., 1989) و نسبت F_v/F_m (پتانسیل عملکرد کوانتم) یادداشت گردید.

تبادلات گازی برگ

سرعت فتوسنتز^۱، تعرق^۲، هدایت روزنه‌ای^۳ و غلظت

Glomus در ۳ سطح (*G. intraradices* × *G. mosseae*) و بدون تلقیح "شاهد" و فاکتور دوم، شوری در ۳ سطح (صفر "شاهد"، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار NaCl) بود، که در مجموع با ۹ تیمار در ۳ تکرار و در هر تکرار با ۵ گیاه به مرحله اجرا گذاشته شد. پس از کشت بذرها، در مرحله چهارم برگی (۴۰ روز پس از کاشت)، دانهال‌هایی که از لحاظ ظاهری کاملاً یکسان بودند، انتخاب و به گلدان‌های پلاستیکی (۱۸ سانتی‌متر ارتفاع و ۲۰ سانتی‌متر قطر دهانه) محتوی بستر ضدعفونی‌شده، با ترکیب خاک معمول زراعی و ماسه (۱:۱۷:۷) منتقل گردیدند و همزمان، عمل تلقیح با گونه‌های قارچ صورت گرفت. به‌منظور انجام تلقیح، ۱۰۰ گرم از مایه تلقیح که شامل خاک حاوی اسپور، ریشه‌های میکوریز و هیف بود، در زمان کشت دانهال‌های چهار برگه، در عمق ۵ سانتی‌متر ترکیب خاکی، در منطقه ریشه، در داخل گلدان‌ها قرار گرفت و سپس یک دانهال در هر گلدان کشت شد (در ترکیب دوتایی قارچ، از هر قارچ به‌میزان ۵۰ گرم و در ترکیب سه‌تایی قارچ از هر قارچ به‌میزان ۳۳ گرم استفاده شد). گلدان‌های شاهد فقط حاوی ترکیب خاک فوق بدون مایه تلقیح بودند. طی آزمایش، همه گیاهان یک روز در میان (بسته به شرایط دمایی و نیاز آبی گیاه) آبیاری و در کنار آن، هفته‌ای یک مرتبه با ۳۵۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند (Hoagland & Arnon, 1950) تغذیه شدند. در گلدان‌های حاوی AMF، برای ترغیب همزیستی، از محلول هوگلند فاقد فسفر استفاده شد (Hartmond et al., 1987). دانهال‌ها به مدت ۱۷۵ روز تحت این شرایط نگهداری و سپس در معرض تنش شوری قرار گرفتند. اعمال شوری در خاک با استفاده از محلول NaCl با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار انجام شد و گیاهان شاهد با آب مقطر آبیاری شدند. به‌منظور جلوگیری از وارد آمدن تنش ناگهانی و شوک اسمزی به دانهال‌ها، غلظت‌های شوری به تدریج اعمال شد، تا در نهایت، غلظت نمک به‌میزان مدنظر رسید و به‌دنبال آن گیاهان به مدت ۴۵ روز در سطوح نمک نگهداری شدند. ۴۵ روز پس از تیمار شوری، تعدادی از گیاهان برداشت شده و برای اندازه‌گیری‌های مربوطه مورد استفاده قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری

1. Photosynthetic rate (Pn)

2. Transpiration rate (E)

3. Stomatal conductance (gs)

افزایش میزان NaCl دارد. کاهش کلونیزاسیون همراه با شوری، در گونه‌های مختلف مرکبات نیز مشاهده شده است (Murkute *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2010). (a, b) توقف رشد و کلونیزاسیون AMF تحت تنش شوری، به تغییرات در ویژگی‌های مورفولوژی هیف (Wu *et al.*, 2010 a, b)، کاهش قابلیت استفاده از هاگ‌زایی برای تلقیح، به سبب رشد پایین اسپورها تحت شرایط نامساعد ریزوسفر، ممانعت از جوانه‌زنی اسپورها، ممانعت از رشد هیف در خاک و گسترش هیف، که بعد از آغاز آلودگی اتفاق می‌افتد، و کاهش تعداد آربوسکولارها نسبت داده می‌شود. همچنین کاهش کلونیزاسیون با کاربرد نمک، توسط Ojala *et al.* (1983) گزارش شده است. نتایج این پژوهش روند مشابهی در کاهش کلونیزاسیون AMF گیاهان در حضور NaCl نشان داد که احتمالاً به سبب اثر مستقیم شوری روی قارچ باشد.

شاخص‌های رشد

تغییرات در رشد دانهال‌های نارنج سه‌برگچه‌ای تحت تأثیر شوری در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تنها شوری بر قطر ساقه در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود و سبب کاهش قطر دانهال‌ها گردید. در مورد تعداد برگ، هم اثرات ساده شوری و قارچ و هم اثرات متقابل و در ارتفاع ساقه، تنها اثر ساده شوری و اثر متقابل هر دو فاکتور اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱ درصد نشان دادند. اثرات ساده و متقابل در وزن خشک ساقه، اختلاف معنی‌داری را ایجاد کردند. اثر ساده شوری در وزن خشک ریشه و اثر متقابل این دو فاکتور در وزن خشک کل و سطح برگ اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، افزایش شوری رشد گیاهان را کاهش داد. تیمار فاقد شوری و استفاده از AMF₂ منجر به ایجاد تعداد برگ بیشتری در مقایسه با تیمار AMF₀ و شوری ۷۰ میلی‌مولار گردید؛ اما بالاترین ارتفاع ساقه در دانهال‌های تلقیح‌شده (AMF₁ و AMF₂) در غیاب تنش شوری به دست آمد، به طوری که بین این دانهال‌ها با دانهال‌های AMF₀ که شوری ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار را دریافت کردند، اختلاف معنی‌داری وجود داشت. کمترین وزن خشک ساقه در تیمار شاهد به علاوه

CO₂ زیر روزنه^۱، با استفاده از برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته در قسمت میانی شاخه‌ها و از طریق دستگاه پرتابل آنالیزور گاز مادون قرمز، مدل LCI-SD ساخت شرکت ADC هادسون انگلستان انجام شد که بر روی ۳ تکرار در هر تیمار، و بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح قبل از برداشت بود و در حضور شدت نور بیش از ۸۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه انجام شد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

فعالیت آنزیم SOD به روش اسپکتروفتومتری و براساس قابلیت بازدارندگی آن از احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم، در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Beauchamp & Fridovich, 1971). فعالیت آنزیم CAT طبق روش اسپکتروفتومتری ارائه‌شده توسط Aebi (1984) و براساس میزان ناپدیدشدن پراکسید هیدروژن^۲ در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همچنین فعالیت آنزیم‌های POD و APX، مطابق با روش Nakano & Asada (1955) Chance & Maehly (1981) به ترتیب در طول موج‌های ۴۷۰ و ۲۹۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

کلونیزاسیون ریشه

طبق نتایج به دست آمده اثر قارچ، شوری و اثر متقابل این دو فاکتور بر میزان کلونیزاسیون ریشه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. کلونیزاسیون ریشه، در دانهال‌های AMF₀ مشاهده نشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با افزایش تنش شوری، درصد این فاکتور کاهش یافت؛ به طوری که بالاترین میزان کلونیزاسیون ریشه (۷۰/۳۳ درصد) در تیمار فاقد شوری با کاربرد قارچ AMF₂ در مقایسه با دانهال‌های AMF₀ در هر سه سطح شوری (صفر درصد) حاصل شد، که اختلاف معنی‌داری بین دانهال‌های AMF₀ با سایر دانهال‌های تلقیح‌شده وجود داشت (جدول ۱). شوری، نه تنها رشد گیاه میزبان، بلکه رشد AMF را هم تحت تأثیر قرار می‌دهد. کلونیزاسیون میکوریزا رابطه عکس با

1. Intercellular CO₂ concentration (Ci)
2. H₂O₂

کاهش کلروفیل‌ها تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل تجمع کلر در برگ‌ها، افزایش حساسیت برگ‌ها به اتیلن، تخریب بیوسنتز کلروفیل‌ها و کاهش میزان عناصر نیتروژن، منیزیم، آهن و منگنز باشد که در ساختن کلروفیل‌ها نقش دارند و کمبود آنها بر میزان کلروفیل اثر می‌گذارد. ممانعت از آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی یا اثر آنتاگونیسمی سدیم در جذب منیزیم از دیگر اثرات شوری است (Giri & Mukerji, 2004). در بررسی‌های انجام‌شده توسط Navarro *et al.* (2004) و Giri & Mukerji (2014)، غلظت بالای منیزیم، در نتیجه کلونیزاسیون AMF مشاهده شده است که اشاره به این دارد که AMF اثر آنتاگونیسمی سدیم بر جذب منیزیم را کاهش داده و ضمن افزایش غلظت کلروفیل‌ها، راندمان فتوسنتز و رشد گیاه را بهبود بخشیده است.

فلورسانس کلروفیل

اثر ساده شوری و اثر متقابل دو فاکتور شوری و قارچ بر نسبت F_v/F_m اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان دادند (جدول ۲)؛ اما اثر قارچ میکوریزا بر این صفت، معنی‌دار نبود. نسبت F_v/F_m ، بازدارندگی نوری و انواع تنش‌های وارده به فتوسیستم II را شناسایی می‌کند. به عبارت دیگر کاهش نسبت F_v/F_m نشان‌دهنده کاهش فتوسنتز یا بازدارندگی نوری است. کاهش در نسبت F_v/F_m ممکن است در نتیجه افزایش اتلاف انرژی غیرتابشی و کاهش تدریجی سرعت فتوسنتز رخ دهد (Calatayud & Barreno, 2004). نتایج این مطالعه نشان داد که F_v/F_m در برگ‌های گیاهان AMF_2 همراه با تیمار عدم شوری (۰/۸۸) نسبت به گیاهان AMF_0 با سطوح شوری ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار (۰/۷۲ و ۰/۷۱) بالاتر بود و این اشاره به راندمان فتوشیمیایی PSII بالاتر گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی دارد (جدول ۲). در بررسی انجام‌شده توسط Sheng *et al.* (2008)، ملاحظه شد که گیاهان میکوریزی حداکثر عملکرد فتوسیستم II (F_v/F_m) را، که تخمینی از کارایی جذب نور توسط آنتن‌های گیرنده نور در فرآیندهای فتوشیمیایی می‌باشد، نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی دارا بودند.

AMF_0 و سطوح شوری ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار مشاهده شد و بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار AMF_2 و عدم شوری به دست آمد (جدول ۱). به‌طور کلی شوری، رشد گیاه را به سبب کمبود آب و اثر نمک بالا ممانعت می‌کند (Munns *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر هم کمترین میزان رشد در بالاترین سطح شوری و نیز در دانه‌هایی که تلقیح‌نشده بودند، مشاهده شد (جدول ۱). این نتایج با یافته‌های گزارش‌شده توسط برخی محققین (Murkute *et al.*, 2006) مطابقت دارد. آنها نتیجه گرفتند که رشد مرکبات با افزایش میزان شوری، کاهش می‌یابد. کاهش رشد در گیاهان تحت شرایط شوری را می‌توان به افزایش پتانسیل اسمزی محلول خاک، به سبب کاهش قدرت جذب آب گیاه نسبت داد. علاوه بر این، مشخص گردید که آبیاری گیاهان با آب شور، ظرفیت فتوسنتزی را کاهش می‌دهد. این نتایج، مطابق با مطالعات انجام‌شده در پیاز، فلفل، ذرت، کاهو و گوجه‌فرنگی است (Ojala *et al.*, 1983; Sheng *et al.*, 2008). نقش مطلوب تلقیح AMF در رشد گیاه را می‌توان به تشکیل AM نسبت داد که جذب آب را از خاک، در گیاه میزبان، افزایش می‌دهد. همچنین همراه با افزایش جذب آب، AMF به جذب مواد مغذی بیشتر در گیاهان میزبان نسبت به گیاهان غیرمیکوریزا کمک می‌کند. جذب بیشتر آب و مواد مغذی می‌تواند مقدار کافی ماده لازم برای حمایت از رشد در گیاهان میکوریزی را فراهم کند.

مقدار کلروفیل کل برگ

طبق نتایج به دست آمده، تنها اثر ساده شوری در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اما اثر قارچ و اثر متقابل این دو فاکتور بر این صفت اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (جدول ۲). با افزایش شوری، غلظت این رنگیزه کاهش یافت. میزان کلروفیل‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص حساس برای متابولیسم سلولی باشد. محققان گزارش کردند که میزان کلروفیل‌ها در واکنش به تنش شوری در چند پایه مرکبات کاهش یافت. شوری فتوسنتز را تقلیل و کلروفیل‌ها و کمپلکس کلروفیل-پروتئین‌ها را تخریب می‌کند (Sheng *et al.*, 2008).

جدول ۱. اثر متقابل شوری و همزیستی قارچ بر کلونیزاسیون و شاخص‌های رشد در دانه‌های نارنج سه‌برگچه‌ای

Table 1. Effect of salinity and mycorrhizal symbiosis on the AMF colonization and growth characteristics in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliolate* L.) seedlings

NaCl (mM)	AMF treatment	AMF colonization (%)	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf number (No./plant)	Leaf area (cm ²)	Dry weight (g/plant)		
							Shoot	Root	Total
0	AMF ₀	0.00 ^e	47.33 ^{cd}	2.57 ^{ab}	22.67 ^{cd}	5.58 ^c	3.17 ^b	1.28 ^{bcd}	4.45 ^c
	AMF ₁	67.33 ^{ab}	66.33 ^a	3.23 ^{ab}	29.00 ^b	7.15 ^{ab}	4.99 ^a	1.80 ^b	6.79 ^{ab}
	AMF ₂	70.33 ^a	69.00 ^a	3.37 ^a	37.00 ^a	7.35 ^a	5.41 ^a	2.40 ^a	7.81 ^a
35	AMF ₀	0.00 ^e	42.67 ^d	2.40 ^{ab}	18.00 ^{de}	5.56 ^c	2.61 ^b	0.90 ^{cd}	3.51 ^c
	AMF ₁	61.00 ^c	55.67 ^b	2.90 ^{ab}	25.67 ^{bc}	6.66 ^{abc}	4.71 ^a	1.71 ^b	6.42 ^b
	AMF ₂	63.33 ^{bc}	56.33 ^b	3.03 ^{ab}	28.67 ^{bc}	6.99 ^{ab}	4.83 ^a	1.76 ^b	6.59 ^{ab}
70	AMF ₀	0.00 ^e	33.00 ^e	2.30 ^b	14.33 ^e	5.55 ^c	2.48 ^b	0.78 ^d	3.26 ^c
	AMF ₁	47.33 ^d	51.33 ^{bc}	2.67 ^{ab}	23.00 ^{bcd}	6.16 ^{bc}	4.42 ^a	1.32 ^{bc}	5.74 ^b
	AMF ₂	58.33 ^c	53.33 ^{bc}	2.70 ^{ab}	23.33 ^{bcd}	6.23 ^{abc}	4.60 ^a	1.60 ^b	6.20 ^b
Results of ANOVA									
AMF		**	ns	ns	**	**	**	**	**
NaCl		**	**	*	**	*	*	ns	**
AMF×NaCl		**	**	ns	**	ns	**	**	ns

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

**, *, ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

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

AMF₀: control; AMF₁: *G. intraradices* × *G. mosseae*; AMF₂: *G. hoi* × *G. intraradices* × *G. mosseae*.

**, *, ns: significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.

جدول ۲. اثر متقابل شوری و همزیستی قارچ بر پارامترهای تبادل گازی و غلظت کلروفیل کل در دانه‌های نارنج سه‌برگچه‌ای

Table 2. Effect of salinity and mycorrhizal symbiosis on gas interchange parameters and total chlorophylls concentration in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliolate* L.) seedlings

NaCl (mM)	AMF treatment	chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	Fv/Fm	Pn (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	E (mmol m ⁻² s ⁻¹)	gs (mmol m ⁻² s ⁻¹)	Ci (μmol CO ₂ mol ⁻¹)
0	AMF ₀	1.97 ^{ab}	0.74 ^{bc}	2.06 ^{ab}	0.84 ^c	0.026 ^{ab}	242.33 ^{ab}
	AMF ₁	2.08 ^a	0.84 ^{ab}	2.58 ^{ab}	1.42 ^{ab}	0.030 ^{ab}	203.00 ^b
	AMF ₂	2.25 ^a	0.88 ^a	2.90 ^a	1.60 ^a	0.040 ^a	198.00 ^b
35	AMF ₀	1.49 ^{bc}	0.72 ^c	1.60 ^{bc}	0.83 ^c	0.016 ^{bc}	244.67 ^{ab}
	AMF ₁	1.81 ^{abc}	0.76 ^{bc}	2.35 ^{ab}	1.35 ^{ab}	0.030 ^{ab}	221.00 ^{ab}
	AMF ₂	1.91 ^{abc}	0.77 ^{bc}	2.56 ^{ab}	1.35 ^{ab}	0.030 ^{ab}	221.00 ^{ab}
70	AMF ₀	1.34 ^c	0.71 ^c	0.96 ^c	0.80 ^c	0.010 ^c	267.67 ^a
	AMF ₁	1.74 ^{abc}	0.75 ^{bc}	2.18 ^{ab}	1.21 ^b	0.020 ^{bc}	233.33 ^{ab}
	AMF ₂	1.80 ^{abc}	0.76 ^{bc}	2.31 ^{ab}	1.25 ^{ab}	0.026 ^{ab}	231.33 ^{ab}
Results of ANOVA							
AMF		ns	ns	*	ns	**	ns
NaCl		**	*	*	**	*	ns
AMF×NaCl		ns	*	ns	**	ns	ns

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

**, *, ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

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

AMF₀: control; AMF₁: *G. intraradices* × *G. mosseae*; AMF₂: *G. hoi* × *G. intraradices* × *G. mosseae*.

**, *, ns: significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.

به گونه‌ای که تیمار شاهد و تیمارهای قارچی AMF₀

با شوری ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار، کمترین میزان *E* را نشان دادند (جدول ۲). اثرات ساده شوری و قارچ و نیز اثرات متقابل این دو فاکتور بر غلظت *Ci*، اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. همچنین اثر متقابل شوری و قارچ بر *gs* معنی‌دار نشد؛ در مقابل اختلاف معنی‌داری به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد، در اثرات ساده شوری و قارچ بر این صفت دیده شد؛ به گونه‌ای که کمترین میزان *gs* در شوری ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار و بالاترین میزان *gs* در تیمار قارچی AMF₂ مشاهده

تبادلات گازی برگ

نتایج نشان داد که شوری خاک و تلقیح قارچ، تأثیر معنی‌داری بر *Pn* در سطح ۵ درصد داشت. شوری ۷۰ میلی‌مولار کمترین میزان *Pn* را نشان داد. قارچ AMF₂ نیز منجر به *Pn* بیشتری در مقایسه با تیمار قارچی AMF₀ شد. ولی اثر متقابل این دو فاکتور بر *Pn* اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). در مورد *E* تنها اثر قارچ معنی‌دار نشد، ولی اثر ساده شوری و اثر متقابل این دو فاکتور بر این صفت، اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱ درصد نشان دادند؛

آن است که بین گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی، تفاوتی در gs و تعرق وجود ندارد (Augé, 2001). هرچند، گزارش‌هایی نیز مبنی بر تأثیر منفی قارچ بر gs و E در گیاه میزبان بیان شده است (Mathur & Vyas, 1995). به‌طور کلی، مکانیسم اثر همزیستی AMF بر مقدار کلروفیل‌ها، تبادلات گازی و فلورسانس کلروفیل‌ها در برگ‌های گیاهان کاملاً مشخص نشده و این موضوع نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر ساده شوری بر فعالیت آنزیم SOD در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد؛ به گونه‌ای که بالاترین فعالیت آنزیم SOD به ترتیب در شوری ۷۰، ۳۵ میلی‌مولار و کمترین آن در تیمار عدم شوری ملاحظه شد و می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت آنزیم SOD برای تحمل شوری مهم می‌باشد؛ اما در مقابل، اثر ساده قارچ و اثرات متقابل این دو فاکتور بر این صفت اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. اثرات ساده شوری و قارچ بر میزان فعالیت آنزیم CAT به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد و اثرات متقابل آنها در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. تیمار شاهد (U mg protein ۰/۰۶) در مقایسه با تیمار AMF_2 و شوری ۷۰ میلی‌مولار (U mg protein ۰/۳۵) کمترین میزان فعالیت آنزیم CAT را ایجاد کرد (جدول ۳).

شد (جدول ۲). شرایط تنش‌زا از جمله خشکی، شوری و دمای بالا یا پایین، می‌توانند ترکیبات دستگانه فتوسنتزی گیاه، از جمله یکپارچگی غشا را تخریب، و ظرفیت فتوسنتزی را کاهش دهند. این صدمات یا بطور غیرمستقیم، در اثر محدودیت در انتشار گازها از میان روزنه‌ها و مزوفیل و تغییر در متابولیسم فتوسنتزی و یا ناشی از تنش اکسیداتیو می‌باشند. شوری باعث کاهش gs و E و در نتیجه میزان فتوسنتز خالص در مرکبات گردید (Melgar et al., 2008). در این مطالعه نیز تنش شوری Pn ، E و gs را کاهش داد (جدول ۲). این نتایج با یافته‌های Sheng et al. (2008) تحت تنش شوری مطابقت دارد. Sheng et al. (2008) بیان کردند که غلظت پایین Ci در دانهال‌های میکوریزی تحت تنش شوری، می‌تواند در اثر افزایش فتوسنتز باشد. بنابراین غلظت پایین Ci در دانهال‌های میکوریزی، می‌تواند توانایی فتوسنتز در آنها را تحت تنش شوری افزایش دهد (Sheng et al., 2008). در این مطالعه، درست است که این صفت اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، اما یک روند کاهشی در دانهال‌های تلقیح‌شده مشاهده شد، به گونه‌ای که تیمار AMF_1 و AMF_2 در عدم شوری ($198 \text{ mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) و AMF_0 در مقایسه با تیمار AMF_0 و اعمال تنش شوری (۲۰۳ و $267/67 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)، کمترین غلظت Ci را نشان داد؛ هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. با این حال، نتایج برخی از آزمایش‌ها، حاکی از

جدول ۳. اثر متقابل شوری و همزیستی قارچ در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دانهال‌های نارنج سه‌برگچه‌ای
Table 3. Effect of salinity and mycorrhizal symbiosis on antioxidant enzymes activities in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliolate* L.) seedlings

NaCl (mM)	AMF treatment	SOD (U mg protein)	CAT (U mg protein)	POD (U mg protein)	APX (U mg protein)
0	AMF_0	10.68 ^d	0.06 ^e	0.17 ^c	0.26 ^c
	AMF_1	16.65 ^{cd}	0.11 ^{de}	0.20 ^{bc}	0.28 ^c
	AMF_2	21.76 ^c	0.17 ^{cde}	0.21 ^{bc}	0.37 ^c
	AMF_0	44.18 ^b	0.18 ^{bcd}	0.23 ^{bc}	0.40 ^c
35	AMF_1	44.39 ^b	0.21 ^{abcd}	0.26 ^{bc}	0.43 ^c
	AMF_2	44.77 ^b	0.27 ^{abc}	0.28 ^{abc}	0.48 ^c
	AMF_0	54.78 ^a	0.30 ^{abc}	0.31 ^{abc}	0.70 ^b
70	AMF_1	54.94 ^a	0.32 ^{ab}	0.34 ^{ab}	0.74 ^b
	AMF_2	55.02 ^a	0.35 ^a	0.44 ^a	1.22 ^a
	Results of ANOVA				
AMF		ns	**	ns	**
NaCl		**	*	*	**
AMF×NaCl		ns	*	ns	**

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

ns و *، **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

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

AMF_0 : control; AMF_1 : *G. intraradices* × *G. mosseae*; AMF_2 : *G. hoi* × *G. intraradices* × *G. mosseae*.

ns, *, **: significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.

معرض تنش قرار می‌گیرند، نخستین آنزیم فعال از بین‌برنده ROS در مکانیسم آنزیمی، SOD می‌باشد که نقش مهمی در دفاع سلولی در برابر ROS و توانایی بالایی برای از بین‌بردن رادیکال‌های فعال اکسیژن^۲ و سوپراکسید^۳، تحت تنش شوری دارد. همچنین فعالیت آنزیم CAT برای تحمل گیاهان در برابر شوری مهم می‌باشد، زیرا می‌تواند H₂O₂ را به O₂ و آب تجزیه کند. از دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم در حذف آنیون سوپراکسید و H₂O₂ آنزیم POD می‌باشد که افزایش فعالیت این آنزیم در پاسخ به شوری گزارش شده است (He et al., 2007). گزارش شده که، سویای کلونیزه‌شده توسط *G. intraradices*، فعالیت آنزیم APX پایینی در ریشه و شاخه نسبت به گیاهان کلونیزه‌نشده، قبل از تنش و طی خشکی داشتند (Porcel & Ruiz-Lozano, 2004). به‌طور کلی می‌توان گفت اختلاف در تأثیر AMF در گیاهان و رفتار متفاوت فعالیت آنزیم‌ها، شاید به‌دلیل گونه‌های مختلف AMF، گونه‌های متفاوت گیاهی و تنوع در شرایط آب و هوایی باشد. فعالیت بالای آنزیم APX در گیاهان میکوریزی، منجر به حذف سریع‌تر H₂O₂ می‌شود؛ بنابراین به کاهش خسارت اکسیداتیو کمک می‌کند. تمامی مشاهدات نشان داد که فعالیت بالای آنزیم APX در بوته‌های نارنج سه‌برگچه‌ای تلقیح‌شده می‌تواند با افزایش رشد گیاه و تحمل شوری وابسته باشد. در این مطالعه، اگرچه همزیستی AM فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۳)، اما مکانیسم‌های دقیق درگیر هنوز ناشناخته هستند که نیاز به بررسی‌های بیشتر و دقیق‌تر دارد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که تلقیح با قارچ AM می‌تواند یک روش مفید برای افزایش رشد دانهال‌های نارنج سه‌برگچه‌ای باشد، زیرا کلونیزاسیون AMF برخی فاکتورهای رشدی را بهبود بخشید و بعضی از صفات مرتبط با ظرفیت فتوسنتزی و فعالیت

تلقیح AMF به افزایش فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدانی کمک کرد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی، این نظریه را تأیید می‌کند که این افزایش فعالیت می‌تواند در تأثیر مفید کلونیزاسیون میکوریزی، در عملکرد و رشد گیاهان نقش داشته باشد و فعالیت بالای آنزیم CAT در دانهال‌های میکوریزی نارنج سه‌برگچه‌ای، می‌تواند تحمل به شوری را افزایش دهد (جدول ۳). میزان فعالیت آنزیم CAT در گیاهان میکوریزی، در پاسخ به تلقیح AMF تغییر کرد، و در میان تیمارهای مختلف شوری، سطح فعالیت آنزیم CAT در گیاهان میکوریزی، بالاتر از گیاهان غیرمیکوریزی بود (جدول ۳). در مورد فعالیت آنزیم POD، تنها اثر ساده شوری اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان داد و فعالیت این آنزیم با اعمال شوری افزایش یافت، به‌نحوی که فعالیت آنزیم POD در شوری ۷۰ میلی‌مولار در مقایسه با شوری ۳۵ میلی‌مولار و عدم شوری، بالاترین فعالیت را نشان داد. بنابراین افزایش شوری فعالیت آنزیم POD را مستقیماً متناسب با غلظت نمک افزایش داد. اثرات ساده شوری و قارچ و اثرات متقابل این دو فاکتور بر فعالیت APX در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. تحت تنش شوری، مشاهده شد که فعالیت APX افزایش یافت و مقدار این پارامتر در گیاهان تلقیح‌شده نسبت به گیاهان شاهد بالاتر بود، که این ممکن است یک مجموعه فعل و انفعال بین AMF، گیاه و شوری باشد (جدول ۳). به‌علاوه ملاحظه شد که بالاترین میزان فعالیت آنزیم APX در بالاترین سطح شوری و تیمار AMF₂ مشاهده شد (U mg protein ۱/۲۲) که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد. یکی از اولین واکنش‌های گیاهان در برابر پاتوژن‌ها، صدمات، شوری و خشکی تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر^۱ می‌باشد و یک ارتباط قوی بین سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تحمل شوری در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (Tunc-Ozdemir et al., 2009). وقتی گیاهان در

2. O₂
3. O₂⁻

1. Reactive oxygen species (ROS)

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داد. همچنین کلونیزاسیون AMF در شرایط شوری، توانست محدودیت‌های رشد حاصل از تنش را کاهش دهد؛ که نهایتاً منجر به افزایش تحمل شوری در گیاهان میکوریزی گردید. بنابراین کاربرد AMF به منظور تولید این پایه ارزشمند، تحت تنش شوری، توصیه می‌گردد.

REFERENCES

1. Abdel Latef, A. A. (2010). Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat cultivars. *Cereal Research Communications*, 38, 43-55.
2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
3. Augé, R. M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11, 3-42.
4. Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
5. Calatayud, A. & Barreno, E. (2004). Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 549-555.
6. Chance, B. & Maehly, A. C. (1995). Assay of catalases and peroxidases. In: Colowick S.P., Kaplan N.O. (ed.): *Methods in Enzymology*. pp. 764-775. Academic Press, New York.
7. Evelin, H., Kapoor, R. & Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany*, 104, 1263-1280.
8. Garcia-Sanchez, F. & Syvertsen, J. P. (2006). Salinity tolerance of Cleopatra mandarin and Carrizo citrange citrus rootstocks seedlings is affected by CO₂ enrichment during growth. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 131, 24-31.
9. Genty, B., Briantais, J. M. & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 990, 87-92.
10. Giri, B. & Mukerji, K. G. (2004). Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*, 14, 307-12.
11. Hartmond, U., Schaesberg, I. N. V., Graham, J. H. & Syvertsen, J. P. (1987). Salinity and flooding stress effects on mycorrhizal and non-mycorrhizal citrus rootstock seedlings. *Plant and Soil*, 104, 37-43.
12. He, Z. Q., He, C. X., Zhang, Z. B., Zou, Z. R. & Wang, H. S. (2007). Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59, 128-133.
13. Hoagland, D. R. & Arnon, D. I. (1950). The water culture method for growing plants without soil. *Circular California Agricultural Experiment Station Berkeley USA*, 347.
14. Mathur, N. & Vyas, A. (1995). Influence of VA mycorrhizae on net photosynthesis and transpiration of *Ziziphus mauritiana*. *Journal of Plant Physiology*, 147(3), 328-330.
15. Melgar, J. C., Syvertsen, J. P., Martinez, V. & Garcia-sanchez, F. (2008). Leaf gas exchange, water relations, nutrient content and growth in citrus and olive seedlings under salinity. *Biologia Plantarum*, 52, 385-390.
16. Munns, R., James, R. A. & Lauchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57, 1025-1043.
17. Murkute, A. A., Sharma, S. & Singh, S. K. (2006). Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi. *Horticultural Science*, 33, 70-6.
18. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiology*, 22, 867-880.
19. Navarro, J. M., Perez-Tornero, O. & Morte, A. (2014). Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi depends on the rootstock salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 171, 76- 85.
20. Ojala, J. C., Jarrell, W. M., Menge, J. A. & Johnson, E. L. V. (1983). Influence of mycorrhizal fungi on the mineral nutrition and yield of onion in saline soil. *American Society of Agronomy*, 75, 255-259.
21. 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, 158-61.
22. Porcel, R. & Ruiz-Lozano, J. M. (2004). Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 55 (403), 1743-1750.

23. Porra, R. J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophyll a and b. *Photosynthesis Research*, 73, 149-156.
24. Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F. & Huang, Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*, 18, 287-296.
25. Storey, R. & Walker, R. R. (1999). Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae*, 78, 39-81.
26. Tozlu, I., Moore, G. A. & Guy, C. L. (2000). Effects of increasing NaCl concentration on stem elongation, dry mass production, and macro and micronutrient accumulation in *Poncirus trifoliata*. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27, 35-42.
27. Tunc-Ozdemir, M., Miller, G., Song, L., Kim, J., Sodek, A., Koussevitzky, S., Misra, A. N., Mittler, R. & Shintani, D. (2009). Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 151, 421-432.
28. Wu, Q. S., Zou, Y. N. & He, X. H. (2010a). Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to growth, photosynthesis, root morphology and ionic balance of citrus seedlings under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 297-304.
29. Wu, Q. S., Zou, Y. N., Liu, W., Ye, X. F., Zai, H. F. & Zhao, L. J. (2010b). Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with mycorrhiza: changes in leaf antioxidant defense systems. *Plant Soil and Environment*, 56, 470-5.