نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد دهم، شماره دوم، تابستان ۹۶
۱۷۴-۱۵۵
http://ejcp.gau.ac.ir

فعالیت‌های بهبود دهنده قارچ میکوریزا در بوته‌های توتون در مواجهه با افزایش غلظت کلر در آب آبیاری

*علیرضا صفاهانی لنگرودی[1]، اسماعیل یساری[1]، فرود بذرافشان[2] و رضا نورا[1]

[1]گروه کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران،

[2]گروه کشاورزی، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۸

چکیده

سابق و هدف: مقادیر بیش از حد کلر در برگ توتون، میزان سوزش را کاهش می‌دهد و باعث عوارض جانبی خاصی مانند افزایش رطوبت، تیرگی، رنگ‌های ناهمگون و بوی نامطلوب در برگ می‌شود. قارچ آربوسکولار میکوریزا با ریشه‌های بیش از ۸۰ درصد از گونه‌های خشکی‌زی از جمله گیاهان نمک دوست، آب دوست و خشکی پسند در ارتباط است. نقش قارچ میکوریزا برای ارتقا رشد گیاه و تحمل به شوری ثابت شده است. قارچ میکوریزا مقاومت در برابر شوری را با استفاده از مکانیسم‌های مختلف افزایش می‌دهند. تا به امروز، هیچ اطلاعاتی در مورد تعامل بین قارچ‌های میکوریزا و توتون در مواجه با غلظت‌های بالای کلر در آب آبیاری و عکس‌العمل بوته‌های توتون در دسترس نیست.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه پیام‌نور گرگان استان گلستان در طول مدت دو سال زراعی (۱۳۹۲-۱۳۹۱) انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ٤ تکرار اجرا شد، فاکتورهای آزمایش شامل ۱- قارچ میکوریزا ***Rhizophagus irregularis*** در دو سطح (با قارچ، AM+ و بدون قارچ، AM-) و ۲- غلظت کلرید در آب آبیاری در چهار سطح (۱۰، ٤۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کلر در لیتر؛ C1-C4)، منبع کلر مورد استفاده کلرید کلسیم بود و غلظت ۱۰ میلی‌گرم کلر در لیتر، فاقد عوارض جانبی روی توتون است لذا این غلظت از کلر به‌عنوان شاهد انتخاب شد. رقم توتون ویرجینیایی انتخابی در این مطالعه K-326 بود.

یافته‌ها: بوته‌های توتون میکوریزایی به‌طور قابل توجهی جذب بالاتر عناصر غذایی در برگ و تعداد برگ، بدون در نظر گرفتن شدت تنش کلرید داشتند. عملکرد برگ بوته‌های AM+ بالاتر از گیاهان AM-، تحت شرایط تنش کلر C2-C4 بود. محتوای کلر برگ با افزایش غلظت کلر آب آبیاری به شکل خطی افزایش می‌یابد، در حالی که گیاهان AM+ محتوای کلر کمتری را نشان دادند. محتوای نیکوتین برگ‌های تولید شده توسط بوته‌های توتون AM+ نسبت به گیاهان AM-، به‌طور قابل توجهی بالاتر بودند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز به‌علاوه آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل اسید آسکوربیک و گلوتاتیون، تغییرات زیادی را با تیمار کلرید به نمایش گذاشته‌اند.

*مسئول مکاتبه: safahani.ali@gmail.com

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به‌دست آمده غلظت قابل قبول کلر در برگ توتون ویرجینیا باید کمتر از ۱ درصد باشد. برگ‌های با غلظت بالاتر کلر از کیفیت پایین‌تر همراه با کاهش میزان سوزش، برخوردارند. بر اساس نتایج بالا بهتر است از آب آبیاری با غلظت کلر زیر ۲۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده شود زیرا در این سطح، غلظت کلر در برگ حدود ۱ درصد باقی می‌ماند. اما از سوی دیگر، سطح کلر ٤٠ میلی‌گرم در لیتر در آب آبیاری در زمان تلقیح توتون با قارچ میکوریزا می‌تواند به‌عنوان حد آستانه بالاتر در نظر گرفته شود. در چنین غلظت‌های بالایی استفاده از قارچ میکوریزا توصیه می‌شود، زیرا غلظت کلر برگ را در حدود سطح قابل قبول نگه می‌دارد.

واژه‌های کلیدی: توتون ویرجینیایی، عملکرد برگ، کلرید، *Glomus intraradices*

مقدمه

مشکلات شوری خاک در طی سال‌های گذشته در دشت‌های ساحلی اقلیم مدیترانه‌ای رو به افزایش گذارده است، که این مسأله به‌طور عمده ناشی از کیفیت پایین آب آبیاری و افزایش قابل توجه طول فصل خشکی بود (٤٥، ٤٧). در محیط شور به‌دلیل شرایط خاص شیمیایی و بالا بودن غلظت برخی عناصر نظیر سدیم و کلراید، قابلیت استفاده و جذب عناصر غذایی گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (٤٥). مقادیر بیش از حد کلر در برگ توتون، میزان سوزش را کاهش می‌دهد و باعث عوارض جانبی خاصی مانند افزایش رطوبت، تیرگی، رنگ‌های ناهمگون و بوی نامطلوب می‌شود (۲۹). تنش شوری باعث خشکی فیزیولوژیکی گیاهان، عدم تعادل در ترکیب مواد مغذی و سمیت ناشی از تجمع بیش از حد یون سدیم و کلر و در نتیجه کاهش پتانسیل اسمزی گیاهان، اختلال در اندامک سلولی و سوخت و ساز آن‌ها می‌شود (٤٥). یکی از اولین پاسخ‌های گیاه به کلر بالا، کاهش در میزان رشد برگ است. کاهش میزان رشد برگ بعد از افزایش کلر خاک عمدتاً به‌علت اثر اسمزی نمک اطراف ریشه‌ها است. گیاهان برای بقا در شرایط تنش، ناگزیر از ایجاد تعادل‌های جدید با محیط خود می‌باشند. حفظ این وضعیت نیازمند انرژی است که در حالت عدم حضور تنش می‌تواند به مصرف رشد برسد. از این‌رو حتی با رفع کاهش پتانسیل اسمزی و تورژسانس سلولی به کمک تنظیم اسمزی، گیاه کاهش رشد محسوسی خواهد داشت. افزایش ناگهانی کلر خاک باعث می‌شود سلول‌های برگ آب از دست بدهند اما این از دست رفتن آب حجم سلول و فشار تورگر زود گذر است و بعد از مدت کوتاهی سلول‌ها دوباره حجم اولیه خود را به‌دست می‌آورند که مرهوم تنظیم اسمزی است، اما رشد سلولی کم می‌شود. روزهای بعد این کاهش رشد و تقسیم سلولی منجربه کم شدن ظهور برگ‌های جدید و کوچکتر شدن اندازه آن‌ها می‌شود در طول این مدت ممکن است تعدادی از برگ‌های مسن بریزد (٤٧).

قارچ آربوسکولار میکوریزا (*Arbuscular mycorrhizal*, AM) با ریشه‌های بیش از ۸۰ درصد از گونه‌های خشکی‌زی از جمله گیاهان نمک دوست، آب دوست و خشکی پسند در ارتباط است (٤٨). نقش AM برای ارتقا رشد گیاه و تحمل به شوری توسط بسیاری از محققان ثابت شده است؛ AM مقاومت در برابر شوری را با استفاده از مکانیسم‌های مختلف افزایش می‌دهند، که عبارتند از افزایش کسب مواد مغذی (۳)، تولید هورمون‌های رشد گیاه، بهبود

شرایط خاک و ریزوسفر (۳۸)، افزایش رسانایی هیدرولیکی ریشه، افزایش جذب آب به واسطه هیف، تنظیم اسمزی برای حفظ آماس و تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (١٤) و تغییر خواص فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه میزبان (۸)، می‌شود. این تغییرات ممکن است به افزایش رشد گیاه منجر شود و متعاقب آن باعث کمتر شدن اثر سمی یون شود (۱۹). این مزایای AM باعث شده است که به یک عامل مناسب به‌عنوان بهبود دهنده زیستی برای خاک‌های شور تبدیل شود.

تا به امروز، اطلاعات خیلی محدود در مورد تعامل بین قارچ‌های AM و توتون در مواجه با غلظت‌های بالای کلر در آب آبیاری و عکس‌العمل بوته‌های توتون در دسترس است. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف غلظت کلر و تلقیح AM روی صفات مختلف زراعی و فیزیولوژیک گیاه توتون است. این مطالعه ممکن است به‌منظور درک بیشتر مکانیسم‌های تحمل به شوری در گیاهان همزیست با AM مفید باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مزرعه و اعمال تیمار: این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه پیام‌نور گرگان (با طول جغرافیایی ٥٤ درجه و ۲۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۵۰ درجه و ٣٦ دقیقه شمالی و با ارتفاع ٦٠ متر بالای سطح دریا) استان گلستان در طول مدت دو سال زراعی (۹۲-۱۳۹۱) انجام شد. همچنین برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مزرعه در جدول ۱ نمایش داده شدند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ٤ تکرار اجرا شد، فاکتورهای آزمایش شامل ۱- قارچ میکوریزا در دو سطح (با قارچ، AM+ و بدون قارچ، AM-؛ قارچ میکوریزای مورد استفاده در این آزمایش *Glomus intraradices* Schenck and Smith، در سال‌های اخیر تحت عنوان *Rhizophagus irregularis* شناخته شده است (٤٦) و کسمی و ورست (۲۰۱۳) نشان دادند که این نوع قارچ میکوریزا قادر به کلونیزاسیون با ریشه گیاه توتون است (۱۸) و ۲- غلظت کلر در آب آبیاری در چهار سطح ۱۰، ٤٠، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کلر (C1-C4) در لیتر، منبع کلر مورد استفاده کلرید کلسیم بود و محققان ثابت کردند که غلظت ۱۰ میلی‌گرم کلر در لیتر، فاقد عوارض جانبی روی توتون است (۲۹)؛ لذا این غلظت از کلر به‌عنوان شاهد انتخاب شد. رقم توتون ویرجینیایی انتخابی در این مطالعه -K٣٢٦ بود که بالاترین کیفیت تجاری را در شمال ایران دارد.

بارش و دما در طول دوره کشت (اردیبهشت تا شهریور) در دو سال آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. بارش و درجه حرارت در طول دو سال آزمایش، مشابه و مطابق با متوسط منطقه بود. لذا تعداد دفعات آبیاری برای هر دو سال برابر (۱۰ بار) و مقدار کلرید مورد استفاده یکسان بود.

خاک مزرعه به‌مدت یک سال به‌منظور کاهش قارچ طبیعی خاک و تجزیه بقایای ریشه محصول قبلی، آیش نگه داشته شد. از آنجا که مقدار اسپور قارچ استخراج شده از خاک مزرعه آزمایشی بسیار کم بود (۲-۱ در هر کیلوگرم)، عملیاتی برای ضد عفونی کردن خاک انجام نشد.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه.

Table 1. Soil physical and chemical properties.

شن (درصد) Sand %	رس (درصد) Clay %	سیلت (درصد) Silt %	اسدیته pH	هدایت الکتریکی (دسیزیمنس برمتر) E.C. (ds/m)	کربن آلی (درصد) O.C %
47	28	24.6	7.4	2.5	0.4
فسفر دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Ava. P (mg/kg)	پتاسیم دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Ava. K (mg/kg)	نیتروژن کل (درصد) T.N %	ظرفیت مزرعه (درصد) F.C. %	نقطه پژمردگی (درصد) W.P. %	
6.5	187.5	0.06	26.4	14.9	

E.C.: Electrical conductivity, O.C. Organic carbon, T.N. Total nitrogen, Ava. P, Available, F.C. Field capacity, W.P. Wilting point.

جدول ۲- توزیع ماهانه تعداد و حجم آبیاری، بارندگی و دما در طول دو سال آزمایش.

Table 2. Monthly distribution of the number of irrigations, irrigation volumes, rainfall and temperature in the two years of study.

ماه Month	تعداد آبیاری No. of Irrigation		حجم (میلی‌متر) Volume (mm)		بارندگی (میلی‌متر) Rainfall (mm)		میانگین درجه حرارت (سانتی‌گراد) Mean Temperature (ºC)	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
اردیبهشت May	-	-	-	-	70	45	18.1	18.4
خرداد June	2	2	63	30	40	36	21.8	23.2
تیر July	5	5	138	170	25	15	25	26.3
مرداد August	2	3	78	101	3	0	25.3	25.5
شهریور September	-	-	-	-	42	40	20.8	21.5

۲۲ میلی‌متر به‌طور میانگین در مرحله نشاکاری، آبیاری صورت گرفت که در این جدول لحاظ نشده است.

Irrigation water supplied at transplanting (average of 22 mm) was not included.

بذرهای مورد نیاز برای اجرای آزمایش از مؤسسه تحقیقات توتون تیرتاش در استان مازندران تهیه گردید. قارچ میکوریزایی مورد آزمایش به‌صورت آماده از گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه گردید.

ماده تلقیحی مورد استفاده در این آزمایش ابتدا در ریشه‌های ذرت کشت داده شده و ریشه‌های به شدت کلونیزه شده (۱۰۰ گرم) حامل زادمایه (اسپور، ریشه‌های آلوده و خاک؛ هر ۱۲ گرم زادمایه ۱۳۰۰ اسپور داشت) در ورمیکولیت استریل (۱ کیلوگرم) رقیق شدند. ماده تلقیح، در خزانه توتون به میزان ۱۰۰ گرم در مترمربع پیش از کاشت بذور در خطوط کاشت مشخص شده که به فاصله ۵ سانتی‌متر از هم جدا شده بودند، استفاده شد. خزانه‌های حاوی قارچ و بدون قارچ توتون به‌طور جداگانه نگهداری شدند. وضعیت حاصلخیزی خاک خزانه شبیه به خاک مزرعه مورد آزمایش بود. بوته‌های توتون تلقیح شده و تلقیح نشده هر ۲-۳ روز یک بار آبیاری شدند. ریشه توتون برای کلونیزه شدن با قارچ میکوریزا در پایان ٤ هفته پس از تلقیح (۲۸ روز پس از کاشت) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استقرار همزیستی (در حدود ٤۰ درصد کلونیزاسیون ریشه)، بوته‌های توتون با AM+ و AM–، با فواصل کشت ۰/۵ متر در روی ردیف و ۱ متر بین ردیف‌ها، در اواسط خرداد ماه در دو سال آزمایش به مزرعه اصلی منتقل شدند. تراکم به‌طور متوسط ۲ بوته در مترمربع و ابعاد هر

کرت ۱۰ متر طول × ٦ متر بود. همچنین، تمام مزرعه مورد آزمایش با یک حفره بزرگ احاطه شده بود و فاصله ۳ متر بین کرت‌ها به‌منظور جلوگیری از گسترش جانبی آب باقی رها شده بود. عملیات خاکورزی، کاشت و داشت مطابق شیوه‌های مرسوم منطقه بود. گیاهان به‌صورت قطره‌ای، آبیاری شدند.

قبل از نشاکاری ۵۳ کیلوگرم در هکتار فسفر و ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار پتاسیم به خاک اضافه شد. کود نیتروژن، از ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار به شرح زیر توزیع شد: ۵۰ درصد در مرحله نشا به شکل سولفات آمونیوم (۲۱ درصد N) و ۵۰ درصد دیگر به شکل نیترات آمونیوم (۳۳ درصد N) در دو مرحله (استقرار گیاهچه و دیگری در ابتدای طویل شدن سریع ساقه).

جمع‌آوری داده‌ها: میزان تبادل کربن (CER)، میزان تعرق (E) و هدایت روزنه (GS) توسط آنالیزر گاز مادون‌قرمز (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA) در چهار تکرار در هر تیمار از ساعت ۰۹:۳۰ تا ۱۰:٤۰ در یک روز آفتابی قبل از برداشت، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها زمانی که ضریب کلی تغییرات کمتر از ۰/۵ درصد بودند، ثبت شد.

ده گیاهان به‌طور تصادفی از هر کرت آزمایشی در هر تکرار و در مرحله گلدهی انتخاب و پارامترهای زیر ثبت شدند: وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، تعداد برگ، درصد کلونیزاسیون قارچ در ریشه، رنگدانه‌ها و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی.

راندمان مصرف آب، (WUE)، با تقسیم عملکرد برگ (کیلوگرم در هکتار) بر مقدار آب مصرفی همراه با بارش (میلی‌متر) محاسبه شد (۱۰). وابستگی میکوریزایی (MD) و یا پاسخ به کلنیزاسیون قارچ میکوریزا برای گیاهان در هر سطح از تیمار کلر با استفاده از فرمول زیر (۲٤) محاسبه شد:

$$MD = \frac{\text{وزن خشک گیاه } AM + \text{ در هر سطح کلر}}{\text{وزن خشک گیاه } AM - \text{ در همان سطح کلر}} \times 100$$

جهت اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه توسط AM، ابتدا رنگ آمیزی انجام شد (٤۳) و درصد کلونیزاسیون با استفاده از روش شبکه خطوط متقاطع، محاسبه گردید (۲۵). هر بوته از خاک توسط حفر گودالی به مساحت ۰/۳ مترمربع و عمق ۰/٦ متر به‌صورت عنوان یک بلوک از خاک استخراج شد. ریشه برای حذف همه آثار خاک به خوبی شسته شد و گیاهان سپس به برگ، ساقه و ریشه جدا شدند. وزن تر قسمت‌های مختلف گیاه نمونه ثبت شد و برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌های گیاهی به مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

برگ‌ها از بوته‌های شاهد و تحت تنش کلر در مرحله گلدهی جدا شدند و برای اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ روش (٤۹) و پتانسیل اسمزی (Ψs) روش (۳٦) استفاده شد.

رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) در برگ براساس روش شرح داده شده توسط (۳۹) تعیین شد.

محتوای پرولین آزاد و نشت الکترولیت (EL) در مواد گیاهی به‌ترتیب طبق روش شرح داده شده توسط (۸، ۲۱) تعیین شد. استخراج و برآورد آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی، همانند آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، کاتالاز (CAT)، اسید اسکوربیک (ASA)، گلوتاتیون (GSH) و گلوتاتیون اکسید (GSSG) به‌ترتیب با توجه به روش (٤۰)، (۵۰)، (۱۳)، (۳۵)، (۳٤) و (۵) اندازه‌گیری شدند.

در اواخر مرداد ماه، زمانی که تقریباً ۵۰ درصد از گیاهان در هر کرت، گلدار شدند، گیاهان در ارتفاع ۲٤–۲۵ برگ در بوته، سرزنی شدند. به‌طور متوسط

حدوداً ٦٤ بوته برای هر تیمار از بخش مرکزی هر کرت (۳۲ مترمربع) برای تعیین عملکرد برداشت شدند. برداشت‌ها در ۵ چین، در هر چین ٤-۵ برگ چیده شده و فواصل چین‌ها هفتگی بود که شروع برداشت از هفته ششم پس از نشاکاری بود. برگ‌های برداشت شده، در گرمخانه متداول برای توتون ویرجینیا، خشک شدند. عملکرد برگ خشک شده در رطوبت استاندارد ۱۹ درصد تعیین شد.

محتوای کلرید برگ‌ها با استفاده از روش استاندارد (٤) تعیین شد. مجموع N با استفاده از روش کجلدال تجزیه و تحلیل شد (۱۱). نیکوتین و قند، به‌ترتیب با استفاده از روش‌های توصیه شده CORESTA، روش شماره ۳۵ (۱٦) و روش شماره ۳۸ (۱۷) اندازگیری شدند. K توسط فلیم فتومتر تعیین شد، فسفر با استفاده از روش مولیبدن آبی-اسید اسکوربیک (٤۳)، کلسیم و منیزیم توسط طیف سنجی جذب اتمی تعیین شدند.

تحلیل آماری: عملکرد و سایر صفات زراعی و شیمیایی مورد تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) قرار گرفتند. از آنجا که تعداد دفعات آبیاری و مقدار کلرید در دو سال آزمایش برابر بود، لذا پاسخ به کلرید در دو سال، نسبتاً مشابه بود. علاوه‌بر این آزمون بارتلت و تجزیه و تحلیل ترکیبی از دو فصل رشد استفاده شد. آزمون X^2 بارتلت نشان داد که ترکیب داده‌های هر دو سال قابل قبول است. لذا در نتایجی که در ادامه اشاره شده، تمام مقادیر، میانگین داده‌های ترکیب شده برای ۲ سال آزمایش است. میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

کلونیزاسیون قارچ میکوریزا و وابستگی میکوریزایی (MD): گیاچه‌های توتون تلقیح شده با میکوریزا، در زمان نشا (در سن ۲۸ روزگی گیاهچه) ٤۰ درصد کلونیزاسیون داشتند در حالی که گیاهچه‌های فاقد تلقیح تنها ۲-۱ درصد کلونیزاسیون مشاهده شد. یک ماه پس از قرار گرفتن ادرمعرض غلظت‌های متفاوت از کلرید در مزرعه اصلی، هیچ یک از بوته‌های توتون در تیمار عدم تلقیح (AM-) در طول آزمایش کلونیزاسیون را نشان ندادند (جدول ۳). بالاترین کلنیزاسیون AM ریشه در تیمار C1 مشاهده شد، که با افزایش سطح کلر به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (جدول ۳). تحقیقات قبلی نشان داده است که شوری، نه تنها تأثیر منفی بر گیاه میزبان دارد بلکه بر قارچ میکوریزا هم مؤثر است. با توجه به این‌که یکی از شرایط لازم برای همزیستی بین میکوریزا و گیاه انتقال مواد آلی از گیاه به قارچ است، بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که تنش شوری، کاهش فتوسنتز و رشد رویشی گیاه را به دنبال دارد در نتیجه منابع کربن کمتری در اختیار قارچ قرار می‌گیرد که می‌تواند باعث کاهش همزیستی و کلونیزاسیون قارچ با گیاه شود (۳۷). همچنین تنش شوری می‌تواند سبب اختلال در ظرفیت کلنیزاسیون، جوانه‌زنی اسپور و رشد قارچ و گسترش هیف پس از کلنیزاسیون اولیه شود (۳۱، ۳۲، ۳۷)، در صورتی‌که پورسل و همکاران (۲۰۰٤) بر روی کاهو به یافته‌هایی بر خلاف نتایج فوق دست یافتند چنین پاسخ‌های متفاوت کلونیزاسیون گیاهان مایکوریزایی نسبت به تنش می‌تواند علاوه‌بر شرایط خاک و شدت تنش به مؤلفه‌های فیزیولوژیکی گیاه مانند پتانسیل آب برگ و میزان انباشت تنظیم کننده‌های اسمزی مانند پرولین و اختلاف

مورفولوژیک و فیزیولوژیک گونه قارچ همزیست مربوط باشد (٤٤).

داده‌های ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهد که MD بوته‌های توتون به‌طور قابل توجهی با افزایش سطوح کلر (جدول ۳) کاهش می‌یابد. در توتون AM+ بالاترین مقدار MD به C1، در مقایسه با دیگر سطوح کلر، تعلق داشت. کاهش MD در سطوح بالاتر کلرید (C2-C4) می‌تواند به‌علت اثر بازدارندگی کلر بر رشد قارچ میکوریزا و تراکم اسپور باشد (۳۱).

پارامترهای رشد گیاه: افزایش سطح کلر، به‌طور قابل توجهی همه ویژگی‌های رشد مانند تعداد برگ، وزن خشک ساقه و ریشه را در بوته‌های توتون AM+ و AM کاهش می‌دهد (جدول ۳). با این حال، بدون در نظر گرفتن غلظت سطح کلرید، در پارامترهای رشد، بوته‌های AM+ نسبت به گروه AM– بالاتر بودند. بوته‌های AM+ در بالاترین سطح کلرید قابل قیاس با بوته‌های AM– در سطح شاهد بودند (برای مثال تعداد برگ در تیمار AM C4+ تعداد برگ ۱۸/۵ و در تیمار AM C1– تعداد برگ ۲۱). قرار گرفتن در معرض تنش کلر، هدایت هیدرولیکی را کاهش می‌دهد و اختلال در گسترش دیواره سلولی باعث کاهش قابل توجهی در صفات مورفولوژیکی گیاهان می‌شود (٤٥). به‌نظر می‌رسد کاهش وزن خشک بافت‌های گیاهی به‌دلیل افزایش هزینه متابولیک، کاهش استفاده از کربن توسط گیاه برای تطابق با شوری می‌باشد (٤١). در لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.)، عبیر و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که طول و همچنین زیست توده تازه و خشک ساقه و ریشه با افزایش شوری کاهش می‌یابد (۳). افزایش معنی‌دار مقدار ماده خشک گیاه در حضور قارچ میکوریز می‌تواند به‌دلیل افزایش جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن و فسفر (۱۹) و یا بهبود جذب آب (۵۲) در گیاهان میکوریزی باشد. افزایش طول ریشه و تراکم و یا تغییر مورفولوژی سیستم ریشه، به طوری که منجر به افزایش جستجوی خاک و استخراج آب شود به‌عنوان سازوکار بالقوه برای بهبود مقاومت در برابر تنش، در گیاهان همزیست با میکوریزا پیشنهاد شده است (٤٥، ٦). آروکا و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که قارچ‌های میکوریزا از طریق ساز و کارهای مختلف نظیر تولید هورمون‌های گیاهی، حل فسفات کم محلول و کاهش سطح اتیلن گیاه مستقیماً رشد گیاهان را افزایش دهند (٦).

عملکرد برگ خشک شده و راندمان مصرف آب: عملکرد برگ و راندمان مصرف آب توتون به‌طور قابل توجهی با افزایش غلظت کلر کاهش یافت؛ در مقابل، تلقیح قارچ تولید برگ و راندمان مصرف آب در توتون را بدون در نظر گرفتن غلظت سطح کلر افزایش داد (جدول ۳). کلنی‌زاسیون قارچ، رشد، وضعیت آب، مواد مغذی و عملکرد کمی برگ توتون را در زمان مواجه با غلظت‌های مختلف سطح کلر بهبود بخشید. مطالعه ۲ ساله مزرعه نشان می‌دهد که تلقیح قارچ میکوریزا باعث بهبود تحمل به شوری در گیاه توتون به‌عنوان نتیجه ثانویه از وضعیت تغذیه بهبود یافته گیاه میزبان، به‌ویژه در نیتروژن و فسفر می‌شود.

جدول ۳- میانگین عملکرد برگ، راندمان مصرف آب، پاسخ به قارچ، تعداد برگ‌های هر گیاه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه و عملکرد برگ بوته‌های توتون همزیست با قارچ AM+ و بدون قارچ AM– در مواجه با غلظت‌های متفاوت کلر (۱۰، ٤٠، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کلر در لیتر آب، C1-C4) میانگین دو سال آزمایش.

Table 3. Mean of Crued leaf yield, Water use efficiency (WUE), Mineral contents in leaf, No. of leaves, Shoot dry weight, Root dry weight, Percentage root colonization, Mycorrhizal dependency (MD), Nicotine, Reducing sugar and proline of mycorrhizal (AM+) and non-mycorrhizal (AM-) tobacco plants exposed to varying concentrations of chloride (C1: 10, C2: 40, C3:70 and C4:100 mg Cl L^{-1}; average of two growing seasons, 2012-2013).

	تیمار Treatment	کلنیزاسیون ریشه (درصد) Root colonization (%)	پاسخ به قارچ (درصد) MD (%)	تعداد برگ‌های هر گیاه Leaves per plant	وزن خشک ریشه (گرم در گیاه) Root dry weight (g $plant^{-1}$)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گیاه) Shoot dry weight (g $plant^{-1}$)	عملکرد برگ (کیلوگرم در هکتار) Yield of crude leaves (kg ha^{-1})	راندمان مصرف آب (کیلوگرم بر مترمکعب) WUE (kg m^{-3})
AM+	C1	67 a	120 a	24.2 a	29.9 a	354.5 a	2329.00 a	1.66 a
	C2	59 b	118 b	23 ab	25.8 b	327.4 ab	2297.66 a	1.64 a
	C3	50 c	115 c	21 b	24.1 bc	295.1 bc	2021.56 b	1.57 ab
	C4	43.3 d	113 d	18.5 c	23.2 c	290.2 c	1971.02 b	1.40 b
	LSD	6.1	3	2.2	1.8	35.2	66.3	0.19
AM-	C1	-	-	21 a	25.5 a	295.4 a	1998.21 a	1.44 a
	C2	-	-	16.2 b	21.7 b	277.7 b	1899.32 b	1.35 a
	C3	-	-	12 c	19.1 bc	256.8 c	1785.74 c	1.23 b
	C4	-	-	11 c	18.2 c	254.5 d	1734.11 c	1.20 b
	LSD			3.7	2.8	30.5	80.7	0.11
	ANOVA							
	کلر C	*	*	*	*	*	*	*
	قارچ AM	**	**	**	**	**	**	**
	C × AM	*	*	*	*	*	*	*

اعداد با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD. * معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

Means with different letters are significantly different at P≤0.05 (LSD); * P≤0.05 and ** P≤0.01.

به‌نظر می‌رسد افزایش غلظت کلر منجر به کاهش کارایی فتوسنتزی و رشد شده است. کاهش میزان رشد در شرایط تنش خشکی ناشی از شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش آب قابل دسترس گیاه و اختلال در فرآیندهای تولید انرژی مثل فتوسنتز باشد (٦). کاهش فتوسنتز یکی از عوامل مهم کاهش رشد گیاه تحت تنش شوری می‌باشد. کاهش تعداد برگ و بنابراین کاهش سطح دریافت نور، تسریع پیری برگ‌ها تحت تأثیر قرار گرفتن دستگاه فتوسنتزی در حضور غلظت‌های بالای کلر، تغییر در هدایت روزنه‌ای نرخ تعرق، محتوی نسبی آب و کاهش ترگر، تغییر در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، سمیت یونی به‌دلیل جذب مقادیر بالای آنیون کلر و رقابت و اختلال در جذب و انتقال یون‌های ضروری و عدم تعادل و کمبود عناصر ضروری از جمله دلایلی است که در کاهش رشد در شرایط تنش یونی و خشکی ناشی از شوری در گزارشات مختلف آمده است (۲۹، ۳۰، ٤٧). وضعیت تغذیه و محتوای نسبی آب بهبود یافته ناشی از استقرار قارچ‌های میکوریزا می‌تواند اثرات شوری را کاهش داده و تولید برگ توتون تحت غلظت‌های مختلف کلر را افزایش دهد. سازوکارهای متفاوتی برای چگونگی اثر قارچ میکوریزا در شرایط تنش در گیاهان میزبان بیان شده است، در تنش شوری ممکن است کلونیزاسیون قارچ میکوریزا موجب تغییر مورفولوژی و طول ریشه گیاهان همزیست و افزایش دسترسی این گیاهان به حجم بیشتری از خاک گردد (۵۲). از آنجا که تیمار AM+ عملکرد برگ در غلظت‌های مختلف کلر را به‌طور ثابت افزایش می‌دهد، کارایی مصرف آب گیاهان AM+ بسیار بالاتر از گیاهان شاهد بود (جدول ۳). همچنین در این مطالعه، بوته‌های توتون AM+ مقدار راندمان مصرف آب بالاتری در مقایسه با گیاهان AM- داشتند، همان‌گونه که با از دست دادن آب کمتر و RWC بالاتر نشان داده شد، که احتمالاً به‌خاطر بهبود ظرفیت جذب آب توسط قارچ میکوریزا می‌باشد.

نتایج این مطالعه همچنین همبستگی مثبت وضعیت آب (راندمان مصرف آب و محتوی نسبی آب) بوته‌های توتون با فعالیت فتوسنتزی را تأیید کرد. بوته‌های AM+ سطوح بالاتر فعالیت فتوسنتزی را نشان می‌دهند، که نشان دهنده تأثیر مثبت همزیستی قارچ بر جریان توده‌ای آب به برگ و افزایش جذب آب توسط هیف‌های ریشه است (۵۲). از سوی دیگر، گیاهان AM+ وضعیت آب بهتری دارند که به گیاهان میزبان اجازه می‌دهد که هدایت روزنه بالاتر و سرعت تعرق بیشتری داشته باشند، در نتیجه کاهش مقاومت اپیدرمی برگ و بهبود فعالیت فتوسنتزی را در پی دارد.

ترکیب مواد معدنی برگ: اثر کلر در محتوای پتاسیم، نیتروژن، منیزیم و فسفر معنی‌دار نبود، اگر چه روند کاهش جزئی با افزایش کلر در آب آبیاری ثبت شد (جدول ٤). استقرار قارچ میکوریزا باعث افزایش یون‌های معدنی نسبت به گیاهان شاهد AM- می‌شود و همچنین تأثیر القایی تنش کلر را تا حد مشخصی کاهش می‌دهد (جدول ٤). به خوبی مشخص شده است که شوری باعث عدم تعادل مواد مغذی در گیاهان می‌شود. قارچ میکوریزا به گیاهان کمک می‌کند مواد غذایی بیشتری را جذب کنند. از آنجایی که انتقال مواد فتوسنتزی در داخل گیاه به فسفر نیازمند است، لذا کاهش میزان جذب فسفر در تنش شوری، می‌تواند منجر به کاهش انتقال این‌گونه مواد به اندام‌های رویشی و در نهایت کاهش عمومی رشد گیاه گردد (٤٥). با توجه به این‌که فسفر یک عنصر غیرمتحرک است، می‌توان کاهش جذب آن را به کاهش طول ریشه این گیاه در شرایط شوری نسبت داد (٤٥).

غلظت فسفر در بافت‌های گیاهی در شرایط تنش شوری به سرعت کاهش می‌یابد، زیرا یون‌های فسفات با یون کلسیم خاک‌های تحت تنش به سرعت رسوب کرده و از دسترس گیاهان خارج می‌گردند. افزایش غلظت و مقدار فسفر در گیاهان میکوریزی به‌دلایل مختلف از جمله افزایش سطح جذب ریشه، کاهش pH محیط ریشه، پایین بودن km قارچ نسبت به گیاه، (ثابت بیوشیمیایی، غلظتی از سوبسترا است که در آن سرعت واکنش نصف سرعت ماکزیمم است) و فعالیت زیاد آنزیم فسفاتاز قارچ‌های میکوریزی می‌باشد (٤٥).

یون کلر رابطه متضاد با چندین یون دیگر مانند پتاسیم دارد. در مطالعه حاضر تحت تیمار افزایش غلظت کلر در آب آبیاری، افزایش غلظت کلر در برگ و کاهش غلظت دیگر یون‌ها همانند پتاسیم، فسفر و منیزیم، با یافته‌های بیلجیلی و همکاران (۲۰۱۱) و ابیر و همکاران (۲۰۱۵) به‌ترتیب برای کلزا و لوبیا چشم بلبلی، هم جهت بود (۳، ۹). قارچ میکوریزا نه تنها اثر مضر کلر اضافی را با کاهش جذب آن کاهش می‌دهد بلکه باعث افزایش قابل توجه جذب سایر عناصر معدنی مهم مانند پتاسیم، فسفر و منیزیم می‌شود. پتاسیم یکی از مهمترین کاتیون های موردنیاز گیاه می‌باشد که تجمع آن در هنگام تنش اسمزی در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنه‌ای نقش ایفا می‌کند. ممکن است هیف‌های قارچی که از سطح ریشه به طرف خاک گسترش پیدا می‌کنند باعث افزایش سطح موردنیاز برای جذب شوند و مقادیر بیشتری از پتاسیم موردنیاز گیاه را از منطقه اطراف ریشه تخلیه کنند (٦). رابطه میکوریزی به گیاهان کمک می‌کند تا برای جذب پتاسیم رقابت کنند و تمایل بیشتری برای جذب پتاسیم تحت شرایط شوری القا می‌کند (٦). در مطالعات بسیاری اظهار شده است که قارچ میکوریزا باعث افزایش معنی‌دار کلسیم گیاه می‌شود (٤٥). به‌نظر می‌رسد میکوریزا تمامیت غشاء، جذب انتخابی یون و نقل و انتقال یون را که توسط شوری آسیب دیده است بهبود می‌بخشد. این نتایج با نتایج به‌دست آمده در بخش شاخص پایداری غشا، همخوانی دارد. قارچ میکوریزا با افزایش جذب منیزیم باعث بهبود رشد گیاه، فتوسنتز و افزایش غلظت کلروفیل می‌شود (٢٦). استقرار قارچ میکوریزا در گندم به‌طور قابل توجهی غلظت فسفر، روی و پتاسیم ساقه را افزایش می‌دهد، در حالی که غلظت کلر و سدیم را کاهش می‌دهد (۱۹).

تجزیه و تحلیل رگرسیون بین سطوح کلر در آب آبیاری و غلظت کلر در برگ نشان داد که غلظت کلر در برگ به شکل خطی به میزان کلر آب آبیاری (شکل ۱) پاسخ می‌دهد، میزان افزایش خطی غلظت کلر برگ در بوته‌های AM- از بوته‌های AM+ بالاتر بود. غلظت کلر در برگ را می‌توان با معادلات نشان داده شده در شکل (۱)، با توجه به سطح کلر در آب آبیاری و تلقیح قارچ آربوسکولار، پیش‌بینی کرد. بر اساس نتایج به‌دست آمده غلظت قابل قبول کلر در برگ توتون ویرجینیا باید کمتر از ۱ درصد باشد. برگ‌های با غلظت بالاتر کلر از کیفیت پایین‌تر همراه با کاهش میزان سوزش، برخوردارند (٤٧). بر اساس نتایج بالا بهتر است از آب آبیاری با غلظت کلر زیر ۲۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده شود زیرا در این سطح، غلظت کلر در برگ حدود ۱ درصد باقی می‌ماند. اما از سوی دیگر، سطح کلر ٤۰ میلی‌گرم در لیتر در آب آبیاری در زمان تلقیح توتون با قارچ میکوریزا می‌تواند به‌عنوان حد آستانه بالاتر در نظر گرفته شود. در چنین غلظت‌های بالایی استفاده از قارچ میکوریزا توصیه می‌شود، زیرا غلظت کلر برگ را در حدود سطح قابل قبول نگه می‌دارد (شکل ۱).

سلول‌های ریشه کلراید را از محلول خاک از طریق کانال‌های آنیونی تحت شرایط شوری جذب می‌کنند (۲۸). کنتریل و لیندرمن (۲۰۰۱) بیان می‌کنند که بهبود جذب فسفر به‌وسیله قارچ میکوریزا در گیاهانی که در مناطق شور رشد یافته‌اند اثر منفی کلراید را کاهش می‌دهد (۱۲). فسفر باعث حفظ تمامیت غشاء واکوئل می‌شود و مانع تداخل یون‌های کلراید در مسیرهای متابولیک رشد می‌شود.

نیکوتین و قند: در مطالعه حاضر، محتوای قند به‌طور قابل توجهی با افزایش سطح کلر از C1 به C4 بدون در نظر گرفتن تیمار قارچ، افزایش یافت (جدول ٤). بوته‌های AM+ در مقایسه با AM- حاوی مقدار بالاتر قابل توجهی از قند بودند (جدول ٤). افزایش سطح کلر، غلظت کربوهیدرات‌های محلول در توتون را بدون در نظر گرفتن تیمار قارچ افزایش می‌دهد و عمدتاً به‌این دلیل است که کربوهیدرات‌ها نقش بسیار مهمی در حفظ تعادل اسمزی در گیاهان در معرض تنش نمک ایفا می‌کنند و از این‌رو گیاه را در برابر اثرات جانبی نمک محافظت می‌کنند (۲۰). تحت شرایط افزایش سطح کلر، استقرار قارچ میکوریزا در توتون تجمع قندها را افزایش می‌دهد که برای حفاظت اسمزی بهتر موردنیاز است و این نتایج هم راستا با گزارش‌های ارائه شده توسط سایر محققان است (۲۰).

اثر کلر در غلظت نیکوتین برگ‌ها معنی‌دار نبود و روندی متناقض را نشان داد (جدول ٤). غلظت نیکوتین موجود در برگ‌های توتون بدون در نظر گرفتن سطح کلر توسط قارچ میکوریزا افزایش یافت (جدول ٤). نتایج مشابه و اثر ناچیز کلر در محتوای نیکوتین موجود در توتون ویرجینیا، بارلی و مریلند توسط سایر محققان گزارش شده است (۱۵).

در این مطالعه نتیجه اثرات میکروبی روی غلظت نیکوتین موجود در برگ‌ها اغلب با نتیجه اثرات آن‌ها بر غلظت نیتروژن همسو و مستقل از عملکرد برگ بود. قارچ میکوریزا به‌عنوان تبدیل کننده نیتروژن معدنی خارج از ریشه به اسیدهای آمینه داخل شناخته شده است و نیتروژن را از میسلیوم خارجی به داخلی به‌صورت آرژنین جابجا می‌کند (۱۸)، که پیش ماده نیکوتین است (۲۳). این ممکن است دلیل این باشد که چرا اثرات مثبت قارچ میکوریزا روی غلظت نیتروژن برگ‌ها با افزایش نیکوتین همراه بود.

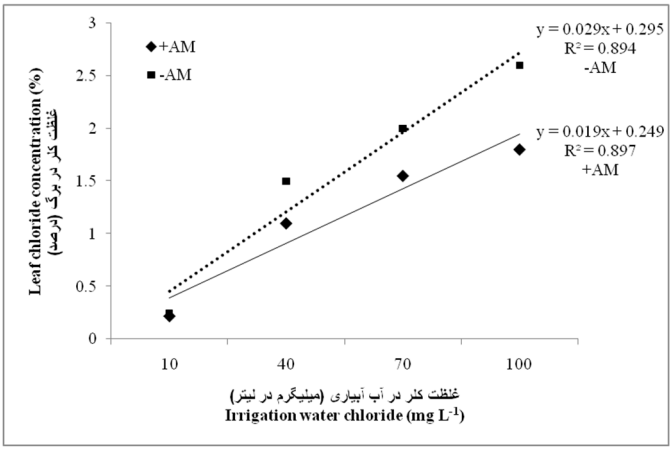
فعالیت فتوسنتزی، محتویات کلروفیل و کاروتنوئید: افزایش غلظت کلر در آب آبیاری میزان تبادل کربن، هدایت روزنه‌ای و تعرق در هر دو بوته AM- و AM+ کاهش داد اما میزان کاهش در بوته‌های AM- قابل توجه بود (جدول ۵). در بوته‌های AM+ نسبت به AM- مقدار تبادل کربن، تعرق و هدایت روزنه‌ای بالاتری تحت تمام سطوح کلرید داشتند (جدول ۵).

کاهش قابل ملاحظه فتوسنتز، در توتون تحت تنش نمک، مشاهده شد (٤٧). تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که در طی تنش غیر زیستی، گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا اغلب میزان تبادل گاز بالاتری از گیاهان بدون همزیستی دارند (٦، ۳۱). این اثرات مثبت همچنین ممکن است، به احتمال زیاد با افزایش تثبیت دی اکسید کربن تحت تنش شوری، منجر به افزایش رشد گیاهان کلونیزه شده با قارچ میکوریزا به حساب آید. مقادیر بالاتر فعالیت فتوسنتزی در گیاهان میکوریزایی نشان می‌دهد که دستگاه فتوسنتزی این گیاهان تحت تنش شوری کمتر آسیب دیده است (٦).

همزیستی قارچ میکوریزا غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها را در تمام سطوح غلظت کلرید افزایش داد (جدول ۵). تنش ناشی از افزایش غلظت کلرید به‌طور قابل توجهی غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها را کاهش داد (جدول ۵). نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد که تنش می‌تواند منجربه

کاهش کارایی فتوسنتز شود، همچنین کاهش کلروفیل را می‌توان به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو در گیاهان تنش در نظر گرفت (۷). یکی از دلایل کاهش کاروتنوئید در شرایط تنشی، تخریب بتاکاروتن و زآگزانتین در گیاهان می‌باشد (۲۲). کاهش در محتوای کلروفیل به‌دلیل افزایش سطح کلرید در تأیید با یافته‌های دیگر محققان است کاریوازوگلو و همکاران، (۲۰۰۵). کومار و همکاران، (۲۰۱۵) و عبیر و همکاران (۲۰۱۵)، افت قابل ملاحظه مقدار کلروفیل به‌ترتیب در گیاهان توتون، جاتروفا کارکس *Jatropha curcas* و لوبیا چشم بلبلی که در معرض تنش شوری بودند، گزارش نمودند (۳۰، ۳۱، ۳).

از جمله دلایل کاهش کلروفیل در شرایط شوری می‌توان به چندین مورد اشاره کرد برای مثال تداخل نمک با سنتز کلروفیل (۲۶) علت احتمالی دیگر اثرات آنتاگونیستی شوری بر جذب منیزیم (۳۱) و از دلایل دیگر کاهش کلروفیل در شرایط تنش می‌توان به مصرف بیشتر گلوتامات پیش ماده ساخت کلروفیل و پرولین، و مصرف نیتروژن در تولید و تجمع بیشتر پرولین در شرایط تنشی اشاره کرد (۲۷). اما گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا نسبت به گیاهان شاهد در همان شرایط تنش از وضعیت تغذیه‌ای بهتری برخوردارند و کمتر دچار محدودیت نیتروژن برای سنتز کلروفیل و پرولین می‌شوند. همچنین تلقیح با قارچ میکوریزا محتوای کلروفیل را به‌دلیل تأثیر مستقیم آن در جذب منیزیم که یک جزء مهم از رنگدانه کلروفیل است را افزایش می‌دهد (جداول ۳ و ٤). همزیستی گوجه‌فرنگی با قارچ میکوریزا موجب افزایش محتوای کارتنوئید نسبت به گیاهان شاهد شد (۱).



شکل ۱- رابطه بین غلظت کلر در برگ بوته‌های توتون همزیست با قارچ AM+ و بدون قارچ AM- و غلظت‌های متفاوت کلر (۱۰، ٤۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کلر در لیتر آب، C1-C4) میانگین دوسال آزمایش.

Figure 1. Correlation between levels of irrigation water chloride and chloride concentrations of leaves in presence and absence of AM fungi (average of two growing seasons, 2012-2013).

شاخص پایداری غشاء و میزان پرولین: نشت الکترولیت از غشای سلولی بوته‌های توتون، تحت افزایش سطح کلر به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (جدول ۵). با این حال، در گیاهان تلقیح شده با قارچ (+AM) که در معرض تنش کلر بودند نشت الکترولیت به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (جدول ۵). تجمع پرولین در بوته‌های AM+ به‌علاوه تنش کلر در مقایسه با شاهد افزایش یافت (جدول ٤). با این حال افزایش بیشتر در گیاهان تحت تنش کلر آشکار بود. تلقیح قارچ در گیاهان تحت تنش کلر،

همچنین تجمع پرولین را افزایش می‌دهد (جدول ٤). کاهش بیشتر نشت الکترولیت درتوتون کلونیزه شده با قارچ نسبت به آن‌هایی که فاقد قارچ هستند، به‌نظر می‌رسد که به تجمع بالای پرولین در برگ بوته‌های AM+ مربوط می‌شود. پرولین می‌تواند به‌عنوان تنظیم کننده فشار اسمزی و پروتئین تثبیت کننده عمل کند (۳۳).

نفوذپذیری غشاء معمولاً به‌عنوان نشت الکترولیت ارزیابی می‌شود که یک شاخص کلیدی سلامت غشاء سلولی گیاهان در معرض تنش است (۲۰). غشای سیتوپلاسمی سلول‌های گیاهان تحت تنش در مقایسه با گیاهان در شرایط معمولی از هدایت الکتریکی بالاتری برخوردار هستند، بالاتر بودن هدایت الکتریکی نشان دهنده پایین بودن پایداری غشا سیتوپلاسمی می‌باشد. در نتیجه در شرایط تنش غشا از پایداری کمتری برخوردار است و میزان نشت مواد درون سلولی در آن‌ها افزایش می‌یابد. در حالی‌که در گیاهان مقاوم به تنش این قضیه عکس می‌باشد. استقرار میکوریزا در توتون، غلظت نشت الکترولیت در بوته‌های توتون را کاهش می‌دهد. از این‌رو می‌تواند نشان دهد که، تجمع‌های میکوریزی در گیاهان به بهبود ساختار غشاء و ثبات آن تحت شرایط تنش کلر کمک می‌کند. داده‌هایی مشابه از این نوع مشاهده شدند زمانی که قارچ میکوریزا همزیست با گیاهان اقاقیا *Acacia arabica* و گوجه‌فرنگی *Lycopersicon esculentum* بود در شرایط شور نفوذپذیری غشاء کمتری نسبت به گیاهان بدون همزیستی با قارچ داشتند (۲۰، ۳۳).

جدول ٤- میانگین میزان عناصر معدنی، نیکوتین، قند و پرولین در برگ بوته‌های توتون همزیست با قارچ AM+ و بدون قارچ AM- در مواجه با غلظت‌های متفاوت کلر (۱۰، ٤۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کلر در لیتر آب، C1-C4) میانگین دوسال آزمایش.

Table 4. Mean of Mineral contents in leaf, No. of leaves, Nicotine, sugar and proline of mycorrhizal (AM+) and non-mycorrhizal (AM-) tobacco plants exposed to varying concentrations of chloride (C1: 10, C2: 40, C3:70 and C4:100 mg Cl L^{-1}; average of two growing seasons, 2012-2013).

	تیمار Treatment	منیزیم (درصد) Mg (%)	فسفر (درصد) P (%)	پتاسیم (درصد) K (%)	نیتروژن (درصد) N (%)	نیکوتین (درصد) Nicotine (%)	قند (درصد) sugar (%)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Proline (mg g dry wt^{-1})
AM+	C1	0.66 a	0.18 a	2.2 a	2.10 a	1.4 a	11.1 c	2.14 c
	C2	0.64 a	0.17 a	2.0 a	2.09 a	1.23 a	12.5 bc	3.76 b
	C3	0.60 b	0.16 ab	1.9 a	2.05 a	1.2 ab	13.3 b	4.89 b
	C4	0.59 b	0.14 b	1.8 b	2.01 a	1.15b	15.7 a	6.18 a
	LSD	0.03	0.02	0.2	ns	0.19	1.5	1.16
AM-	C1	0.60 a	0.12 a	1.6 a	2.00 a	1.09	8.1 b	1.73 b
	C2	0.54 b	0.10 ab	1.5 a	1.90 ab	1.03	10.2 a	2.80 ab
	C3	0.51 bc	0.09 bc	1.3 b	1.85 b	1.08	10.9 a	3.23 a
	C4	0.49 c	0.08 c	1.2 b	1.80 b	1.1	11.3 a	3.45 a
	LSD	0.04	0.02	0.2	0.17	ns	1.8	1.27
	ANOVA							
	کلر C	ns	ns	ns	ns	ns	*	*
	قارچ AM	*	*	*	*	*	*	*
	C × AM	*	*	*	*	*	*	*

اعداد با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD. ns غیر معنی‌دار * معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

Means with different letters are significantly different at P≤ 0.05 (LSD); ns non significant* P≤0.05 and ** P≤ 0.01.

جدول ۵- میانگین سرعت تبادل کربن، هدایت روزنه‌ای، سرعت تبخیر، محتوی نسبی آب، پایداری غشا، کلروفیل a و b و کارتنوییدها در برگ بوته‌های توتون همزیست با قارچ AM+ و بدون قارچ AM- در مواجه با غلظت‌های متفاوت کلر (۱۰، ۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کلر در لیتر آب، C1-C4) میانگین دوسال آزمایش.

Table 5. Mean of Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carbon exchange rate (CER), Stomatal conductance (g_s), Transpiration rate (E), Relative water content (RWC), Membrane stability index (MSI), Osmotic potential (Ψs) and Carotenoids in leaf of mycorrhizal (AM+) and non-mycorrhizal (AM-) tobacco plants exposed to varying concentrations of chloride (C1: 10, C2: 40, C3:70 and C4:100 mg Cl L^{-1}; average of two growing seasons, 2012-2013).

	تیمار Treatment	سرعت تبادل کربن (میکرومول در مترمربع در ثانیه) CER (µmol m^{-2} s^{-1})	هدایت روزنه‌ای (سانتی‌متر در ثانیه) g_s (cm s^{-1})	محتوی نسبی آب (درصد) RWC (%)	پایداری غشا (درصد) MSI (%)	سرعت تبخیر (میلی‌مول آب در مترمربع در ثانیه) E (mmol H_20 m^{-2} s^{-1})	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تازه) Chl a (mg g fresh wt^{-1})	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تازه) Chl b (mg g fresh wt^{-1})	کارتنوییدها (میلی‌گرم در گرم وزن تازه) Carotenoids (mg g fresh wt^{-1})	پتانسیل اسمزی (مگاپاسکال) Ψs (MPa)
AM+	C1	8.4 a	1.90 a	96.82 a	93.71 a	11.5 a	1.241 a	0.345 a	0.183 a	-1.33 a
	C2	7.9 a	1.81 a	89.74 a	88.25 a	10.7 ab	1.102 b	0.324ab	0.164 b	-1.45 a
	C3	6.4 b	1.76 ab	83.01 ab	73.17 b	10.0 b	0.987 b	0.304 b	0.140 c	-1.65 a
	C4	5.9 b	1.65 b	78.85 b	71.12 b	9.4 b	0.850 c	0.285 c	0.114 d	-1.85 a
	LSD	0.7	0.13	1.1	0.14	0.017	0.021	9.1	8.5	ns
AM-	C1	6.3 a	1.69 a	90.12 a	87.12 a	8.7 a	0.981a	0.286 a	0.135 a	-1.43 a
	C2	5.2 b	1.48 b	83.10 ab	68.58 b	8.07 ab	0.649 b	0.270 b	0.120 b	-2.5 b
	C3	4.8 b	1.37 b	74.85 b	57.12 c	7.28 bc	0.514 c	0.174 c	0.098 c	-2.63 b
	C4	4.1 b	1.2 c	69.5 b	49.32 c	6.3 c	0.451 c	0.104 d	0.045 d	-2.9 b
	LSD	1.1	0.16	1.3	0.22	0.013	0.023	8.3	15	1.1
	ANOVA									
	کلر C	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	قارچ AM	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	C × AM	**	*	*	*	*	*	*	*	*

اعداد با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD. * معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

Means with different letters are significantly different at P≤ 0.05 (LSD); * P≤0.05 and ** P≤ 0.01.

در بسیاری از گیاهان، نشان داده شده است که املاح مختلف از جمله پرولین در طول شوری تجمع می‌یابند. تجمع آن‌ها ممکن است برای تنظیم pH سیتوزولی و میزان NDA/NDAH، پروتئین‌های تثبیت کننده و پاک کننده‌های رادیکال‌های هیدروکسیل که از سلول در برابر اثر نامطلوب گونه‌های اکسیژن فعال ROS محافظت می‌کنند، دارای اهمیت باشد (۳۸).

پتانسیل اسمزی و محتوای نسبی آب: تحت تنش کلر، محتوای نسبی آب برگ و پتانسیل اسمزی بوته‌های توتون AM+ و AM- به‌طور قابل توجهی کاهش داد (جدول ۵). محتوای نسبی آب برگ به تدریج به‌صورت پیش رونده با افزایش غلظت کلر کاهش یافت، و به تبع آن، پتانسیل اسمزی همچنین به‌منظور حفظ مقدار پتانسیل آماس، که حتی با تغلیظ کلر افزایش یافته بود، کاهش یافت (جدول ۵). با این حال، بوته‌های توتون AM+ تحت تنش کلر، بدون در نظر گرفتن غلظت کلر در آب آبیاری محتوای نسبی آب برگ بالاتری را نگه می‌دارند که قابل قیاس با بوته‌های AM– در C1 بودند. تلقیح قارچ، پتانسیل اسمزی را افزایش و در نتیجه پتانسیل آماس برای توتون AM+ کاهش یافت.

جذب آب بهبود یافته به‌عنوان یک نتیجه از همزیست گیاه با قارچ میکوریزا احتمالاً به‌دلیل تأثیر مستقیم هیف قارچ بر مورفولوژی ریشه و وضعیت تغذیه بهبود یافته نیتروژن و فسفر است (۵۱). محتوای فسفر بوته‌های توتون میکوریزایی به طور ثابت بالاتر از گیاهان فاقد میکوریزا، بدون در نظر گرفتن شدت تنش کلر، بود. محققان اخیرا رابطه‌ای نزدیک بین میزان فسفر و تحمل به شوری را گزارش داده‌اند (٤٥).

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی: نتایج در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در جدول ٦ شرح داده شده است. تنش کلر باعث افزایش قابل توجهی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌های آنزیمی مورد مطالعه و این افزایش با افزایش غلظت کلر هماهنگ بود (جدول ٦). قارچ میکوریزا به تنهایی فعالیت‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردکتاز و آسکوربات پراکسیداز را کاهش می‌دهد (جدول ٦). اما در ترکیب با تیمار کلر، تلقیح قارچ میکوریزا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه را بیشتر افزایش داد.

افزایش غلظت کلر محتوای آسکوربات اسید را کاهش داد در حالی که گلوتاتیون احیا شده و گلوتاتیون اکسید شده افزایش یافتند. با این حال تلقیح قارچ میکوریزا باعث افزایش قابل توجهی در این صفات شد (جدول ٦). تلقیح قارچ میکوریزا در گیاهان تحت تنش کلر محتویات گلوتاتیون احیا شده و گلوتاتیون اکسید شده را افزایش داد (جدول ٦).

آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نقش مهمی در مهار ROS ایفا می‌کنند و از این از اثرات مخرب ناشی از تنش اکسیداتیو بر چند مولکول حساس مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها جلوگیری می‌کنند. در نتایج ما افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردکتاز و آسکوربات پراکسیداز به‌دلیل تنش کلر، هماهنگ با یافته‌های عبدالله و همکاران (۲۰۱۵) برای *Sesbania sesban* بودند (۲). SOD در مهار رادیکال‌های سوپر اکسید و تبدیل به آب و پراکسید هیدروژن نقش دارند (۳۸). پراکسید هیدروژن تولید شده، به آب و اکسیژن به وسیله کاتالاز و یا آسکوربات پراکسیداز، تبدیل می‌شود (۳۸). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا با یافته‌های عبدالله و همکاران (۲۰۱۵) برای *Sesbania*

sesban و لطیف و چائوینگ (۲۰۱۱) برای گوجه فرنگی مطابق می‌کند (۲، ۳۳). گلوتاتیون ردکتاز GR، آسکوربات پراکسیداز APX، گلوتاتیون احیایی (GSH)، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) و اسید اسکوربیک (ASA) اجزای مهم مسیر آسکوربات- گلوتاتیون هستند که به‌طور فعال در مهار ROS، نقش دارند (۳۸). چرخه آسکوربات- گلوتاتیون شامل یک سری از واکنش‌های اکسیداسیون و احیا است که در آن جریان شبکه‌ای الکترون از NADPH به پراکسید هیدروژن و تبدیل آن به آب می‌شود. افزایش فعالیت GR به افزایش تولید گلوتاتیون احیاشده کمک می‌کند. گلوتاتیون احیا شده از احیای گلوتاتیون اکسید شده که به‌عنوان دهنده الکترون در طی تبدیل دهیدرواسکوربات به ASA عمل می‌کند، به وجود آمده و ASA به‌عنوان یک دهنده الکترون در تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن عمل می‌کند (٤٣). کاهش محتوای ASA و افزایش GSH در مطالعه ما با یافته‌های عبدالله و همکاران (۲۰۱۵) برای *Sesbania sesban* هماهنگ بود (۲).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که همزیستی با قارچ میکوریزا آربوسکولار اثر تنش شوری در رشد گیاه توتون کاهش می‌دهد و مقدار کلسیم، منیزیم، فسفر و پتاسیم گیاه را افزایش می‌دهد. این در حالی است که غلظت کلر بخش هوایی کاهش می‌یابد. همچنین مشاهده شد که قارچ میکوریز خود نیز تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد و در سطوح شوری بالا میزان کلنیزاسیون میکوریزی گیاه کم می‌شود. این نتایج پتانسیل قارچ آربوسکولار میکوریزا در حفاظت از گیاهان میزبان در برابر شرایط نامطلوب محیطی تأیید می‌کند و راه برای استفاده از همزیستی با قارچ میکوریزا در کشاورزی پایدار در اقلیم مدیترانه‌ای هموار می‌کند. با این حال به‌دلیل، تنوع پاسخ گیاه به تیمار قارچ، مطالعات چند ساله دیگری در طیف وسیع‌تری از ارقام توتون نیاز می‌باشد. نتیجه دیگری که از این مطالعه در حال پدید آمدن است، که تحت شرایط آب و هوایی شمال ایران، سطح کلر قابل قبول در آب آبیاری برای توتون ویرجینیا، زیر ۲۵ میلی‌گرم در لیتر است، در حالی که در زمان همزیستی توتون با قارچ میکوریزا این سطح تا ٤٠ میلی‌گرم در لیتر قابل افزایش است و می‌تواند به‌عنوان حد بالاتر آستانه در نظر گرفته شود.

جدول ٦- میانگین کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربیک اسید، گلوتاتیون احیا شده، گلوتاتیون اکسیدشده و گلوتاتیون ردکتاز در بوته‌های توتون همزیست با قارچ AM+ و بدون قارچ AM- در مواجه با غلظت‌های متفاوت کلر (۱۰، ٤٠، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کلر در لیتر آب، C1-C4) میانگین دوسال آزمایش.

Table 6. Mean of Catalase (CAT), Ascorbate peroxidase (APX), Superoxide dismutase (SOD) Ascorbic acid (ASA), Reduced glutathione (GSH), Oxidized glutathione (GSSG) and Glutathione reductase (GR) in leaf of mycorrhizal (AM+) and non-mycorrhizal (AM-) tobacco plants exposed to varying concentrations of chloride (C1: 10, C2: 40, C3:70 and C4:100 mg Cl L^{-1}; average of two growing seasons, 2012-2013).

	تیمار Treatment	سوپر اکسید دیسموتاز SOD (EU mg^{-1} protein)	کاتالاز CAT (EU mg^{-1} protein)	آسکوربات پراکسیداز APX (EU mg^{-1} protein)	گلوتاتیون ردکتاز GR (EU mg^{-1} protein)	آسکوربات اسید ASA (n Molg fresh wt^{-1})	گلوتاتیون احیا شده GSH (n Mol g fresh wt^{-1})	گلوتاتیون اکسید شده GSSG (n Mol g fresh wt^{-1})
AM+	C1	115 c	125 d	4.5 c	8.1 c	5.5 a	97.2 c	25.7 c
	C2	136 b	147 c	6.7 b	9.1 c	4.7 b	153.1 b	55.2 b
	C3	140 ab	175 b	8.1 a	13.1 b	4.3 b	174.5 ab	64.2 b
	C4	149 a	195 a	8.9 a	14.2 a	4.1 b	201.7 a	87.5 a
	LSD	10	15	1.2	1.1	0.7	37.1	21.2
AM-	C1	95 c	101 c	4.1 c	7.1 c	4.8 a	87.7 c	28.2 d
	C2	120 b	133 b	6.2 b	8.8 b	3.1 b	145.9 b	44.8 c
	C3	133 a	154 a	7.1 ab	10.1 a	2.8 b	165.1 ab	59.4 b
	C4	141 a	160 a	7.7 a	11.2 a	2.7 b	179.6 a	78.5 a
	LSD	11	17	1.4	1.5	0.9	38.3	25.1
	ANOVA							
	کلر C	*	*	*	*	*	*	*
	قارچ AM	*	*	*	*	*	*	*
	C×AM	**	**	**	**	*	*	*

اعداد با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD. * معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

Means with different letters are significantly different at P≤ 0.05 (LSD); * P≤0.05 and ** P≤ 0.01.

منابع

1. Abdel Latef, A.A.H., and Chaoxing, H. 2011. Arbuscular mycorrhizal influence on growth, photosynthetic pigments, osmotic adjustment and oxidative stress in tomato plants subjected to low temperature stress. Acta Physiol. Plant. 33: 1217–1225.
2. Abd_Allah, E.F., Hashem, A., Alqarawi, A.A., Bahkali, A.H., and Alwhibi, M.S. 2015. Enhancing growth performance and systemic acquired resistance of medicinal plant *Sesbania sesban* (L.) Merr using arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. Saudi J. Biological Sci., 22: 274–283.
3. Abeer, H., Abd_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., and Egamberdieva, D. 2015. Induction of salt stress tolerance in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] by arbuscular mycorrhizal fungi. Legume Res. 38: 5, 579- 588.
4. AOAC. 1997. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th ed. Arlington, VA: AOAC.
5. Anderson, M.E. 1985. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. Methods Enzymol. 113: 548–555.
6. Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., Zamarre˜no, A.M., Paza, J.A., Garcia-Mina, J.M., Pozoa, M.J., and Lopez-Raez, J.A. 2013. Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants. J. Plant Physiol. 170: 47–55.
7. Asrar, A., and Elhindi, K.M. 2011. Alleviation of drought stress of marigold (Tagetes ereca) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. Saudi J. Biol. Sci. 18: 93-98.
8. Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
9. Bilgili, U., Çarpici, E.B., Asik, B.B., and Çelik, N. 2011. Root and shoot response of common vetch (*Vicia sativa* L.), forage pea (*Pisum sativum* L.) and canola (*Brassica napus* L.) to salt stress during early seedling growth stages. Turkish J. Field Crops. 16: 1, 33-38.
10. Boyer, J.S. 1995. Why measure water status? In: Measuring the Water Status of Plants and Soils, Academic Press, London, Pp: 1–12.
11. Bremmer, J.M., and Mulvaney, C.S. 1982. Nitrogen-total. In *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, 2nd ed., eds. A.L. Page, R.H. Miller, and D.R. Keeney, 595–624. Madison, WI: American Society of Agronomy.
12. Cantrell IC and Linderman R.G., 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. Plant Soil. 233: 269–281.
13. Carlberg, I., and Mannervik, B. 1985. Glutathione reductase. Methods Enzymol. 113: 484–490.
14. Colella, T., Candido, V., Campanelli, G., Camele, I., and Battaglia, D. 2014. Effect of irrigation regimes and artificial mycorrhization on insect pest infestations and yield in tomato crop. Phytoparasitica. 42: 235–246.
15. Collins, W.K., and Hawks Jr, S.N. 1993. *Principles of flue-cured tobacco production*. Raleigh, NC: North Carolina State University.
16. CORESTA, 1994a. *CORESTA recommended method No 35. Determination of total alkaloids (as nicotine) in tobacco by continuous flow analysis*. http://www.coresta.org/Recommended Methods/CRM 35.pdf.
17. CORESTA, 1994b. *CORESTA recommended method No 38. Determination of reducing carbohydrates in tobacco by continuous flow analysis*. http://www.coresta.org/Recommended Methods/CRM 38.pdf.
18. Cosme, M., and Wurst, S. 2013. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobacteria, soil phosphorus and plant cytokinin deficiency change the root morphology, yield and quality of tobacco. Soil Biol. Biochem. 57: 436-443.

19. Daei, G., Ardekani, M., Rejali, F., Teimuri, S., and Miransari, M. 2009. Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. J. Plant Physiol. 166: 217–225.
20. Datta, P., and Kulkarni, M. 2014. Arbuscular mycorrhizal colonization improves growth and biochemical profile in *Acacia arabica* under salt stress. J. BioSci. Biotech. 3: 235-245.
21. Dionisio-Sese, M.L., and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. Plant Sci. 135: 1-9.
22. Enteshari, S.H., and Hajbagheri, S. 2011. Effect of mycorrhizal fungi on photosynthetic pigments, root colonization and morphological characteristic of salt stressed Ocimum basilicum L. Iran. J. Plant Physiol. 1(4): 215-222.
23. Fritz, C., Palacios-Rojas, N., Feil, R., and Stitt, M. 2006. Regulation of secondary metabolism by the carbonenitrogen status in tobacco: nitrate inhibits large sectors of phenylpropanoid metabolism. Plant J. 46: 533-548.
24. Gerdemann, J.W. 1975. Vesicular arbuscular mycorrhizal. In: Torrey DG, Clarkson DTC, editors. The Development and Function of Roots. London: Academic Press. Pp: 575–591.
25. Giovannetti, M., and Mosse, B. 1980. Estimating the percentage of root length colonized (Gridline-Intersect Method). New Phytol. 84: 489–500.
26. Giri, B., and Mukerji, K.G. 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field condition: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. Mycorrhiza. 14: 307-312.
27. Hedari Sharif Abadi, H. 2001. Plant aridy and drought. Research Institute of Forests and Rangelands, Pp: 1-199.
28. Heikham, E., Kapoor, R., and Giri, B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. Ann. Bot-London. 104: 1263–1280.
29. Karaivazoglou, N.A., Papakosta, D.K., and Divanidis, S. 2006. Effect of Chloride in Irrigation Water on Oriental (Sun-Cured) Tobacco. J. Plant Nut. 29: 1413–1431.
30. Karaivazoglou, N.A., Papakosta, D.K., and Divanidis, S. 2005. Effect of chloride in irrigation water and form of nitrogen fertilizer on Virginia (flue-cured) tobacco. Field Crops Res. 92: 61–74.
31. Kumar, A., Sharma, S., Mishra, S., and Dames, J.F. 2015. Arbuscular mycorrhizal inoculation improves growth and antioxidative response of *Jatropha curcas* (L.) under Na_2SO_4 salt stress. Plant Biosyst. 149: 2, 260–269.
32. Kumar, A., Sharma, S., and Mishra, S. 2010. Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. J. Plant Growth Regul. 29: 297–306.
33. Latef, A.A.H.A., and Chaoxing, H. 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.
34. Law, M.Y., Charles, S.A., and Halliwell, B. 1983. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts: the effect of hydrogen peroxide and of Paraquat. Biochem. J. 210: 899–903.
35. Luck, H. 1974. Catalases. In: Bregmeyer, H.U. (Ed.), Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, New York, USA.
36. Martinez-Ballesta, M.C., Martinez, V., and Carvajal, M. 2004. Osmotic adjustment, water relations and gas exchange in pepper plants grown under NaCl or KCl. Environ. Exp. Bot. 52: 161–174.
37. Miransari, M. 2010. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. Plant Biol. 12: 563–569.
38. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405–410.
39. Moran, R. 1982. Formula for determination of chlorophyllous pigments extracted with N.N. dimethylformamide. Plant Physiol. 69: 1371-1381.

40. Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867–880.
41. Netondo, G.F., Onyango, J.C., and Beck, E. 2004. Crop physiology and metabolism. Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relation and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Soc. Am. 44: 797-805.
42. Olsen, S.R., and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus. In *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, 2nd ed., eds. A.L. Page, R.H. Miller, and D.R. Keeney, 403–430. Madison, WI: American Society of Agronomy.
43. Philips, J., and Hayman, D.S. 1970. Improved procedure for cleaning roots andstaining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans Br MycolSoc. 55: 158–161.
44. Porcel, R., Barea, J.M., and Ruiz-Lozano, J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. J. Exp. Bot. 55: 1743-1750.
45. Selvakumar, G., Kim, K., Hu, S., and Sa, T. 2014. Effect of Salinity on Plants and the Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Alleviation of Salt Stress. In: Ahmad P, Wani M.R, (eds). Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment, vol. 1. Springer New York Heidelberg Dordrecht London. Pp: 116-137.
46. Schu¨ßler, A., and Walker, C., 2010. The Glomeromycota: a species list with new families and genera. Edinburgh and Kew, UK: The Royal Botanic Garden; Munich, Germany: Botanische Staatssammlung Munich; Oregon, USA: Oregon State University. URL: http://www.amf-phylogeny.com. ISBN-13: 978- 1466388048; ISBN-10: 1466388048.
47. Sifola, M.I., and Postiglione, L. 2002. The effect of increasing NaCl in irrigation water on growth, gas exchange and yield of tobacco Burley type. Field Crops Res. 74: 81–91.
48. Smith, S.E., and Read, D.J. 1997. Mycorrhizal symbiose Second edition. Academic Press, London, U.K.
49. Turner, N.C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. Plant Soil. 58: 339–366.
50. Van Rossum, M.W.P.C., Alberda, M., and van der Plas, L.H.W. 1997. Role of oxidative damage in tulip bulb scale micropropagation. Plant Sci. 130: 207–216.
51. Wu, Q.S., Zou, Y.N., and Abd_Allah, E.F. 2014. Mycorrhizal Association and ROS in Plants. *In*: P. Ahmad (Ed): Oxidative Damage to Plants. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00015-0©2014 Elsevier Inc. All rights reserved. Pp: 453- 475.
52. Zhu, X.C., Song, F.B., Liu, S.Q., and Liu, T.D. 2011. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on photosynthesis and water status of maize under high temperature stress. Plant Soil. 346: 189–199.