Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 15, No 46, Summer 2023 p: 133-144

"Research Paper"

Improving the Physiological, Biochemical and Caffeic acid Levels of Cymbopogon citratus Under Salt Stress by Inoculating with Arbuscular

Faezeh Soleimani[1], Davood Samsampour[2] and Abdoolnabi Bagheri[3]

1- MSc of Horticulture Sciences Department, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2- Associate Professor of Horticulture Sciences Department, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. (Corresponding author: Samsampoor@hormozgan.ac.ir)

3- Assistant Professor of Plant Protection Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

Received: 28 November, 2022 Accepted: 8 January, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Arbuscular mycorrhizal fungi can improve salinity tolerance and plant productivity in saline-alkaline soils using different strategies including nutrient uptake, osmotic regulation, soil shaping, etc. Therefore, the use of arbuscular mycorrhizal fungi has been considered to reduce the effects of salinity. This study aimed to investigate the effect of arbuscular mycorrhizal fungus on the physiological, biochemical and caffeic acid levels of lemongrass (Cymbopogon citratus) under salt stress.

Material and Methods: The experiment was conducted as a factorial in the form of a completely randomized design in three replications. The experimental treatments included the first factor of arbuscular mycorrhizal fungi (inoculation and non-inoculation) and the second factor of salinity treatment at four levels (0, 50, 100 and 150 mM). The characteristics of photosynthetic pigments, ion leakage, proline, soluble carbohydrates, flavonoid, anthocyanin, protein, ascorbate peroxidase, the amount of sodium and potassium ions and changes in caffeic acid content of lemon grass were investigated.

Results: Plant inoculation with arbuscular fungus at salinity levels (150 mM) reduced ion leakage by 34.14% compared to the control. Plant inoculation with arbuscular fungus improved chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids by 118.51, 82.35, 50.70 and 98.64 percent, respectively, compared to its absence at salinity levels (150 mM). The results show that lemongrass plants against salt stress (150 mM) maintain the state of proline, carbohydrate, flavonoid, anthocyanin, protein and ascorbate peroxidase enzyme activity in inoculation with arbuscular fungus at the rate of 20.48, 94.94, 27%, respectively. It increases by 27, 30 and 17.39% compared to the control (without inoculation). Also, the results showed that under the salinity stress of 150 mM and the presence of arbuscular fungus, the amount of potassium increased by 15.39% compared to the control; While the amount of sodium in the presence of this mushroom decreased by 8.46% compared to the control. Investigations showed that the percentage of caffeic acid in lemon grass inoculated with arbuscular mycorrhiza increased by 0.686% compared to control plants.

Conclusion: This study suggests the potential use of mycorrhizal technology as a practical biotechnological approach to increase the growth and increase production of bioactive compounds of Cymbopogon citratus in salt-affected soils.

Keywords: Carbohydrates, Enzyme, Flavonoids, Proline

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

"مقاله پژوهشی"

بهبود صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و میزان کافئیک اسید گیاه علف لیمو (*Cymbopogon*) *citratus* تحت تنش شوری با تلقیح میکوریزای آربوسکولار

فائزه سلیمانی[۱]، داود صمصام‌پور[۲] و عبدالنبی باقری[۳]

۱- کارشناس‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران، (نویسنده مسوول: Samsampoor@hormozgan.ac.ir)
۳- استادیار گروه تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان آموزش و ترویج تحقیقات کشاورزی (AREEO)، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸
صفحه: ۱۳۳ تا ۱۴۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار می‌توانند تحمل به شوری و بهره‌وری گیاهان را در خاک‌های شور- قلیایی با استفاده از استراتژی‌های مختلف از جمله جذب عناصر غذایی، تنظیم اسمزی، شکل‌دهی خاک و غیره بهبود بخشند. بنابراین، استفاده از قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار برای کاهش اثرات شوری مورد توجه واقع شده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر قارچ میکوریزای آربوسکولار بر صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و میزان کافئیک اسید گیاه علف لیمو (*Cymbopogon citratus*) تحت تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل عامل اول قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (تلقیح و عدم تلقیح قارچ) و عامل دوم تیمار شوری در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بود. صفات رنگیزه‌های فتوسنتزی، نشت یونی، پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فلاونوئید، آنتوسیانین، پروتئین، آسکوربات پراکسیداز، میزان یون‌های سدیم و پتاسیم و تغییرات محتوای کافئیک اسید علف لیمو مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: تلقیح گیاه با قارچ آربوسکولار در سطوح شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) میزان نشت یونی را به میزان ۳۴/۱۴ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. تلقیح گیاه با قارچ آربوسکولار باعث بهبود کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در مقایسه با عدم حضور آن در سطوح شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) به‌ترتیب به‌میزان ۱۱۸/۵۱، ۸۲/۳۵، ۵۰/۷۰ و ۹۸/۶۴ درصد شد. نتایج نشان داد که گیاهان علف لیمو در برابر تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) برای حفظ وضعیت خود میزان پرولین، کربوهیدرات، فلاونوئید، آنتوسیانین، پروتئین و آسکوربات پراکسیداز در تلقیح با قارچ آربوسکولار به‌ترتیب به‌میزان ۲۰/۴۸، ۹۴/۹۴، ۲۷/۲۷، ۳۰ و ۱۷/۳۹ درصد نسبت به شاهد (بدون تلقیح) افزایش داد. همچنین نتایج نشان داد که تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و حضور قارچ آربوسکولار میزان پتاسیم ۱۵/۳۹ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت؛ در حالی‌که میزان سدیم در حضور این قارچ نسبت به شاهد ۸/۴۶ درصد کاهش یافت. بررسی‌ها نشان داد که درصد اسید کافئیک در علف لیموی تلقیح شده با میکوریزای آربوسکولار نسبت به گیاهان شاهد ۰/۶۸۶ درصد افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری: این مطالعه استفاده بالقوه از فناوری میکوریزا را به‌عنوان یک رویکرد بیوتکنولوژیک عملی برای افزایش رشد و افزایش تولید ترکیبات فعال زیستی Cymbopogon citratus در خاک‌های متاثر از نمک پیشنهاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پرولین، فلاونوئیدها، کربوهیدرات‌ها

مقدمه

شوری یک عامل غیرزیستی است که تأثیر قابل توجهی بر رشد و عملکرد گیاه دارد (۲۷). افزایش مداوم شوری در مزارع کشاورزی به‌دلیل روش‌های ضعیف کشت و تغییرات آب و هوایی اثرات مخرب جهانی دارد و تخمین زده می‌شود که حدود ۵۰ درصد از زمین‌های قابل کشت تا اواسط قرن بیست و یکم از بین برود (۳). تا به امروز، حدود ۱/۱۲۵ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی تحت تأثیر شوری قرار گرفته است و این یک تهدید جدی برای کشاورزی است (۳ ، ۳۲). سطوح بالای شوری می‌تواند منجر به کاهش رشد گیاه، کاهش جذب مواد غذایی و حتی از بین رفتن گیاه شود (۲۲). برای مقابله با شوری خاک و کاهش تلفات گیاه از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. یکی از این رویکردها استفاده از قارچ میکوریزا آربوسکولار به‌عنوان گیاه پالایی در گیاهان در خاک‌های شور است (۱۷). قارچ‌ها بخشی از میکروفلور ریزوسفر هستند و تقریباً ۷۰ تا ۹۰ درصد گونه‌های گیاهی در اکوسیستم‌های زمینی را اشغال می‌کنند (۲۴). وجود قارچ‌های میکوریزا و همزیستی آن‌ها با ریشه‌های بسیاری از گیاهان در خاک‌های شور نشان می‌دهد که برخی از این قارچ‌ها احتمالاً در برابر تنش شوری مقاوم بوده و با بهبود رشد گیاه، تحمل گیاهان را نسبت به شوری افزایش دهند (۶۳). قارچ‌های میکوریزا با شبکه هیف گسترده و افزایش سطح و سرعت جذب ریشه، کارایی گیاهان را در جذب آب و عناصر غذایی به ویژه عناصر کم تحرک مانند فسفر، روی و مس افزایش می‌دهند و رشد گیاه را بهبود می‌بخشند (۴۵). در تحقیقی نشان داده شد که بیشترین میزان اسانس گیاه Satureja hortensis در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر و تلقیح با قارچ ریزوفاگوس اینترارادیسز به‌دست آمد (۳۵) همچنین در پژوهشی دو گونه قارچ میکوریزا *Claroideoglomus etunicatum* و *Funneliformis mosseae* در رفع اثرات سمّیت سرب مؤثر بودند و قارچ *F. mosseae* از عملکرد بهتری به‌ویژه در مورد صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس برخوردار بود (۵۱).

گیاهان دارویی همیشه نقش مهمی در زندگی روزمره مردم داشته‌اند (۱۹) و به‌طور سنتی برای موارد متعددی از درمان‌های گیاهی استفاده می‌شوند (۵). علف لیمو گیاهی چند

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

ساله است که به‌طور گسترده در سراسر جهان به ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری رشد می‌کند (۵۰). این مطالعه با هدف بررسی اثر قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار بر صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و میزان کافئیک اسید گیاه علف لیمو (*Cymbopogon citratus*) در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

عملیات آماده‌سازی بستر کشت

این آزمایش در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۴۰۱ در گلخانه کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان انجام شد. اولین مرحله در کشت این گیاه، استریل کردن خاک بود. از آنجایی‌که خاک ممکن است حاوی اسپور قارچ، مراحل مختلف بیولوژیک آفات و بذر علف‌های هرز باشد، باید قبل از استفاده ضدعفونی شوند تا بستری عاری از آلودگی برای گیاه فراهم شود تا اثرگذاری تیمارهای آزمایشی به‌خوبی مشخص شود. در ضمن قبل از کاشت علف لیمو، خاک گلدان سه بار در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد.

روش اندازه‌گیری نیاز آبی

مقدار آب مورد نیاز برای آبیاری با آب شور بر اساس اختلاف بین وزن خاک گلدان و وزن مرجع در ۷۰ درصد رطوبت خاک قابل استفاده تعیین شد. برای تعیین میزان آب مورد نیاز برای آبیاری، ابتدا گلدان‌ها وزن شده و سپس از طریق اختلاف وزن اندازه‌گیری شده و وزن گلدان در ظرفیت مزرعه و با در نظر گرفتن تیمارها، مقدار آب (نیاز آبی) مورد نیاز برای آزمایش به‌دست آمد (۵۴). دور آبیاری برای همه گیاهان یک بار در روز بود.

تلقیح گیاه با قارچ آربوسکولار

برای اعمال این تیمار به ازای وزن خاک هر گلدان (۲/۵ کیلوگرم)، ۱۲۵ گرم قارچ آربوسکولار با خاک گلدان مخلوط شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. دو فاکتور شامل فاکتور تنش شوری در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و تیمار قارچ آربوسکولار در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) بود. پس از گذشت سه ماه از رشد گیاه برای اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و میزان کافئیک اسید برداشت شد.

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

رنگیزه‌های فتوسنتزی

در پایان آزمایش برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید کل، ابتدا ۰/۲۵ گرم برگ تازه خرد و در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد. مخلوط حاصل در لوله‌های فالکون ۲۰ سی‌سی ریخته و به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب نور محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر UV1100 در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۸۰ نانومتر خوانده شد (۴).

نشت یونی

برای تعیین درصد نشت الکترولیت، نیم گرم از برگ‌ها با آب مقطر شسته و در لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. لوله‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر در محیط تاریک قرار گرفتند و رسانایی الکتریکی اولیه (EC_1) با استفاده از دستگاه EC اندازه‌گیری شد (۵۹). سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر قرار داده شدند. پس از سرد شدن در دمای اتاق، حداکثر هدایت الکتریکی (EC_2) خوانش و درصد نشت الکترولیت با استفاده از رابطه (۱) به روش سایرام و همکاران (۵۳) محاسبه شد.

$$EL = (EC_1/EC_2)\times 100$$ (رابطه ۱)

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی

پرولین

پرولین در نمونه‌های برگ برداشت شده توسط روش بیتیس و همکاران (۶) اندازه‌گیری شد. نیم گرم از بافت برگ با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد با ۲ میلی‌لیتر استیک اسید و ۲ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین در آب گرم ترکیب شد. سپس نمونه‌ها به آب و یخ منتقل شدند تا خنک شوند. در این مرحله به هر یک از لوله‌های آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و پس از تکان دادن شدید آن‌ها، میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر ثبت شد.

کربوهیدرات‌های محلول

ابتدا نمونه‌های برگ به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و برای اندازه گیری کل قندهای محلول از ۱۰۰ میلی‌گرم (۰/۱ گرم) برگ خشک استفاده شد. به برگ‌های وزن شده ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به‌مدت یک هفته در یخچال (۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. پس از یک هفته، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی گرفته شد و حجم آن با آب مقطر به ۲ میلی‌لیتر کاهش یافت. سپس ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد به آن اضافه شد و پس از به هم زدن، ۵ میلی‌لیتر سولفوریک‌اسید غلیظ به آن اضافه شد. محلول زرد رنگی به‌دست آمد که با گذشت زمان تغییر رنگ داد و به قهوه‌ای روشن متمایل شد. پس از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر، میزان جذب تعیین شد (۳۹).

فلاونوئید و آنتوسیانین

میزان کل فلاونوئیدها با روش تور و ساواج (۵۶) اندازه‌گیری شدند. ۰/۱ گرم از نمونه‌های گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول استخراج شد. با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس به محلول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر $NaNO_2$ ۵ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۰/۶میلی‌لیتر $AlCl_3$ ۱۰ درصد اضافه شد، در نهایت ۲ میلی‌لیتر NaOHیک مولار و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به‌دست آمد.

۰/۱ گرم بافت تازه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملا سائیده و عصاره در لوله آزمایش سرپیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول روئی در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانش شد (۴۱).

اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم

از عصاره گیاه برای اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم استفاده شد. برای این منظور ۰/۵ گرم از بافت خشک گیاه (برگ) به‌مدت ۲۴ ساعت در ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ قرار داده شد تا نمونه گیاه به خوبی در اسید حل شود. پس از این مدت، محصول گرم شد تا بخارات اسیدی از محلول خارج شود. سپس محلول با آب مقطر به حجم ۳۰ میلی‌لیتر رسانده و با کاغذ صافی صاف شد. محلول به‌دست آمده برای اندازه‌گیری توسط دستگاه جذب اتمی استفاده شد (۲۱).

پروتئین و آسکوربات پراکسیداز

جهت اندازه‌گیری پروتئین از الگوی برادفورد (۹) استفاده شد. برای تعیین مقدار پروتئین در عصاره‌های برگ ۲۵۰ میکرولیتر محلول ۱ مولار NaOH، ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد و ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات اضافه شد. بعد از آن ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها به هر لوله اضافه شد. محتویات درون هر لوله توسط ورتکس به خوبی مخلوط و پس از ۲ دقیقه جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد.

روش ناکانو و آسادا (۴۷) برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از اسپکتروفتومتری براساس کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر تعیین شد.

اندازه‌گیری کافئیک اسید

بررسی تغییرات محتوای کافئیک اسید علف لیمو در حضور قارچ‌های آربوسکولار پس از تلقیح قارچ آربوسکولار به گیاه علف لیمو تحت سطوح مختلف تنش شوری (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و پس از سه ماه از برگ‌ها برای اندازه‌گیری میزان کافئیک اسید نمونه‌برداری شد.

تهیه معرف‌ها، استوک‌ها و محلول‌ها

معرف‌ها، استوک‌ها و محلول‌های زیر تهیه شد.

۱- محلول استوک سیترال (۸/۸۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر): یک میلی‌لیتر سیترال، ۹۵ درصد مخلوط سیس و ترانس، در یک فلاسک حجمی ۱۰ میلی‌لیتری پیپت شد و سپس با متانول رقیق شد.

۲- محلول کار سیترال (۸/۸۸ میلی گرم بر میلی‌لیتر): ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استوک سیترال در یک فلاسک حجمی ۱۰ میلی‌لیتری پیپت شد و با متانول رقیق شد.

۳- فاز متحرک: ۹۰۰ میلی‌لیتر متانول و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به خوبی مخلوط شدند. سپس ۲/۵ گرم یک-اکتان سولفونیک اسید به اندازه ۰/۲۵ درصد فاز متحرک اضافه شد. فاز متحرک قبل از استفاده با عبور هلیوم از آن به مدت ۱۵ دقیقه گندزدایی شد.

تهیه محلول‌های استاندارد سیترال

روش زیر برای نمونه استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. منحنی کالیبراسیون در فلاسک‌های حجمی ۱۰ میلی‌لیتری، مجزا، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر محلول کار سیترال پیپت شد و سپس با متانول رقیق شد. محلول‌های استاندارد به‌ترتیب ۰/۸۹، ۴/۴۴، ۸/۸۸ و ۳۵/۵۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تولید شد.

ابتدا برگ گیاه علف لیمو به قطعات بسیار کوچک برش داده شد. سپس از هر نمونه حدود ۵ گرم وزن شد. سپس با دقت ۵ میلی‌لیتر متانول به هر نمونه اضافه شد و نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت خیس شد. محلول توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ فیلتر شد. در نهایت یک میلی‌لیتر متانول از هر محلول با ۱۰ میلی‌لیتر نمونه پیپت شد.

شرایط HPLC

همه جداسازی‌های HPLC با شست و شوی ایزوکراتیک با سرعت جریان ۰/۱ میلی‌لیتر در دقیقه با فشار متوسط بین ۱۴۰۰ تا ۱۶۰۰ psi بسته به اجزای فاز متحرک انجام شد. فاز شامل سه جزء سورفاکتانت، آب دیونیزه و متانول بود. ترکیب حلال که در نهایت انتخاب شد نسبت ۱۰ به ۹۰ متانول با آب دیونیزه در pH= ۵/۵یا ۰/۲۵ درصد اسید یک- اکتان سولفونیک بود. آشکارساز UV در طول موج ۲۳۳ نانومتر تنظیم شد. تمام حلال‌های فاز متحرک مورد استفاده در این پژوهش با عبور هلیوم از آن‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه قبل از استفاده برای از بین بردن حباب‌های هوا در سیستم HPLC گازگیری شدند (۴۳).

آنالیز داده‌ها

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و میانگین مقادیر با آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شد ($P < 0/05$).

داده‌های بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. رگرسیون خطی نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. آزمایش‌ها با سه تکرار انجام و نمونه به سیستم HPLC تزریق شد. مناطق اوج سه تزریق به‌طور متوسط و انحراف نسبی محاسبه شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای گیاه علف لیمو در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (۰/۹۱، ۰/۴۶، ۱/۴۷ و ۰/۲۴۷ میلی‌گرم در گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد آربوسکولار و کمترین آن به‌ترتیب (۰/۲۷، ۰/۱۷، ۰/۷۱ و ۰/۰۷۴ میلی‌گرم بر گرم در گرم وزن تر) در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار در مقایسه با شاهد مشاهده شد. همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شرایط تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، کلروفیل a و کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای گیاه تلقیح شده با قارچ آربوسکولار به‌ترتیب به‌میزان ۱۱۸/۵۱، ۸۲/۳۵، ۵۰/۸۶ و ۵۰/۷۰ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت (جدول ۲).

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر صفات فیزیولوژیک گیاه علف لیمو
Table 1. Variance analysis of the mutual effect of mushroom inoculation and salinity levels on the physiological traits of lemon grass

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Average of squares				
		کلروفیل a Chla	کلروفیل b Chlb	کلروفیل کل ChlT	کاروتنوئید Carotenoid	نشت یونی Ion leakage
شوری Salinity	3	0.280**	0.041**	0.25**	0.014**	2352.24**
قارچ Fungal	2	0.199**	0.080**	0.59**	0.014**	1626.12**
قارچ × شوری Salinity × Fungal	6	0.072**	0.008**	0.118**	0.010**	196.04**
خطا Error	24	0.0009	0.00019	0.0006	0.00004	4.74
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation (%)	–	4.32	3.94	2.32	3.99	1.68

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.
ns, ** and * are not significant, significant at the probability level of 1 and 5%, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر صفات فیزیولوژیک گیاه علف لیمو
Table 2. Comparison of the average interaction effect of mushroom inoculation and salinity levels on physiological traits of the lemongrass plant

قارچ Fungal	تنش شوری (میلی‌مولار) Salt stress (mM)	کلروفیل a Chla	کلروفیل b Chlb	کلروفیل کل ChlT	کاروتنوئید Carotenoids	نشت یونی Ion Leakage
		میلی‌گرم در گرم وزن تازه (mg/g^{-1} FW)				(%)
شاهد Control	0	0.73±0.008 c	0.37±0. 000 c	1.21±0. 004 c	0.165±0. 001 c	102.82±0. 38 f
	50	0.56±0.004 e	0.29±0. 009 d	1.00±0. 006 e	0.139±0. 001 de	130.58±0. 52 c
	100	0.51±0.001 f	0.24±0. 000 e	0.77±0. 003 f	0.131±0. 001 e	148.0±0. 40 b
	150	0.27±0.011 g	0.17±0. 003 f	0.71±0. 004 g	0.074±0. 010 f	175.83±0. 57 a
آربوسکولار Arbuscular	0	0.91±0. 011 a	0.46±0. 013 a	1.47±0. 014 a	0.247±0. 000 a	104.19±0. 11 f
	50	0.81±0. 003 b	0.44±0. 033 ab	1.28±0. 002 b	0.228±0. 000 b	119.67±0. 45 d
	100	0.75±0. 011 c	0.42±0. 035 b	1.23±0. 019 c	0.215±0. 002 b	129.55±0. 40 c
	150	0.59±0. 012 d	0.31±0. 020 d	1.07±0. 009 d	0.147±0. 002 d	115.80±0. 50 e

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند
Averages with the same letters do not have a significant difference at the five percent probability level

نشت یونی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر نشت یونی گیاه علف لیمو در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). کاهش میزان نشت یونی در تیمار قارچ آربوسکولار در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌میزان ۳۴/۱۴ درصد نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

پرولین و کربوهیدرات‌های محلول

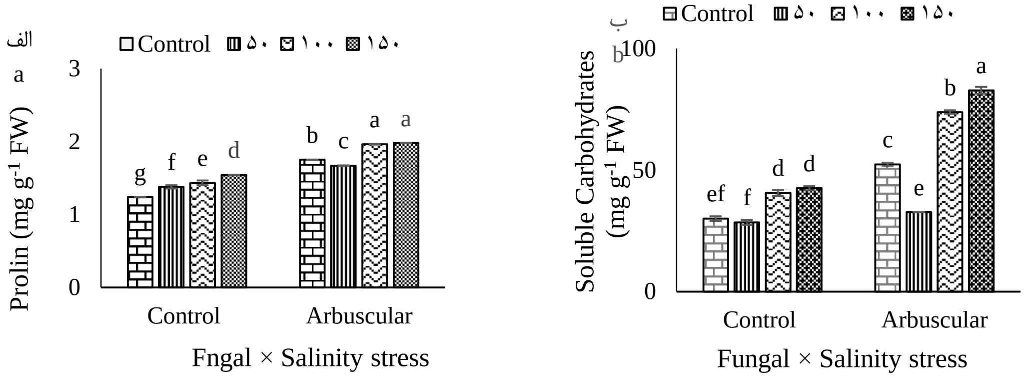
بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول گیاه علف لیمو در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین پرولین (شکل ۱ الف) و کربوهیدرات (شکل ۱ ب) (۱/۹۷ و ۸۲/۷۶ میلی‌گرم در گرم بر گرم وزن تر) در تیمار قارچ آربوسکولار و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کمترین آن به‌میزان (۱/۲۳ و ۲۸/۴۰ میلی‌گرم در گرم بر گرم وزن تر) در شاهد مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که حضور قارچ آربوسکولار در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌ترتیب به‌میزان ۲۷/۹۲ و ۹۴/۹۱ درصد در مقایسه با عدم حضور آن میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول را افزایش داد (شکل ۱).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر صفات بیوشیمیایی گیاه علف لیمو
Table 3. Variance analysis of the mutual effect of mushroom inoculation and salinity levels on the biochemical traits of lemon grass

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Average of squares							
		پرولین Proline	کربوهیدارت Carbohydrates	فلاونوئید Flavonoid	آنتوسیانین Anthocyanin	پتاسیم Potassium	سدیم Sodium	پروتئین Protein	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
شوری Salinity	3	0.43**	1716.97**	3.96**	5.65**	257.70**	181.18**	0.117**	0.53**
قارچ Fungal	2	0.28**	2267.17**	2.39**	7.41**	462.80**	941.60**	0.528**	0.24**
قارچ × شوری Salinity ×Fungal	4	0.019**	265.68**	0.17**	0.23**	5.30**	4.96**	0.020**	253.8**
خطا Error	24	0.0004	4.23	0.003	0.0004	5.30	4.96	0.00041	2.2
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation (%)	–	1.33	3.96	0.80	0.21	4.00	8.01	1.55	9.2

** و * به‌ترتیب عدم معنی داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد
ns, ** and * are not significant, significant at the probability level of 1 and 5%, respectively

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

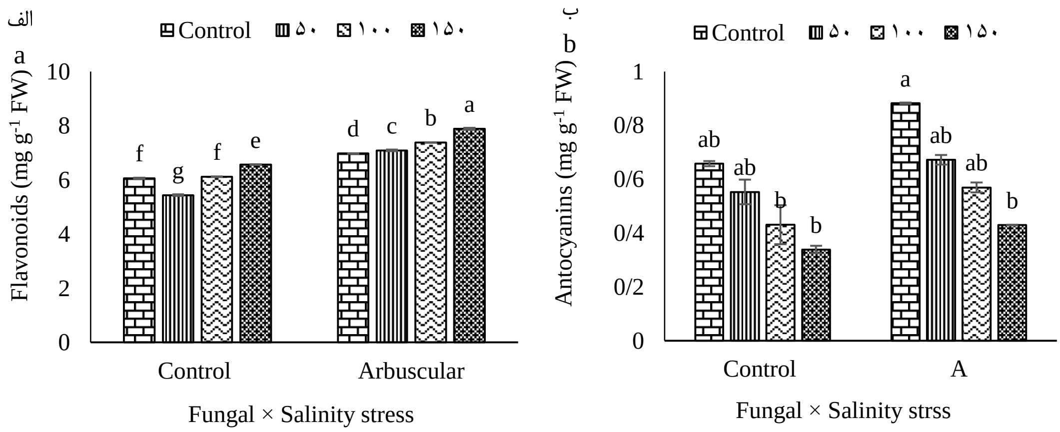


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ و تنش شوری بر الف) پرولین و ب) کربوهیدرات‌های محلول علف لیمو در شرایط گلخانه (میانگین با حروف مشابه در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد)

Figure 1. Comparison of the mean interaction effect of fungus and salt stress on a) proline and b) soluble carbohydrates of lemongrass under greenhouse conditions (means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level)

فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر میزان فلاونوئید در سطح احتمال ۱٪ و میزان آنتوسیانین در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تحت تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، میزان فلاونوئیدها (شکل ۲ الف) و آنتوسیانین‌ها (شکل ۲ ب) در علف لیموی تلقیح شده با قارچ آربسکولار به‌میزان ۲۰/۴۸ و ۲۷/۲۷ درصد به‌ترتیب در مقایسه با شاهد (بدون تلقیح) افزایش یافت (شکل ۲).



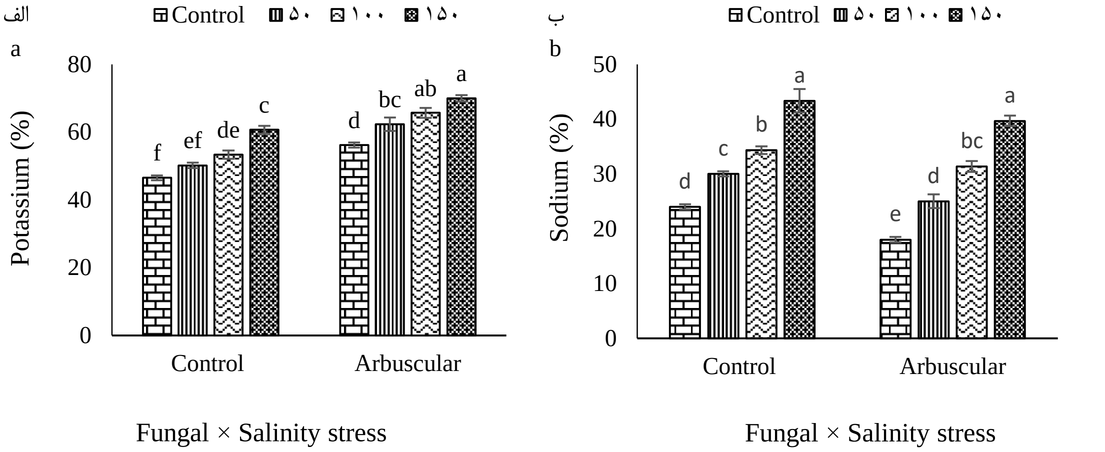
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ و تنش شوری بر الف) فلاونوئیدها و ب) آنتوسیانین علف لیمو در شرایط گلخانه (میانگین با حروف مشابه در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد).

Figure 2. Comparison of the average interaction effect of fungus and salinity stress on a) flavonoids and b) anthocyanins of lemongrass under greenhouse conditions (means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level).

میزان پتاسیم و سدیم

بر اساس نتایج به‌دست آمده، اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر میزان پتاسیم و سدیم علف لیمو در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان پتاسیم با ۱۵/۳۹ درصد در حضور قارچ آربوسکولار و تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کمترین میزان پتاسیم در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۳ الف). در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، میزان سدیم نسبت به شاهد (بدون تلقیح و شوری صفر) و در حضور آربوسکولار ۸/۴۶ درصد کاهش یافت (شکل ۳ ب).

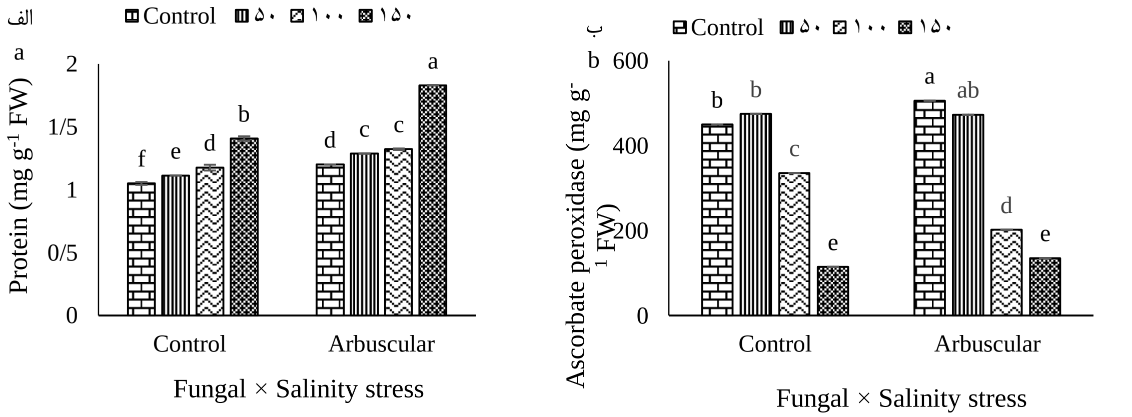
[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ و تنش شوری بر الف) پتاسیم و ب) سدیم علف لیمو در شرایط گلخانه
(میانگین با حروف مشابه در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)
Figure 3. Comparison of the average interaction effect of fungus and salinity stress on a) potassium and b) sodium of lemongrass under greenhouse conditions
(means with the same letters do not have significant differences at the 5% probability level)

پروتئین و آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تلقیح قارچ و سطوح شوری بر پروتئین و آسکوربات پراکسیداز گیاه علف لیمو در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین (۱/۸۲ میلی‌گرم بر گرم در گرم وزن) در تنش آربوسکولار و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کمترین مقدار آن (۱/۰۴ میلی‌گرم بر گرم در گرم وزن) در شاهد مشاهده شد. تحت تنش شوری (۱۵۰ میلی مولار)، پروتئین در گیاهان تلقیح شده با قارچ آربوسکولار ۳۰ درصد نسبت به شاهد (بدون تلقیح) افزایش یافت (شکل ۴ الف). در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، قارچ آربوسکولار فعالیت آسکوربات پراکسیداز را ۱۷/۳۹ درصد نسبت به شاهد (بدون تلقیح و شوری صفر) افزایش داد (شکل ۴ ب).

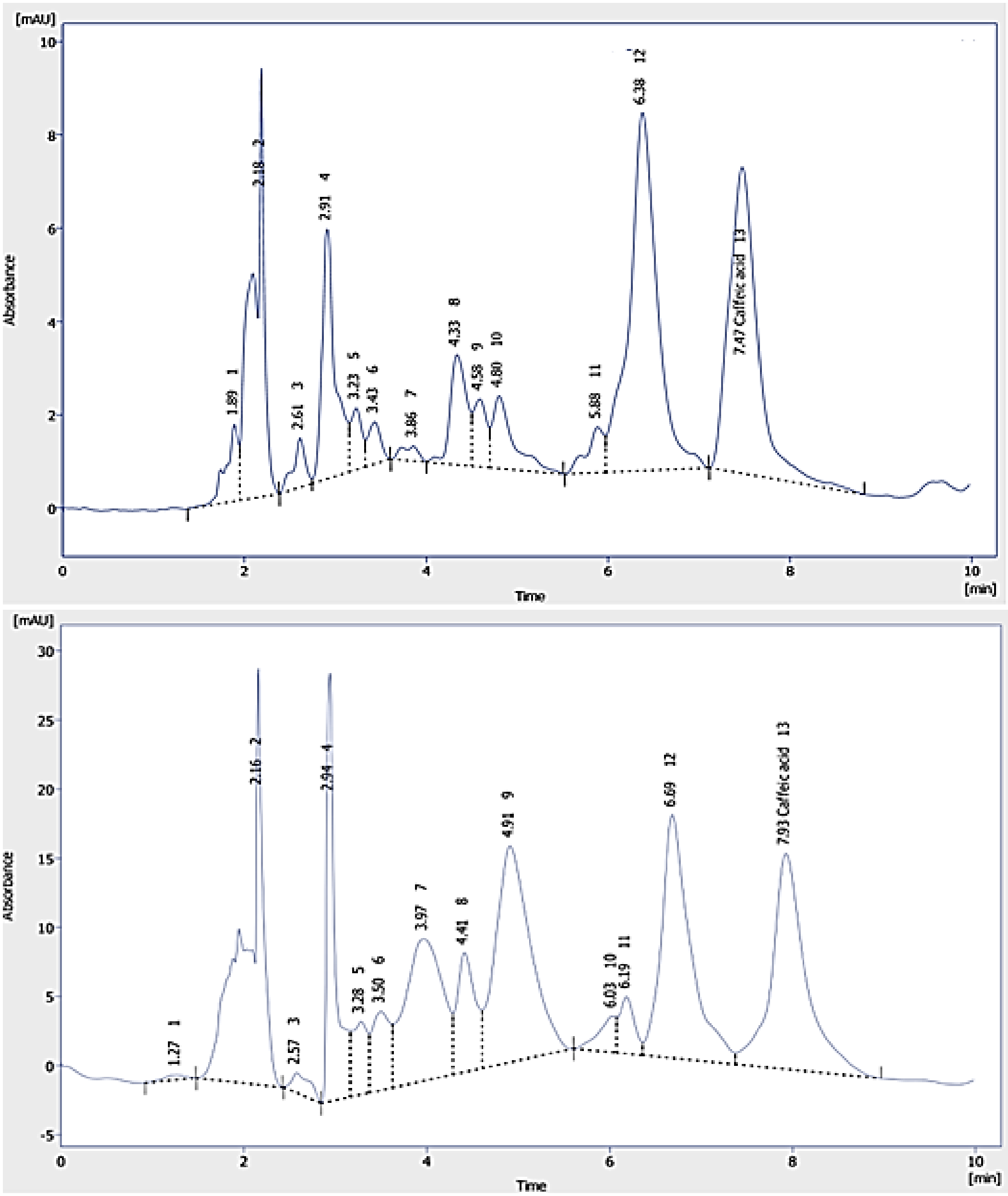


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ و تنش شوری بر الف) پروتئین و ب) آسکوربات پراکسیداز علف لیمو در شرایط گلخانه
(میانگین با حروف مشابه در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد)
Figure 4. Comparison of the average interaction effect of fungus and salinity stress on a) protein and b) ascorbate peroxidase of lemongrass in greenhouse conditions (means with the same letters do not have significant differences at the 5% probability level)

اثر متقابل شوری و قارچ بر محتوای کافئیک اسید علف لیمو
نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) در گیاه تلقیح شده با قارچ میکوریز آربوسکولار، میزان کافئیک اسید علف لیمو نسبت به شاهد کاهش یافت. بیشترین افزایش درصد کافئیک اسید در تلقیح قارچ میکوریزای آربوسکولار تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به میزان ۰/۶۸۶درصد نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۲). شکل ۵ نمودار محتوای کافئیک اسید در اثر تلقیح قارچ‌های آربوسکولار روی علف لیمو تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار را در مقایسه با شاهد نشان می‌دهد.

جدول۲- اثر متقابل قارچ آربوسکولار و سطح شوری بر محتوای کافئیک اسید علف لیمو
Table 2. Interaction effect of arbuscular fungus and salinity level on caffeic acid content of lemon grass

AREA	PPM	MG/SAMPLE	MG/G	تنش شوری (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)	تیمار Treatment
118.36	1.495	0.747	0.150	0	
120.744	1.539	0.769	0.154	50	شاهد
143.363	1.957	0.978	0.196	100	Control
180.194	2.637	1.318	0.264	150	
158.369	2.234	1.117	0.223	0	
240.207	3.745	1.872	0.375	50	آربوسکولار
409.143	6.864	3.432	0.686	100	Arbuscular
275.233	3.397	2.198	0.440	150	



شکل۵- نمودار اثر الف) تلقیح قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار در سطح شوری (۱۰۰ میلی‌مولار NaCl) بر میزان کافئیک اسید علف لیمو در مقایسه با ب) شاهد
Figure 5. Diagram of the effect of a) inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi at the salinity level (100 mM NaCl) on the amount of caffeic acid in lemon grass compared to b) control

این مطالعه نشان داد که تلقیح قارچ بر برخی از صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و میزان کافئیک اسید گیاه علف لیمو تحت تنش شوری تأثیر معنی‌داری دارد. شوری باعث ایجاد تنش اسمزی و یونی در گیاهان می‌شود. در مدت کوتاهی که گیاه تحت تنش اسمزی حاصل از شوری قرار می‌گیرد، کمبود آب در ناحیه ریشه ایجاد می‌شود که به‌طور

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

مستقیم وضعیت آبی گیاهان را مختل می‌کند. با این حال، گیاه در عرض چند ساعت بهبود می‌یابد و به حالت پایدار می‌رسد. علاوه بر این، گیاهان تحت تنش شوری به انرژی اضافی برای کاهش اثرات سمی یون‌های Na^+ نیاز دارند. این گیاهان همچنین دچار کمبود مواد مغذی می‌شوند که همه این فرآیندها بر رشد گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (۳۴). مطالعات نشان داده است که کلونیزاسیون میکوریزا باعث افزایش رشد گیاه و افزایش کارایی فتوسنتز تحت تنش می‌شود (۲۰). تلقیح گیاه با قارچ باعث تسهیل جذب آب و مواد معدنی از طریق ریشه گیاه می‌شود. انتقال آب و مواد مغذی از ریشه به برگ‌ها منجر به افزایش فتوسنتز می‌شود (۶۵).

در این مطالعه تنش شوری به صفات فیزیولوژیک گیاهان تلقیح شده با قارچ و گیاهان غیرتلقیح شده آسیب رساند. با این حال، قارچ‌های آربوسکولار به‌طور قابل توجهی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه علف لیمو را در شرایط شور بهبود بخشیدند. در تحقیقاتی نشان داده شد افزایش تحمل به شوری در بادام‌زمینی تلقیح شده ممکن است به‌دلیل وضعیت تغذیه بهتر گیاهان باشد (۶۴). در این تحقیق در شرایط تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، کلروفیل a و کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای گیاه تلقیح شده با قارچ آربوسکولار به‌ترتیب به‌میزان ۱۱۸/۵۱، ۸۲/۳۵، ۵۰/۸۶ و ۵۰/۷۰ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت. همانطور که تجزیه و تحلیل داده‌های ما نشان داد، تلقیح با قارچ وضعیت آب گیاهان را بهبود بخشید و بنابراین به آن‌ها اجازه داد تا سطح برگ بزرگ‌تری داشته باشند، که جذب CO_2 را بهبود می‌بخشد (۱۱). به‌عنوان بخش مهمی از دستگاه فتوسنتز، فتوسیستم های PSI و PSII مستعد شرایط شوری هستند. شوری می‌تواند مرکز واکنش PSII را از بین ببرد و انتقال الکترون از PSII به PSI را مختل کند و در نهایت منجر به کاهش فتوسنتز شود (۶۰). در یک مطالعه گزارش شد که همزیستی میکوریزا تحت تنش شوری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک مهم مانند غلظت کلروفیل کل (۱۹ درصد افزایش)، سرعت فتوسنتز در برگ (۳ برابر)، میزان و سرعت تثبیت کربن در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاه شاهد (بدون تلقیح) اثر مثبت داشت (۲۸). در مطالعه دیگری روی فلفل، مشخص شد که میزان کلروفیل a و b تلقیح شده با *Glomus intraradices* نسبت به گیاهان غیرمیکوریزای به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است (۱۶). سایر محققان نشان داده‌اند که تلقیح قارچ میکوریزا *Glomus fasciculatum* با ریشه نعناع باعث افزایش فتوسنتز و بهبود عملکرد با افزایش جذب آب و مواد مغذی شد (۳۱). تنش شوری با ایجاد تولید غیرعادی و تخریب گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث تنش اکسیداتیو می‌شود (۲۹).

یکی از شاخص‌های خسارت ناشی از تنش شوری، میزان نسبی نشت یونی است. سطوح بالاتر نشت یونی به معنای آسیب شوری بیشتر به سیستم غشای گیاه است (۱،۵۹). نتایج ما نشان داد که نشت یونی به‌طور قابل توجهی در گیاهان تلقیح شده با قارچ کمتر بود، که نشان‌دهنده آسیب کمتر به غشای سلولی است. نشت یونی کمتر نشان‌دهنده پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی بهتر است که در گیاهان تیمار شده با میکوریزا را از آسیب اکسیداتیو ناشی از تلقیح محافظت می‌کند.

فلاونوئیدها رایج‌ترین متابولیت‌های ثانویه هستند (۵۵) که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های موثر، مستقیماً در حذف مولکول‌های اکسیژن فعال نقش دارند (۶۲). در یک مطالعه مشخص شد که تعداد فلاونوئیدهای برگ گیاه علف لیمو تحت تیمار شوری افزایش یافت که نشان‌دهنده پاسخ این رنگدانه به سطوح شوری است. فلاونوئیدها با کمک پراکسیداز برای سم‌زدایی H_2O_2 تحت شرایط تنش سلولی عمل می‌کنند (۶۲). در این مطالعه، در تمام تیمارهای شوری، تعداد فلاونوئیدها در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا بیشتر از گیاهان غیر تلقیح شده بود. بنابراین افزایش تعداد فلاونوئیدها توسط میکوریزا همراه با افزایش میزان پراکسیداز باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سیستم فلاونوئید-پراکسیداز گیاه علف لیمو در سم‌زدایی H_2O_2 به‌دلیل تنش شوری و افزایش تحمل به تنش در گیاه می‌شود. اگرچه مکانیسمی که قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش فلاونوئیدهای گیاهی می‌شوند به خوبی شناخته نشده است، نتایج ماریا و همکاران (۴۴) و خالیدونی و همکاران (۳۸) در مورد همزیستی *Piriformospora indica* روی نعناع با نتایج مطالعه حاضر همسو بود. سطح پرولین در شرایط شوری در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این مطالعه بیشترین میزان پرولین در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار در حضور قارچ‌های آربوسکولار مشاهده شد. پرولین می‌تواند نقش مهمی به‌عنوان یک ترکیب تنظیم کننده اسمزی و همچنین یک عامل پاکسازی ROS ایفا کند (۱۱). تجمع پرولین با تحمل تنش اسمزی و پاسخ به شرایط تنش از جمله کم آبی همراه است (۵۸). سطوح بالای پرولین در حضور قارچ‌های میکوریزا ممکن است نشان‌دهنده آسیب کمتری به گیاه تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا نسبت به گیاهان بدون قارچ میکوریزا باشد. یافته‌ها نشان داد همچنین افزایش تولید پرولین را در همزیستی قارچ‌های میکوریزا در شرایط شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نشان داد (۵۲). در مقابل آمانیفار و توگرانیگار (۲) نشان دادند که تحت تنش شوری، سطوح پرولین کمتری در برگ‌های *Verbena officinalis* تلقیح شده با *Rhizophagus irregularis* و *Funneliformis mosseae* ثبت شد که ممکن است نشان‌دهنده کاهش تنش باشد. در نتایج این تحقیق ممکن است بازتابی از عملکرد متفاوت این اسید آمینه آزاد در قسمت اندام هوایی و ریشه گیاه باشد (۳۷).

سطوح بالای پرولین در نتایج ما ممکن است با آسیب اکسیداتیو کمتر در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا همراه باشد. پرولین به‌عنوان یک محافظ اسمزی در برابر ROS عمل می‌کند و ساختارها و غشاهای سلولی را تثبیت می‌کند (۴۶)، در نتیجه آسیب ROS را کاهش می‌دهد، همانطور که در یافته‌های این مطالعه نشان داده شده است. علاوه بر این، پرولین منجر به افزایش غلظت K^+ در سلول‌های گیاهی می‌شود (۳۲).

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

نتایج نشان داد که قارچ آربوسکولار کربوهیدرات‌های محلول در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار را تا ۹۴/۹۱ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد. افزایش غلظت اسمولیت‌های سازگار مانند کربوهیدرات‌ها و پرولین تحت تأثیر تنش‌های محیطی مانند تنش شوری قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد تجمع ترکیباتی مانند پرولین و کربوهیدرات در بافت سبز گیاهان در شرایط تنش شوری می‌تواند شرایط لازم را برای ادامه جذب آب از محیط ریشه برای گیاهان فراهم کند (۷).

نتایج این مطالعه نشان داد که آسکوربات پراکسیداز در علف لیموی تلقیح شده با قارچ آربوسکولار تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش یافت. آسکوربات پراکسیداز یکی از آنزیم‌های کلیدی است که H_2O_2 را از بین می‌برد (۸). افزایش زیاد این آنزیم ممکن است به‌دلیل نفوذ موفقیت‌آمیز قارچ به داخل سلول‌های گیاهی باشد. افزایش فعالیت این آنزیم در گیاهان حساس با کاهش سطح H_2O_2 از مرگ سلولی جلوگیری می‌کند تا قارچ به راحتی در گیاه رشد کند که با نتایج ال‌زاهابی و همکاران (۱۸) همخوانی داشت. در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، میزان سدیم نسبت به شاهد (بدون تلقیح و شوری صفر) و در حضور آربوسکولار ۸/۴۶ درصد کاهش یافت. گیاهان تلقیح شده با قارچ می‌توانند بر انتقال سدیم به قسمت‌های بالایی گیاه تأثیر بگذارند و غلظت Na^+ را حفظ کنند. میکوریزا به گیاهان کمک می‌کند تا Na^+ را حذف کرده و از تجمع آن در بافت‌های فتوسنتزی جلوگیری کند (۴۲). مطالعه اساس مولکولی نسبت‌های بالای K^+: Na^+ را در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا توصیف کرده‌اند (۴۹). جذب بیشتر مواد مغذی در گیاهان تیمار شده با قارچ میکوریزا به عوامل متعددی از جمله هیف‌های خارج سلولی نسبت داده می شود (۴۵).

مطالعات نشان داد که درصد کافئیک اسید در علف لیموی تلقیح شده با قارچ میکوریزا آربوسکولار ۰/۶۸۶ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود. مسیر فنیل پروپانوئید یکی از مهم‌ترین مسیرها برای تولید متابولیت‌های ثانویه است و تعداد زیادی ترکیبات پلی‌فنلی مهم مانند کافئیک اسید را تولید می‌کند که نقش مهمی در ایجاد و مقاومت در برابر بیماری‌ها ایفا می کند (۱۱). سنتز پلی فنل‌ها توسط مسیر فنیل پروپانوئید از اسید آمینه فنیل‌آلانین آغاز می‌شود. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در این مسیر نقش دارد و مسیر فنیل پروپانوئید را به اسید آمینه فنیل آلانین و سپس به سینامیک اسید تبدیل می‌کند (۱۱). گزارش‌های زیادی در مورد خواص دارویی مشتقات کافئیک اسید مانند خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی، ضدفشار خون و ضدسرطانی وجود دارد (۱۲). کافئیک اسید دارای خواص ضد التهابی و ضد توموری است (۲۶). این مطالعه نشان داد که قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار اثر فزاینده‌ای بر محتوای کافئیک اسید علف لیمو داشتند. گونه‌های مختلف گلوموس (جنس قارچ‌های آربوسکولار میکوریزای) باعث افزایش سطح رزمارینیک اسید و کافئیک اسید (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) در گیاه *Ocimum basilicum* شدند (۱۴). بنابراین همزیستی قارچی می‌تواند تغییرات قابل توجهی در خواص دارویی گیاهان دارویی ایجاد کند (۳۶). در یک پژوهش مشخص شد که تلقیح میکوریزا باعث افزایش محتوای برخی از پلی‌فنول‌ها، مانند پروتوکاتچوئیک، ۴، ۵-دکافئوئیلکینین، لوتئولین و کوئرستین-۳-آرابینوزید *Eclipta prostrata* می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، برای اولین بار اثر قارچ میکوریزا بر گیاه علف لیمو تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. به‌طور خلاصه، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تلقیح علف لیمو با قارچ می‌تواند از گیاه در برابر تنش شوری محافظت کند. همچنین مشاهده شد که تلقیح با قارچ آربوسکولار بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده تأثیر مثبت داشت. استفاده از قارچ آربوسکولار در حضور تنش شوری به‌دلیل جذب مواد مغذی و آب، منجر به بهبود رشد گیاه علف لیمو شد. همچنین در این مطالعه تلقیح قارچ آربوسکولار به گیاه علف لیمو تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد، اثر افزایشی بر کافئیک اسید داشت. با بررسی تمام صفات اندازه‌گیری شده می توان نتیجه گرفت که استفاده از قارچ آربوسکولار می‌تواند به‌عنوان یک راه حل موثر برای کشت گیاه علف لیمو در خاک‌های شور در نظر گرفته شود.

منابع

1. Alqarawi, A., A. Hashem, E. Abd_Allah, T. Alshahrani and A. Huqail. 2014. Effect of salinity on moisture content, pigment system and lipid composition in Ephedra alata Decne. Acta Biologica Hungarica, 65(1): 61-71.
2. Amanifar, S. and Z. Toghranegar. 2020. The efficiency of Arbuscular mycorrhiza for improving tolerance of *Valeriana officinalis* L. and enhancing valerenic acid accumulation under salinity stress. Industrial Crops and Products, 147:112234.
3. Arif, M., T. Jan, M. Riaz, S. Fahad, M.S. Arif, M.B. Shakoor and F. Rasul. 2019. Advances in rice research for abiotic stress tolerance: agronomic approaches to improve Rice production under abiotic stress. In Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance, 585-614.
4. Arnon, D., I. and F.R. Whatley. 1949. Is chloride a coenzyme of photosynthesis? Science, 110(2865): 554-556.
5. Barkaoui, M., A. Katiri, H. Boubaker and F. Msanda. 2017. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. Journal of Ethnopharmacology, 198: 338-350.
6. Bates, I., Waldern, R.P and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
7. Bijani, M., S. Yadali P. Dehcheshmeh, M.R. Asgharipoor, M. Heidari. 2016. The effect of mycorrhizal inoculation on some physiological characteristics and yield of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) Scientific Journal, Under Water Stress, 3(9).

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]

8. Bowler, C. and R. Fluhr. 2000. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling 13. cross-tolerance. Trends in plant science, 5 (6): 241-246.
9. Bradford, M., M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry Quantities, 72: 248-254.
10. Carson, C.F. and K.A. Hammer. 2015. Chemistry & bioactivity of essential oils. In, Thormar, H. (Ed.), Lipids & Essential Oils as Antimicrobial Agents. 203-238.
11. Chen, A.H., Y.R. Chai, J.N. Li and L. Chen. 2007. Molecular cloning of two genes encoding cinnamate 4-hydroxylase (C4H) from oilseed rape (*Brassica napus*). BMB Reports, 40(2): 247-260.
12. Chen, H. and J. G. Jiang. 2009. Osmotic responses of Dunaliella to the changes of salinity. Journal of cellular physiology, 219 (2): 251-258.
13. Chen, J., H. Zhang, X. Zhang and M. Tang. 2017. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates salt stress in black locusts through improved photosynthesis, water status and K^+/Na^+ homeostasis. Frontiers in plant science, 8:1739.
14. Copetta, A., G. Lingua and G. Berta. 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. Mycorrhiza, 16 (7): 485-494.
15. Dai, J. and R. Mumper. 2010. Plant phenolics, extraction, analysis and their antioxidant and anti-cancer properties. Molecules, 15(10): 7313-7352.
16. Demir, V., E.D. A.T. T.U.N.C.A.Y. Gunhan, A.K. Yagcioglu and A.D.N.A.N. Degirmencioglu. 2004. Mathematical modeling and the determination of some quality parameters of air-dried bay leaves. Biosystems Engineering, 88 (3): 325-335.
17. Dodd, I., C. and F. Pérez-Alfocea. 2012. Microbial amelioration of crop salinity stress. Journal of Experimental Botany, 63 (9): 3415-3428.
18. El Zahaby, H., M.G. Gellner and Z. Kiraly. 1995. Effects of powdery mildew infection of barley on the ascorbate-glutathione cycle and other antioxidants in different host-pathogen interactions. Phytopathology (USA).
19. El-Hilaly, J., M. Hmammouchi and B. Lyoussi. 2003. Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). Journal of Ethnopharmacology, 86 (2-3):149-158.
20. Elhindi, K., M. A.S. El-Din and A.M. Elgorban. 2017. The impact of Arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating salt-induced adverse effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Saudi Journal of Biological Sciences, 24(1): 170-179.
21. Emami, A. 1997. Methods of plant decomposition (Volume I). Soil and Water Research Institute, Volume 2, Number 982: 128 p.
22. Evelin H., R. Kapoor and B. Giri. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. Annals of Botany, 104: 1263-1280.
23. Evelin, H., T.S. Devi, S. Gupta and R. Kapoor. 2019. Mitigation of salinity stress in plants by Arbuscular mycorrhizal symbiosis: current understanding and new challenges. Frontiers in Plant Science, 10: 470.
24. Fester, T. and R. Sawers. 2011. Progress and challenges in agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi. Critical Reviews in Plant Sciences, 30(5): 459-470.
25. Fierascu, R.C., I. Fierascu, A. Ortan, M.I. Georgiev and E. Sieniawska. 2020. Innovative approaches for the recovery of phytoconstituents from medicinal/aromatic plants and biotechnological production. Molecules, 25(2): 309.
26. Gamaro, G.D., E. Suyenaga, M. Borsoi, J. Lermen, P. Pereira and P. Ardenghi. 2011. Effect of rosmarinic and caffeic acids on inflammatory and nociception process in rats. International Scholarly Research Notices.
27. Gharsallah, C., H. Fakhfakh, D. Grubb and F. Gorsane. 2016. Effect of salt stress on ion concentration, proline content, antioxidant enzyme activities and gene expression in tomato cultivars. AoB Plants, 8.
28. Ghollarata, M. and F. Raiesi. 2007. The adverse effects of soil salinization on the growth of Trifolium alexandrinum L. and associated microbial and biochemical properties in soil from Iran. Soil Biology and Biochemistry, 39(7): 1699-1702.
29. Gill S.S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 909-930.
30. Grattan, S.R. 1999. Mineral nutrient acquisition and response by plants grown in saline environments. Handbook of plant and crop stress, 203-229.
31. Gupta, N.S., R. Michels, D.E. Briggs, M.E. Collinson, R.P. Evershed and R.D. Pancost. 2007. Experimental evidence for the formation of macromolecules from plant leaf lipids. Organic Geochemistry, 38(1): 28-36.
32. Hossain, M.S. 2019. Present scenario of global salt-affected soils, its management and importance of salinity research. International Research Journal of Biological Sciences, 1: 1-3.
33. Isah, T. 2019. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. Biological Research, 52:39.
34. Isayenkov, S.V. and F.J. Maathuis. 2019. Plant salinity stress: many unanswered questions remain. Frontiers in Plant Science, 10: 80.
35. Jabalbarezi, B., M. Zarei, N.A. Karimian and M.J. Sahrkhiz. 2015. Effect of Arbuscular mycorrhizal fungi on nutrients uptake, some growth indices and essence oil content of Satureja hortensis under salinity stress conditions. Science of Water and Soil Journal, 25: 285-299.
36. Kapoor, R., H. Evelin, P. Mathur and B. Giri. 2013. Cymbopogon citrates. Available from: Url: www.floridata.com/ref/c/cymb_cit.cfm.
37. Kang, Y., I. Torres-Jerez, Z. An, V. Greve, D. Huhman, N. Krom, Y. Cui and M. Udvardi, 2019. Genome-wide association analysis of salinity responsive traits in Medicago truncatula. Plant, Cell & Environment, 42(5):1513-1531.
38. Khalondi, M., M.R. Amerian, H.A. Pirdashti, M. Firoozabadi brothers and A. Gholami. 2016. The coexistence effect of Piriformospora indica on the quantity of essential oil and some physiological traits of peppermint in salinity stress. Plant Biology of Iran, 9(32): 20-1.

39. Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of phycological methods, Phycological and biochemical methods, 95.
40. Lee, E.H., J.K. Eo, K.H. Ka and A.H. Eom. 2013. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems. Mycobiology, 41: 121–125.
41. Nadernejad, N., A. Ahmadimoghadam, J. Hossyinifard and S. Poorseyedi. 2013. Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in Pistachio (*Pistacia vera* L.). Iranian Journal of Plant Biology, 5(15): 95-110.
42. Maathuis, F.J. 2014. Sodium in plants: perception, signaling and regulation of sodium fluxes. Journal of Experimental Botany, 65 (3): 849-858.
43. Mahmoud, A.S. 2006. Reversed-phase HPLC determination of citral in locally grown lemongrass harvested at different seasons (Doctoral dissertation, East Tennessee State University).
44. Maria, A., Ponce Jose and M.M. Alicia. 2004. Flavonoids from shoot and root of Trifolium repens (White clover) grown in presence or absence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradice*. Phytochemistry 65: 19251930 .
45. Marschner, H. and B. Dell. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159(1): 89-102.
46. Meena, K.K., A.M. Sorty, U.M. Bitla, K. Choudhary, P. Gupta, A. Pareek, D.P. Singh, R. Prabha, P.K. Sahu, V.K. Gupta and H.B. Singh. 2017. Abiotic stress responses and microbe-mediated mitigation in plants: the omics strategies. Frontiers in plant science, 8:172.
47. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in Spanish chloroplasts. Plant and cell physiology, 22(5): 867-880.
48. Olorunnisola, S.K., H.T. Asiyanbi, A.M. Hammed and S. Simsek. 2014. Biological properties of lemongrass: An overview. International Food Research Journal, 21(2): 455.
49. Porcel, R., R. Aroca, R. Azcon and J.M. Ruiz-Lozano. 2016. Regulation of cation transporter genes by the Arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice plants subjected to salinity suggests improved salt tolerance due to reduced Na+ root-to-shoot distribution. Mycorrhiza, 26(7): 673-684.
50. Rodríguez, I.I.G., A.F. Francisco, L.S. Moreira-Dill, A. Quintero, C.L. GuimarãesC.A. Fernandes, A.A. Takeda, F.B. Zanchi, C.A. Caldeira, P.S. Pereira and M.R. Fontes. 2020. Isolation and structural characterization of bioactive compound from *Aristolochia sprucei* aqueous extract with anti-myotoxic activity. Toxicon: X, 7: 100049.
51. Rostami, R., B. Esmaielpour, S.A. Hosseini, G. Salimi and A. Etminan. 2022. Effects of arbuscular mycorrhizae on growth, biochemical characteristics and essential oil yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.) under lead heavy metal stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 38 (1):114-132.
52. Santander, C., M. Sanhueza, J. Olave, F. Borie, A. Valentine and P. Cornejo. 2019. Arbuscular mycorrhizal colonization promotes tolerance to salt stress in lettuce plants through an efficient modification of ionic balance. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 19 (2): 321-331.
53. Sairam, R.K., K.V. Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Journal of Plant science, 163(5): 1037-1046.
54. Sepaskhah A.R. and D. Akbari. 2005. Deficit Irrigation Planning under Variable Seasonal Rainfall, ublished by Elsevier Ltd., Biosystems Engineering, 92(1): 97–106.
55. Stafford, H.A. 1994. Anthocyanins and betalains: evolution of mutually exclusive pathways. Plant Sci 101: 9198.
56. Toor, R.K. and G.P. Savage. 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. Food Research International, 38: 487-494.
57. Tzanova, M., V. Atanasov, Yaneva, Z. D. Ivanova and T. Dinev. 2020. Selectivity of current extraction techniques for flavonoids from plant materials. Processes, 8(10): 1222.
58. Verbruggen N. and C. Hermans. 2008. Proline accumulation in plants, a review. Amino Acids 35: 753–759.
59. Verslues, P.E., M. Agarwal, S. Katiyar-Agarwal, J. Zhu and J.K. Zhu. 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. The Plant Journal, 45(4): 523-539.
60. Wang, C., J. Beringer, L.B. Hutley, J. Cleverly, J. Li, Q. Liu and Y. Sun. 2019. Phenology dynamics of dryland ecosystems along the North Australian tropical transect revealed by satellite solar-induced chlorophyll fluorescence. Geophysical Research Letters, 46(10): 5294-5302.
61. Wu, N., Z. Li, H. Liu and M. Tang. 2015. Influence of Arbuscular mycorrhiza on photosynthesis and water status of populus cathayana Rehder males and females under salt stress. Acta Physiol. Plant. 37:183.
62. Yamasaki, H., S. Yasuko and I. Norikatsu. 1997. Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H_2O_2. Plant Physiol, 115: 1405-1412.
63. Yano-Melo, A.M., J.D. Saggin and L.C. Maia. 2003. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp.cv. Pacovan) planets to saline stress. Agriculture Ecosystical Environmental, 95: 343– 48.
64. Zandavalli, R.B., L.R. Dillenburg and P.V.D. de Souza. 2004. Growth responses of Araucaria angustifolia (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus Glomus clarum. Applied Soil Ecology, 25(3): 245-255.
65. Zhang, Z., J. Zhang, G. Xu, L. Zhou and Y. Li. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and drought tolerance of Zenia insignis seedlings under drought stress. New Forests, 50(4): 593-604.

[DOI: 10.61186/jcb.15.46.133]