تاثیر قارچ *Funneliformis mosseae* بر برخی پارامترهای رشدی و نشت الکترولیت گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) تحت تنش شوری

مریم خدابنده‌لو[۱،*] ، ستاره امانی‌فر[۲]، احسان محسنی‌فرد[۲]، محمدصادق عسکری[۳]
۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
*Email: maryam.kabir23@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی اثر کلنیزاسیون میکوریزی و تنش شوری بر شاخص‌های رشدی و نشت الکترولیت گیاه شیرین‌بیان که گونه لگوم متحمل به شوری و بومی نواحی مرکزی ایران است، مطالعه‌ای گلخانه‌ای اجرا گردید. گیاهان تلقیح شده و بدون تلقیح تحت پنج سطح شوری خاک (شاهد، ۴، ۸، ۱۲ و۱۶ دسی‌زیمنس‌برمتر) به مدت ۷ هفته نگهداری شدند. *F.mosseae* ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاهان را تحت شرایط شور و غیرشور بهبود داد. گیاهان میکوریزی تحت تیمار شوری ظرفیت قابل توجهی برای حفظ رشد نشان دادند که حاکی از توان همزیست قارچی برای بهبود رشد گیاه تحت شرایط تنش می‌باشد. گیاهان میکوریزی زیست‌توده بالاتری در تمام سطوح شوری در مقایسه با گیاهان شاهد نشان دادند. همچنین پایداری غشاء سلولی در گیاهان میکوریزی بیش از گیاهان غیرمیکوریزی بود. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که تلقیح قارچ میکوریزی یک استراتژی مفید برای پایداری اکولوژیکی این گیاه لگوم در خاک‌های شور می‌باشد.

واژه های کلیدی: تنش شوری، شیرین‌بیان، میکوریز آربوسکولار، نشت الکترولیت، شاخص‌های رشدی

مقدمه

بهره‌برداری از خاک‌های متأثر از املاح با استفاده از گونه‌های گیاهی متحمل به شوری، بدون شک یک جایگزین مقرون به صرفه و عملی برای احیای این اراضی می‌باشد. استفاده از گیاهان در اصلاح خاک‌های شور و/یا سدیمی یک رویکرد کم هزینه در حال ظهور در احیای خاک‌های متأثر از املاح رها شده است. در این رابطه، ایجاد سیستم‌های علوفه‌ای با باردهی بالا از طریق استقرار گیاهان شورپسند خوش طعم برای اصلاح خاک‌های شور یا سدیک موثر و همچنین موجب درآمدزایی برای کشاورزان فقیر خواهد بود. گیاهان شورپسند به لحاظ اکولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان تخصص یافته‌ای هستند که قادر به تولید با بازده بالا در شرایط شور می‌باشند. عملکرد گیاهان شورپسند تحت محیط‌های شور وابسته به ویژگی‌های اکولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خاص خود می‌باشند (Ashraf et al., 2002). محققان متعددی تا به‌حال تاثیر همزیستی قارچ‌های اندوفیت به ویژه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را بر مقاومت گیاه میزبان تحت تنش شوری در شرایط خاکی یا هیدروپونیک مطالعه کرده‌اند. نتایج به‌دست آمده عمدتا حاکی از حمایت همزیست قارچی از گیاه میزبان تحت تنش شوری بوده است. تالات و همکاران (۲۰۱۴) اظهار داشتند که افزایش متابولیسم کربن و نیتروژن می‌تواند یکی از مهمترین مکانیسم‌های سازگاری گیاه به خاک‌های شور باشد که به وسیله قارچ میکوریزآربوسکولار فعال می‌شوند. افزایش تحمل به شوری گیاهان

دارای همزیست عمدتا به جذب کارآمدتر عناصر غذایی و حفظ تعادل یونی، بهبود جذب آب و حمایت از عملکرد آنزیم‌ها نسبت داده می‌شود، که نهایتاً منجر به پایداری غشاها و حفظ رشد طبیعی گیاه می‌شود (Beltrano et al., 2013). گیاه شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. یکی از ۱۸ گونه از جنس *Glycyrrhiza*، گیاهی چندساله از خانواده بقولات (Fabaceae) است که یکی از گونه‌های گیاهی شورپسند شناخته شده در ایران می‌باشد (Akhani and Ghorbanli, 1993). به واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی و غذایی مهم در ریشه و ریزوم آن در دنیا حائز اهمیت بوده و مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرار گرفته است (Amani et al., 2005). هدف از این پژوهش بررسی اثر قارچ میکوریزآربوسکولار و شوری بر برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی شیرین‌بیان می‌باشد. در این مطالعه سعی شده فرضیه اثر قارچ بر افزایش مقاومت گیاه شیرین بیان در شرایط شوری بررسی شود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش شوری و قارچ میکوریز بر گیاه دارویی شیرین بیان آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. به منظور ضدعفونی سطحی بذرهای شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۶۰ ثانیه و به دنبال آن از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید و سپس بذرها به دفعات با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. جهت برطرف کردن خواب بذر از تیمار آب جوش به مدت ۲ دقیقه استفاده شد. بذرها در سینی‌های نشاء در بستر حاوی مخلوط خاک استریل و مایه تلقیح خاکی قارچ *Funneliformis mosseae* (۵۰٪ w/w) کشت شدند و بعد از دو ماه گیاهچه‌های تلقیح شده به گلدان‌های اصلی حاوی خاک استریل منتقل شدند . گلدان‌ها در گلخانه و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و ۲۰ روز پس از استقرار در گلدان‌ها به مدت ۷ هفته تحت تیمار شوری قرار گرفتند. سطوح شوری شامل شاهد، ۴ $dS.m^{-1}$، ۸ $dS.m^{-1}$ و ۱۲ $dS.m^{-1}$ و ۱۶$dS.m^{-1}$ با استفاده از نمک کلرید سدیم (NaCl) به تدریج در مدت دو هفته به همراه آب آبیاری در خاک گلدان‌ها اعمال شد (Hajiboland et al., 2010) و در طول دوره رشد گیاهان با آب مقطر تا حد ظرفیت مزرعه آبیاری شدند. پس از برداشت نسبت به ارزیابی صفات زیر اقدام گردید:

شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک: برای سنجش وزن خشک نمونه‌ها، ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه جدا شده و وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه گیاه پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت درون آون (دمای ۷۰ درجه سانتیگراد) اندازه-گیری شد. طول ریشه و اندام هوایی گیاه نیز با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شدند. قطر ریشه و ساقه بطور دقیق با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد.

سنجش میزان نشت الکترولیت (Electrolyte Leakage) غشاء پلاسمایی: برای این منظور نمونه‌های برگ (۰/۱ گرم) از هر تکرار درون ظروف درپوش‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه قرار داده شد. این ظروف به مدت دو ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. پس از دو ساعت هدایت الکتریکی آن‌ها با استفاده از دستگاه EC سنج به عنوان نشت اولیه اندازه گیری شد (EC1). نشت ثانویه نیز از طریق اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها پس از اتوکلاو کردن آنها به مدت بیست دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اندازه گیری شد (EC2) و شاخص پایداری غشا با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Liu et al. 2004):

$$EL=EC1/EC2\times100$$

نتایج و بحث

مطالعات میکروسکپی حاکی از کلنیزاسیون موثر ریشه‌ها با قارچ بود و در ریشه گیاهان فاقد تلقیح اثری از کلنیزاسیون مشاهده نشد. تیمار تلقیح با قارچ اثر معنی‌داری بر تمام صفات مورد ارزیابی نشان داد ($p<0.05$). این در حالی بود که تیمار شوری اثر معنی‌داری بر طول بخش هوایی، وزن خشک بخش هوایی و نشت الکترولیت داشت و اثر آن بر سایر صفات معنی‌دار نبود. همچنین اثر متقابل تیمار قارچ میکوریز و شوری تنها بر وزن خشک بخش هوایی، طول بخش هوایی، قطر ریشه معنی‌دار

بود (جدول ۱). تیمار شوری به‌طور معنی‌داری سبب کاهش وزن خشک بخش‌هوایی و طول بخش هوایی گردید و نشت الکترولیت را افزایش داد. گیاهان میکوریزی در تمام سطوح شوری طول ریشه و بخش هوایی، قطر ریشه و ساقه و وزن خشک بخش هوایی بیشتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی داشتند، همچنین وزن خشک ریشه در سطح بدون شوری (S0)، $dS.m^{-1}$ ۸ (S2)، $dS.m^{-1}$ ۱۲(S3) و $dS.m^{-1}$ ۱۶(S4) در گیاهان میکوریزی بیش از غیرمیکوریزی بود ولی در سطح $dS.m^{-1}$ ۴ (S1) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نشت الکترولیت در تمام سطوح شوری در گیاهان میکوریزی کمتر بود که نشان‌دهنده پایداری بالای غشاء پلاسمایی در گیاهان میکوریزی است (جدول ۱).

رشد بهبود یافته گیاهان تلقیح شده در مقایسه با شاهد حاکی از تغذیه مناسب و نسبت مطلوب یونی در گیاهان میکوریزایی می‌باشد. همزیستی میکوریزی ممکن است جذب عناصر غذایی را از طریق افزایش حجم در دسترس خاک بهبود بخشد. هیف‌های خارج ریشه‌ای با اتصال به ذرات خاک، تماس با محلول خاک را افزایش می‌دهند و می‌توانند به منافذ کوچکتر از ریشه‌های گیاه و ریشه‌های موئین دسترسی داشته باشند. در این ارتباط همزیستی، گیاهان آب و مواد غذایی را توسط هیف‌های خارج ریشه‌ای که فراتر از مناطق تخلیه گسترش می‌یابند، به‌دست می‌آورند (Biro and Takacs, 2007).

نشت الکترون‌ها از زنجیره انتقال الکترون به O_2 در طی متابولیسم هوازی طبیعی، منجر به تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نظیر سوپراکسید $(O_2^{\bullet -})$ می‌شود. این نوع اکسیژن سمی بسیار فعال بوده و در غیاب هر سازوکار محافظتی، سبب اختلال در متابولیسم معمولی سلول از طریق آسیب اکسیداتیو می‌شود. یکی از موارد آسیب آن، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌باشد. افزایش در مقدار پراکسیداسیون غشاءها به عنوان شاخص افزایش تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود. نشت الکترولیت یک شاخص از ثبات غشای سلولی و تحمل به تنش اسمزی است. پایداری غشای سلولی یکی از مهمترین ارکان اثربخشی همزیست میکروبی مستقر در ریشه‌ها در کنترل تنش می‌باشد. به نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزی نقش مهمی در تنظیم واکنش‌های اکسیداتیو و دفاع آنتی اکسیدانی در گیاه میزبان تحت تنش ایفا می‌کنند که احتمالا با کاهش تجمع ROS و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی صورت می‌پذیرد (Ortiz et al., 2015). محققان متعددی پراکسیداسیون لیپیدی پایین‌تر و استحکام بالاتر غشاء در گیاهان AM در مقایسه با گیاهان بدون قارچ را گزارش کرده‌اند (Evelin et al., 2012; Estrada et al., 2013). همچنین ممکن است نشت الکترولیت کاهش یافته در برگ گیاهان میکوریزی به تغییرات القا شده در اثر تغذیه فسفری این گیاهان مرتبط باشد که در سطح فسفولیپیدهای غشاء و تغییر در خواص نفوذپذیری آن نمایان می‌گردد (Evelin et al., 2012).

جدول ۱- مقایسهٔ میانگین‌های اثر شوری و تلقیح با قارچ ***F. mosseae*** بر برخی شاخص‌های رشدی، شاخص کلروفیل و نشت الکترولیت در گیاه شیرین‌بیان

قارچ	شوری	وزن خشک بخش هوایی (g)	وزن خشک ریشه‌ها (g)	طول ریشه (cm)	طول بخش هوایی (cm)	قطر ریشه (mm)	قطر ساقه (mm)	نشت الکترولیت (٪)
NI	S0	۰/۳۷۶^{c}	۰/۲۱^{d}	۲۰/۳۳^{c}	۷/۱۱^{d}	۱/۳۵^{e}	۶/۶۳^{b}	۱۱/۳۵^{a}
	S1	۰/۳۶۳^{c}	۰/۳۲۵^{cd}	۲۰/۶۶^{c}	۸/۳۳^{d}	۱/۶۱^{e}	۶/۶۶^{b}	۱۲/۱۷^{a}
	S2	۰/۳۵۳^{c}	۰/۳۲^{cd}	۲۱/۵۰^{bc}	۷/۱۶^{d}	۱/۶۲^{e}	۶/۴۶^{b}	۱۲/۷۳^{a}
	S3	۰/۴۲^{c}	۰/۱۹^{d}	۲۰/۶۶^{c}	۷/۳۹^{d}	۱/۵۰^{e}	۵/۹۳^{b}	۱۲/۵۲^{a}
	S4	۰/۳۷۳^{c}	۰/۲۸۵^{d}	۲۱/۳۳^{bc}	۷/۵۵^{d}	۱/۹۳^{de}	۷/۲۳^{b}	۱۲/۲۴^{a}
Fm	S0	۱/۹۱^{a}	۰/۹۱۵^{ab}	۲۶/۳۳^{abc}	۲۳/۶۲^{a}	۴/۵۶^{a}	۱۰/۱۳^{a}	۶/۸۷^{d}
	S1	۱/۲۲^{b}	۰/۷^{bc}	۳۰/۶۶^{a}	۱۸/۵^{b}	۲/۸۳^{c}	۱۰/۰۲^{a}	۷/۲۹^{d}
	S2	۱/۵۹^{a}	۰/۷۴^{ab}	۲۸/۵۰^{ab}	۱۷/۸۳^{b}	۲/۶^{b}	۹/۵^{a}	۸/۰۲^{d}
	S3	۱/۲۱^{b}	۱/۱۲۵^{a}	۲۶/۸۳^{abc}	۱۶/۷۹^{b}	۳/۷۵^{cd}	۱۰/۵۳^{a}	۹/۱۴^{c}
	S4	۰/۸۶^{b}	۰/۸۴۵^{ab}	۲۶/۶۶^{abc}	۱۴/۰۸^{c}	۳^{bc}	۱۰^{a}	۱۰/۹۸^{bc}
معنی داری								
تیمار شوری		**	ns	ns	**	ns	ns	**
تیمار قارچ		**	**	**	**	**	**	*
قارچ× شوری		**	ns	ns	**	**	ns	ns

- حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشد (آزمون دانکن،۰/۰۵> P).
- NI و Fm به ترتیب شاهد بدون تلقیح و تلقیح شده با قارچ ***Funneliformis mosseae***
- S0، S1، S2، S3 و S4 به ترتیب سطوح شوری صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر می‌باشد

منابع

Akhani H. and Ghorbanli M. 1993. A contribution to the halophytic vegetation and flora of Iran. In Towards the rational use of high salinity tolerant plants (pp. 35-44). Springer Netherlands.

Amani M., Sotudeh-Gharebagh R. Mostaoufi N. and Kashani, H. 2005. Optimal exteraction of glycyrrhetinic acid from licorice root. Journal of Food Technology 3 (4):376-580.

Ashraf M. 2002. Exploitation of genetic variation for improvement of salt tolerance in spring wheat. In Prospects for saline agriculture (pp. 113-121). Springer Netherlands.

Beltrano J., Ruscitti M., Arango M. C. and Ronco, M. 2013. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 13(1), 123-141.

Biro I. and Takacs T. 2007. Effects of Glomus mossea strains of different origin on plant macro and micronutrient uptake in Cd polluted and unpolluted soils. Acta Agronomica Hungarica, 55(2):1-10.

Estrada B., Aroca R., Barea J. M. and Ruiz-Lozano J. M. 2013. Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. Plant Science, *201*, 42-51.

Evelin H., Giri B. and Kapoor R. 2012. Contribution of Glomus intraradices inoculation to nutrient acquisition and mitigation of ionic imbalance in NaCl-stressed Trigonella foenum-graecum. Mycorrhiza, 22(3), 203-217.

Hajiboland R., Aliasgharzad N., Laiegh S. F. and Poschenrieder, C. 2010. Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. Plant and Soil, 331(1-2), 313-327.

Liu J., Xiong Z., Li T. and Huang, H. 2004. Bioaccumulation and ecophysiological responses to copper stress in two populations of *Rumex dentatus* L. from Cu contaminated and non-contaminated sites. Environmental and Experimental Botany, 52(1), 43-51.

Ortiz N., Armada E., Duque E., Roldán A. and Azcón R. 2015. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. Journal of Plant Physiology, 174, 87-96.

Talaat N. B. and Shawky, B. T. 2014. Protective effects of arbuscularmycorrhizal fungi on wheat (*Triticum aestivum* L.) plants exposed to salinity. Environmental and Experimental Botany, 98, 20-31.

Effect of *Funneliformis mosseae* on some growth parameters and electrolyte leakage of *Glycyrrhiza glabra* L. under salt stress

M. Khodabandeloo[1]*, S. Amanifar[2], E. Mohsenifard[3], M. S. Askari[2]

1- MSc Student, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

2- Assist. Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

3- Assist. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

*Email: maryam.kabir23@yahoo.com

Abstract:

A study was conducted in a greenhouse, to investigate the effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi (*Funneliformis mosseae*) and soil salinity on growth and electrolyte leakage of *Glycyrrhiza glabra L.*(liquorice); a salt-tolerant legume plant which is a native plant in the central part of Iran. Inoculated and non-inoculated plants were grown at five levels of salinity (0, 4, 8 and 12 and 16 $dS.m^{-1}$) for 7 weeks. *F.mosseae* was able to improve growth and physiological characteristics of liqorcie under both saline and non-saline conditions. Mycorrhizal inoculated plants showed a great surviving capacity under salt conditions indicating its capacity to improve plant growth under stress conditions. Mycorrhizal plants showed greater shoot and root biomass at all salinity levels compared to non-mycorrhizal plants. Also, the cell membrane integrity was greater in mycorrhizal plants than in non-mycorrhizal ones. The results obtained support that the mycorrhizal inoculation is beneficial strategy for the ecological stability of this legume in saline soils.

Keywords: *Glycyrrhiza glabra* L.**,** arbuscular mycorrhiza, salinity, electrolyte leakage, growth parameters