Archive of SID

بررسی کارایی همزیستی قارچ میکوریز آربوسکولار (*Rhizophagus intraradices*) و قارچ ریشه‌زی *Piriformospora indica* تحت تنش شوری در شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

مریم خدابنده‌لو[۱]، ستاره امانی‌فر[۲*]، احسان محسنی‌فرد[۳]، محمدصادق عسکری[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۱۱)

چکیده

قارچ‌های همزیست ریشه از جمله قارچ‌های میکوریزی قادر به تعدیل تنش‌های زنده و غیرزنده برای گیاه میزبان بوده که رشد، تغذیه و مقاومت گیاه به تنش شوری را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در آسیا، شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) برای بهره‌برداری از ریشه آن برای مقاصد دارویی کشت و نیز به عنوان یک منبع علوفه برای دام استفاده می‌شود. به منظور بررسی تأثیر همزیستی با قارچ‌های اندوفیت بر برخی ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی این گیاه تحت سطوح مختلف شوری خاک، آزمایشی به صورت فاکتوریل با عوامل شوری خاک (بدون شوری، چهار، هشت، ۱۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر) و همزیست قارچی (تلقیح نشده، تلقیح شده با *Piriformospora indica* و یا تلقیح شده با *Rhizophagus intraradices*) در سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد تنش شوری موجب کاهش درصد کلونیزاسیون قارچی، وزن خشک و طول بخش هوایی و ریشه، مقدار پتاسیم و فسفر در بخش هوایی شد و کارایی مصرف فسفر و پتاسیم با افزایش شوری کاهش یافت. هم‌چنین شوری منجر به افزایش نشت الکترولیت و افزایش نسبت Na^+/K^+ گیاه شد. تلقیح گیاه با قارچ *R. intraradices* به‌طور چشم‌گیری منجر به افزایش شاخص تحمل تحت تنش شوری شد و نسبت سدیم به پتاسیم را کاهش داد. این گیاهان در تمام سطوح شوری علاوه بر زیتوده بالاتر، مقدار فسفر و پتاسیم بیش‌تری نسبت به شاهد تلقیح نشده و تلقیح شده با قارچ *P. indica* نشان دادند. در حالیکه تلقیح با قارچ *P. indica* فقط در سطح بدون شوری منجر به افزایش وزن خشک بخش هوایی و ریشه شد و بر سایر صفات مطالعه شده تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج این تحقیق نشان دهنده آثار مفید رابطه همزیستی میکوریز آربوسکولار در گیاه شیرین‌بیان تحت تنش شوری و قابلیت استفاده از آن در راستای گیاه‌پالایی خاک‌های متأثر از املاح می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: شوری، گیاه‌پالایی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی، همزیستی میکوریزی

خدابنده‌لو م.، امانی‌فر س.، محسنی‌فرد ا.، عسکری م. ص. ۱۳۹۸. بررسی کارایی همزیستی قارچ میکوریز آربوسکولار (*Rhizophagus intraradices*) و قارچ ریشه‌زی *Piriformospora indica* تحت تنش شوری در شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.). تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۷. شماره ۳. صفحه: ۴۰-۵۳.

۱-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۲-استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان (مکاتبه کننده)
۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
* پست الکترونیک: amanifar@znu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

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 (Ashraf, 2002). استفاده از گیاهان در اصلاح خاک‌های شور و یا سدیمی و بهره‌برداری از آن‌ها 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 مؤثر و هم‌چنین موجب درآمدزایی برای کشاورزان فقیر خواهد بود (Rabhi *et al*., 2015). گیاه شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* گیاهی چند ساله از خانواده بقولات و یکی از گونه‌های گیاهی شورپسند شناخته شده در ایران می‌باشد (Akhani & Ghorbanli, 1993). شیرین‌بیان یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی بومی ایران بوده که به میزان قابل توجهی از آن سالیانه صادر می‌شود. ماده اصلی این گونه، ترکیب ساپونین تری‌ترپنوئیدی به نام گلیسیریزین بوده که شیرینی آن ۳۰ تا ۵۰ برابر ساکارز است. این ترکیب در ریشه و ریزوم تجمع می‌یابد و مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات می‌باشد. معمولاً کشت این گیاه در آسیا برای بهره‌برداری از ریشه آن برای مقاصد دارویی از یک طرف و از طرف دیگر به عنوان یک منبع علوفه برای دام استفاده می‌شود. رویکرد زیست-پالایی رویشی تحت عنوان اصلاح خاک‌های شور از طریق کشت گونه‌های تجمع دهنده نمک به منظور تسهیل در رشد محصولات کشاورزی با ارزش اقتصادی بیش‌تر پس از آن تعریف شده است. علاوه بر این، زیست توده هوایی برداشت شده از این گونه‌های گیاهی می‌تواند به عنوان خوراک دام استفاده شود (Kushiev *et al*., 2005).

به غیر از سازوکارهای ذاتی گیاه برای مقابله با تنش شوری، گیاهان می‌توانند در تعامل با ریزجاندارهای مفید خاک مانند قارچ‌های میکوریزآربوسکولار[1] (AM) بر اثرات سوء شوری غلبه کنند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که همزیستی AM می‌تواند تنش ناشی از نمک را بکاهد (Porcel *et al*., 2012). قارچ‌های AM از جمله *Rhizophagus intraradices* رابطه همزیستی با ریشه گستره وسیعی از گیاهان آوندی دارند و تأثیر مثبت این قارچ بر گیاهان مختلف طی تحقیقات متعددی نشان داده شده است (Karagiannidis *et al*., 2012). این قارچ‌ها با افزایش سرعت جذب عناصر کم‌تحرک قادر هستند تغذیه گیاه میزبان را در شرایط کمبود عناصر غذایی خاک بهبود بخشیده و به این ترتیب بر مؤلفه‌های رشد و عملکرد گیاه تأثیر قابل توجهی داشته باشند (Asghari *et al*., 2005). تحقیقات نشان می‌دهد استفاده از قارچ‌های میکوریزی سبب افزایش سرعت رشد، افزایش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان دارویی می‌شود. افزایش تحمل به شوری گیاهان دارای همزیست عمدتاً به جذب کارآمدتر عناصر غذایی و حفظ تعادل یونی، بهبود جذب آب و حمایت از عملکرد آنزیم‌ها نسبت داده می‌شود که در نهایت منجر به پایداری غشاها و حفظ رشد طبیعی گیاه می‌شود (Beltrano *et al*., 2013). قارچ اندوفیت ریشه‌زی *Piriformospora indica* محرک رشد گیاه بوده و سبب القای مقاومت در گیاه میزبان تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود. این قارچ از شاخه بازیدیومایکوتا[2] و متعلق به خانواده سباسیناسه[3] می‌باشد و دارای ویژگی‌هایی مشابه قارچ‌های AM است (Varma *et al*., 2001). علاوه بر این در مقایسه با قارچ‌های میکوریزی که همراه با میزبان رشد می‌کنند این قارچ توانایی رشد در غیاب میزبان در محیط کشت و قابل کشت بودن در محیط درون شیشه‌ای را دارد. هیف‌های این قارچ در سطح ریشه و درون سلول‌های لایه خارجی ریشه گسترش می‌یابند ولی همانند قارچ‌های AM، آربوسکول ندارند (Varma *et al*., 1999). افزایش زیست‌توده و عملکرد گیاه میزبان در گیاهان دارای همزیست *P. indica* تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی در مطالعات متعدد نشان داده شده است. این قارچ از طریق افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا اثر مثبت خود را به‌ویژه تحت خشکی در افزایش زیست‌توده گیاهی در گیاه میزبان نشان می-دهد (Baltruschat *et al*., 2008). افزایش جذب مواد مغذی و انتقال آن، افزایش بهره‌وری فتوسنتز و تعدیل

1. Arbuscular mycorrhiza (AM)

2. Basidiomycota
3. Sebacinaceae

www.SID.ir

Archive of SID

هورمون‌های گیاهی دخیل در رشد و توسعه گیاهی از جمله دلایل مطرح شده در ارتباط با اثر این قارچ می‌باشند (Oelmüller *et al*., 2009). دامنه وسیعی از گیاهان قابلیت برقراری رابطه همزیستی با این قارچ را نشان داده‌اند و بسیار محتمل است که *P.indica* از سازوکارهای عمومی و نه اختصاصی در برقراری رابطه با گیاه میزبان تبعیت می‌کند (Qiang *et al*., 2012). هدف از این مطالعه ارزیابی توان قارچ‌های *P. indica* و *R. intraradices* در حمایت از گیاه میزبان و تأثیر آن‌ها بر برخی ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی شیرین‌بیان تحت سطوح مختلف شوری خاک می‌باشد. در این مطالعه سعی شده فرضیه اثر قارچ بر افزایش مقاومت گیاه شیرین‌بیان در شرایط شوری بررسی شود.

مواد و روش‌ها

خاک مورد نظر برای انجام این آزمایش از لایه سطحی و عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری تهیه شد. بعد از هوا خشک کردن و عبور از الک دو میلی‌متری، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل بافت (به روش هیدرومتر)، قابلیت هدایت الکتریکی در گل اشباع (ECe)، درصد کربن آلی به روش والکلی-بلک، مقدار پتاسیم قابل جذب (با عصاره‌گیر استات آمونیوم)، مقدار فسفر قابل جذب (با عصاره‌گیر بی‌کربنات سدیم) و رطوبت ظرفیت مزرعه با دستگاه صفحه‌های فشار تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورداستفاده

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil used

Texture	pH	ECe	Organic carbon	P	K	Field capacity
		($dS\ m^{-1}$)	(%)	($mg\ Kg^{-1}$)		(%)
Sandy clay loam	7.7	0.61	0.48	7.5	296	18.65

خاک مورد استفاده به وسیله اتوکلاو استریل شده (دو روز متوالی و هر بار به مدت یک ساعت) و در گلدان‌های پلاستیکی بدون زهکش (ضدعفونی شده با اتانول) به میزان دو کیلوگرم ریخته شد. ضدعفونی سطحی بذر های شیرین‌بیان با استفاده از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۶۰ ثانیه انجام شد و سپس بذرها به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفتند و به دفعات با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. برای برطرف کردن خواب بذر از تیمار آب جوش به مدت دو دقیقه استفاده شد و بذور قبل از کشت جوانه‌دار شدند. برای تلقیح با قارچ *R. intraradices*، مایه تلقیح قارچ شامل اندام‌های قارچی و قطعات ریشه‌های کلونیزه شده و کلونیزه نشده به همراه خاک به میزان ۴۰ گرم با پتانسیل ۲۳ اسپور در هر گرم مایه تلقیح به ازای هر گلدان به خاک بستر اضافه شد. در مورد گیاهان تلقیح نشده، همان مقدار بستر تکثیر قارچ با استفاده از اتوکلاو استریل و اضافه شد. جدایه قارچ *P. indica* (جدایه قارچ از گروه زیست‌شناسی دانشگاه مراغه تهیه شد) در محیط جامد کفر[1] به مدت یک ماه کشت شد (Hill & Kafer, 2001). اندام‌های قارچی با خراشیدن سطح محیط کشت جداسازی و سوسپانسیون اسپور قارچ در آب استریل حاوی توئین تهیه شد و بذرهای جوانه‌دار شیرین‌بیان در سوسپانسیون تهیه شده با جمعیت حدود ۵×۱۰^{۵} اسپور قارچ *P. indica* در یک میلی‌لیتر (شمارش اسپورها با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد) به مدت دو ساعت (بر روی شیکر دورانی) غوطه‌ور شدند. در تیمارهای تلقیح نشده، بذرهای جوانه‌دار در آب استریل غوطه‌ور شدند. بذرهای جوانه‌دار در گلدان‌ها کشت شدند و آبیاری برای تمام تیمارها در حد ظرفیت مزرعه با آب مقطر به مدت ۳۰ روز انجام شد و پس از آن سطوح شوری شامل بدون شوری، چهار، هشت، ۱۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر با استفاده از نمک کلرید سدیم به تدریج در مدت هشت روز به همراه آب آبیاری در خاک گلدان‌ها اعمال شد. برای دست یافتن به شوری-های مورد نظر، طی آزمایشی مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم در محدوده ۰/۲ تا دو گرم (با فواصل ۰/۲ گرم) در

1. Kaefer medium

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار آب مقطر لازم برای تهیه گل اشباع حل و به نمونه‌های ۱۰۰ گرمی خاک خشک مورد استفاده اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره گل اشباع تعیین شد. نموداری بین هدایت‌های الکتریکی اندازه‌گیری شده و مقادیر نمک اضافه شده به خاک رسم شد و مقادیر نمک مورد نیاز برای رسیدن به شوری‌های چهار، هشت، ۱۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر با استفاده از معادله رگرسیونی خطی محاسبه شد. در پایان دوره کشت مقدار متوسط شوری خاک در سطوح مورد نظر ۳/۷۸، ۷/۶۲، ۱۱/۵۸ و ۱۵/۶۳ دسی زیمنس بر متر به‌دست آمد که به شوری‌های هدف نزدیک بود. پس از اعمال تیمارها نیز گیاهان با آب مقطر در حد ظرفیت مزرعه به مدت ۴۰ روز آبیاری شدند. این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و دمای ۵±۲۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای ارزیابی درصد کلونیزاسیون قارچی حدود یک گرم از ریشه‌های ظریف و ریز از هر گلدان جدا و پس از شستشو با آب با استفاده از تریپان-بلو[1] رنگ‌آمیزی شدند (Phillips & Hayman, 1970). ارزیابی ریشه‌ها با استفاده از میکروسکپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ X انجام و با تقسیم تعداد قطعات ریشه کلونیزه شده به تعداد کل قطعات بررسی شده (برحسب درصد) درصد کلونیزاسیون محاسبه شد. پس از برداشت برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی در بخش هوایی و ریشه گیاه به شرح زیر اندازه‌گیری شدند: شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه SPAD اندازه‌گیری شد و برای سنجش وزن خشک نمونه‌ها، ابتدا بخش هوایی هر گیاه از ریشه جدا شده و وزن خشک بخش‌هوایی و ریشه گیاه پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت درون آون (در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت[2] غشاء پلاسمایی نمونه‌های برگ 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 شد. 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 ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (EC2) و شاخص پایداری غشاء با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Dionisio-Sese & Tobita, 1998):

$$EL=EC1/EC2\times100 \quad (1)$$

هضم نمونه‌ها به روش هضم تر با استفاده از سولفوسالیسیلیک اسید انجام شد. میزان فسفر با روش رنگ‌سنجی وانادات-مولیبدات و مقدار سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم‌فتومتر اندازه‌گیری شد. شاخص تحمل[3] (Ti) برای گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده از تقسیم وزن خشک کل گیاه در هر سطح شوری به وزن خشک گیاه در سطح بدون شوری بدست آمد که بصورت درصد محاسبه شد (Al-Khaliel, 2010). هم‌چنین، کارایی مصرف عناصر[4] از تقسیم وزن خشک بخش هوایی به مقدار عناصر (برحسب درصد) بدست آمد (Porras-Soriano *et al*., 2009). این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با عوامل شوری خاک (بدون شوری (S0)، چهار (S1)، هشت (S2)، ۱۲ (S3) و ۱۶ (S4) دسی زیمنس بر متر) و همزیست قارچی (تلقیح نشده (NI)، تلقیح شده با *Piriformospora indica* (Pi) و یا تلقیح شده با *Rhizophagus intraradices* (Ri)) با سه تکرار انجام شد و تحلیل داده‌ها با استفاده از مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال $p\leq0/05$ در محیط نرم افزار SPSS انجام شد. هم‌چنین رسم نمودارها با نرم افزار Excel 2010 انجام گرفت.

نتایج و بحث

حضور قارچ در ریشه

ریشه‌های گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با قارچ پس از رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان‌بلو مورد مطالعه میکروسکپی قرار گرفتند و کلونیزاسیون موفقیت‌آمیز قارچ آربوسکولار در سلول‌های پوست ریشه شیرین‌بیان تأیید شد و در گیاهان تلقیح نشده هیچ کلونیزاسیونی مشاهده نشد. حضور قارچ *P.indica* نیز با حضور کلامیدوسپور و هیف قارچی در سلول‌های پوست ریشه

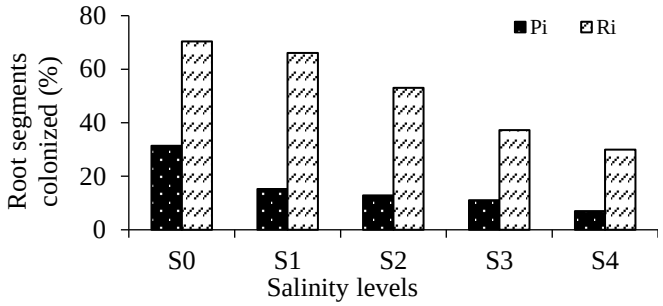
2.Trypan blue
2. Electrolyte leakage

3. Tolerance index
4. Nutrient utilization efficiency

www.SID.ir

Archive of SID

تأیید گردید. قارچ Ri به ویژه در سطوح شاهد و S1 بطور قابل توجهی در پوست ریشه گیاهان تلقیح شده حضور داشت و شدت کلونیزاسیون ریشه با هر دو قارچ با افزایش سطوح شوری کاهش نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱- درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها با قارچ *P. indica* (Pi) و *R. intraradices* (Ri) تحت سطوح مختلف شوری

Figure 1. Root colonization percentage of inoculated plants with *P. indica* (Pi) or *R. intraradices* (Ri) under salinity levels.

صفات رشدی و فیزیولوژیکی

اثرهای اصلی شوری و قارچ و برهم‌کنش آن‌ها بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). تنش شوری موجب کاهش وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها در گیاهان با یا بدون تلقیح شد و گیاهان تلقیح شده با قارچ Ri بیش‌ترین وزن خشک ریشه را در تمام سطوح شوری نشان دادند. کم‌ترین وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها در سطوح شوری S1، S2، S3 و S4 متعلق به گیاهان تلقیح نشده و گیاهان تلقیح شده با Pi بود. Pi سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها در سطح S0 شد ولی در سایر سطوح شوری از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین گیاهان تلقیح نشده و گیاهان تلقیح شده با Pi مشاهده نشد (جدول ۲). همانطور که در جدول ۲ مشهود است، اثرهای اصلی شوری و قارچ بر طول ریشه و ارتفاع بخش هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی اثر متقابل این دو تیمار معنی‌دار نبود. تنش شوری باعث کاهش طول ریشه و ارتفاع بخش هوایی شد و گیاهان دارای همزیست قارچی بطور معنی‌داری ارتفاع بخش هوایی و طول ریشه بیش‌تری نسبت به گیاهان تلقیح نشده داشتند (جدول ۳). اثر اصلی شوری بر نسبت بخش هوایی به ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی اثر اصلی قارچ و اثر متقابل شوری و قارچ بر این شاخص معنی‌دار نبود (جدول ۲) و تنها در سطح S4 شوری نسبت بخش هوایی به ریشه کاهش نشان داد (جدول ۳). طول ریشه اهمیت خاصی در پاسخ گیاهان به تنش شوری دارد، زیرا ریشه‌ها در تماس مستقیم با خاک می‌باشند و آب را از خاک برای اندام هوایی فراهم می‌کنند (Jamil & Rha, 2004). پژوهش حاضر، کاهش ارتفاع بخش هوایی و ریشه را تحت تنش شوری نشان داد (جدول ۳). ارتفاع بیش‌تر در گیاهان نعنای دارای همزیستی قارچ میکوریزی در مقایسه با شاهد بدون تلقیح گزارش شده است و به افزایش جذب آب و عناصر غذایی و افزایش فتوسنتز ارتباط داده شده است (Gupta *et al.*, 2002). افزایش معنی‌دار مقدار ماده خشک گیاه در حضور قارچ میکوریز آربوسکولار می‌تواند به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن و فسفر و یا بهبود جذب آب باشد. هم‌چنین قارچ‌های میکوریز با افزایش سطح جذب ریشه‌ها و همچنین آزادسازی اسیدها و اسیدی کردن محیط ریزوسفر، دسترسی عناصر کم تحرک را برای گیاه میزبان افزایش می‌دهند (Miyasaka & Habte, 2001) که منجر به تولید و تجمع ماده خشک بیش‌تری در گیاه می‌گردد. همانند قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، همزیستی قارچ *P.indica* با تعداد زیادی از گیاهان، منجر به افزایش زیست توده ریشه و بخش هوایی می‌شود و رشد رویشی و تولید اولیه گل و بذر را افزایش می‌دهد. در آزمایشی نشان داده شد که در گیاه ذرت کلونیزه شده با قارچ *P.indica*، طول ریشه و تعداد ریشه در مقایسه با گیاهان کلونیزه نشده افزایش چشم‌گیری داشت (Varma *et al.*, 2001). سیرنبرگ و همکاران (Sirrenberg *et al.*, 2007) اظهار داشتند که

www.SID.ir

Archive of SID

بخش عمده‌ای از افزایش رشد گیاه تحت تأثیر قارچ *P. indica* است که به احتمال زیاد به‌دلیل بهبود بهره‌برداری از خاک در نتیجه تولید اکسین و متعاقب آن تغییر در ساختار ریشه‌ها و افزایش انشعابات ریشه‌ها می‌باشد. برخی محققان پیشنهاد کردند که اثر محرک رشدی قارچ *P. indica* از طریق افزایش ساخت آنزیم-هایی نظیر نیترات ردوکتاز و گلوکان واتر دی‌کیناز است که درگیر در متابولیسم نیترات و نشاسته می‌باشند (Shermati *et al*., 2008). به نظر می‌رسد بالا بودن وزن خشک گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده عمدتاً به دلیل تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین می‌باشد و همین امر سبب بهبود تغذیه و تقویت رشد گیاهان تلقیح شده می‌شود (Sirrenberg *et al*., 2007). بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۲، نسبت بخش هوایی به ریشه بطور معنی‌داری تحت تأثیر قارچ و اثر متقابل شوری و قارچ قرار نگرفت ولی اثر اصلی شوری بر این پارامتر معنی‌دار بود ($p<0.01$)، بطوریکه شوری در سطح S4 منجر به کاهش معنی‌دار این نسبت شد (جدول ۳). همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود شاخص تحمل در گیاهان تلقیح شده با قارچ Ri در تمام سطوح شوری بالاتر از گیاهان تلقیح نشده و تلقیح شده با Pi می‌باشد و تلقیح با قارچ Pi تأثیری بر شاخص تحمل گیاه میزبان نشان نداد. با این حال در گیاهان با یا بدون همزیست با افزایش سطوح شوری شاخص تحمل روند کاهشی داشت. شدت این کاهش برای گیاهان تلقیح شده با قارچ Ri بیش از دو تیمار دیگر بود که نشان دهنده شدت وابستگی میکوریزی برای گیاه میزبان می‌باشد چرا که کلونیزاسیون قارچی ریشه‌ها با افزایش شوری کاهش یافته است.

جدول ۲- وزن خشک و طول بخش هوایی و ریشه، نسبت بخش هوایی به ریشه، شاخص کلروفیل و نشت الکترولیت شیرین‌بیان تلقیح نشده و تلقیح شده با قارچ‌های *P. indica* و یا *R. intraradices* در سطوح مختلف شوری

Table 2. Shoot and root dry weight, shoot and root length, shoot to root ratio, chlorophyll index and electrolyte leakage of *Glycyrrhiza glabra* L. non-inoculated or inoculated with *R. intraradices* or *P.indica* at different levels of salinity

Fungi	Salinity levels	Shoot DW	Root DW	Shoot/ Root	Shoot length	Root length	Electrolyte leakage	Chlorophyll index
		g pot^{-1}			cm		%	
NI	S0	1.216^{g}	0.96^{g}	1.26^{bcd}	8.43^{de}	20.8^{cd}	11.04^{cdef}	43.50^{d}
	S1	1.136^{gh}	0.84^{ghi}	1.35^{abc}	8.00^{e}	18.4^{def}	12.17^{bcde}	42.16^{d}
	S2	1.043^{ghi}	0.723^{i}	1.43^{ab}	7.15^{ef}	17.5^{efg}	13.05^{abcd}	33.63^{f}
	S3	0.89^{i}	0.676^{ij}	1.31^{abcd}	6.80^{ef}	16.6^{fg}	14.71^{ab}	24.46^{h}
	S4	0.6^{j}	0.513^{k}	1.17^{d}	6.16^{f}	13.18^{h}	15.65^{a}	12.96^{j}
Pi	S0	1.436^{ef}	1.186^{f}	1.21^{bcd}	9.84^{d}	22.46^{bc}	$9.62d^{ef}$	45.53^{c}
	S1	$1.23f^{g}$	0.933^{gh}	1.31^{abcd}	8.44^{de}	20.4^{cde}	10.41^{cde}	44.03^{cd}
	S2	1.09^{ghi}	0.823^{ghi}	1.32^{abcd}	7.83^{ef}	18.46^{def}	12.14^{bcde}	37.33^{e}
	S3	0.98^{hi}	0.79^{hi}	1.24^{bcd}	7.46^{ef}	17.96^{defg}	13.02^{abcd}	25.68^{h}
	S4	0.656^{j}	0.553^{jk}	1.19^{d}	6.80^{ef}	15^{h}	13.58^{abc}	14.44^{j}
Ri	S0	4.376^{a}	3.206^{a}	1.36^{ab}	17.50^{ab}	29.3^{a}	6.6^{g}	60.00^{a}
	S1	3.6^{b}	2.993^{b}	1.20^{cd}	18.16^{a}	30.5^{a}	8.89^{f}	58.23^{a}
	S2	2.683^{c}	2.06^{c}	1.3^{abcd}	16.33^{b}	24.7^{b}	10.51^{cde}	49.63^{b}
	S3	2.15^{d}	1.586^{d}	1.35^{abc}	17.66^{ab}	25^{b}	11.99^{bcde}	38.84^{e}
	S4	1.643^{e}	1.36^{e}	1.21^{bcd}	14.25^{c}	23.7^{b}	12.50^{bcde}	21.19^{i}
				F value				
Fungi		1114.6^{**}	1324.06^{**}	1.549^{ns}	495.45^{**}	123.61^{**}	13.158^{**}	2261.76^{**}
Salinity		167.4^{**}	184.58^{**}	4.915^{**}	13.21^{**}	20.88^{**}	11.821^{**}	4548.47^{**}
Salinity×Fungi		46.9^{**}	53.38^{**}	2.074^{ns}	1.66^{ns}	1.447^{ns}	0.224^{ns}	31.12^{**}

- ns و ** به ترتیب عبارتند از غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ درصد. حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (آزمون دانکن، P <۰/۰۵). S0، S1، S2، S3 و S4 به ترتیب عبارتند از سطوح بدون شوری، چهار، هشت، ۱۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر. NI، Ri و Pi به ترتیب عبارتند از گیاهان تلقیح نشده، تلقیح شده با قارچ *R. intraradices* و قارچ *P. indica*.

- ns: non-significant. ** Significant at 0.01 probability level. Values labeled with the different letters are significantly different ($p<0.05$) according to the Duncan test. S0, S1, S2, S3 and S4 are non-saline, 4, 8, 12 and 16 dS.m^{-1}, respectively. NI, Ri and Pi are non-inoculated, *R.intraradices* incoculated and *P.indica* inoculated plants.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین‌های نسبت بخش هوایی به ریشه، طول ریشه و بخش هوایی و نشت الکترولیت در گیاه شیرین بیان تحت سطوح مختلف شوری و تلقیح با قارچ

Table 3. Mean comparisons of shoot to root ratio, shoot and root length and electrolyte leakage of *Glycyrrhiza glabra* L. at different levels of salinity and fungal inoculation

Main effect		Shoot/Root	Shoot Length	Root length	Electrolyte Leakage (%)
Salinity levels	S0	1.28^{a}	11.92^{a}	24.2^{a}	9.11^{d}
	S1	1.29^{a}	11.53^{ab}	23.1^{a}	10.49^{cd}
	S2	1.35^{a}	10.44^{bc}	20.21^{b}	11.90^{bc}
	S3	1.30^{a}	10.64^{c}	19.62^{b}	13.24^{ab}
	S4	1.19^{b}	9.07^{d}	17.61^{c}	13.91^{a}
Fungi	NI	1.31^{a}	7.31^{c}	17.29^{c}	13.33^{a}
	Ri	1.26^{a}	16.78^{a}	26.69^{a}	10.11^{c}
	Pi	1.28^{a}	8.07^{b}	18.85^{b}	11.75^{b}

- حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (آزمون دانکن، P<۰/۰۵). S0، S1، S2، S3 و S4 به ترتیب عبارتند از سطوح بدون شوری، چهار، هشت، ۱۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر. NI، Ri و Pi به ترتیب عبارتند از گیاهان تلقیح نشده، تلقیح شده با قارچ *R. intraradices* و قارچ *P. indica*.

-Values labeled with the different letters are significantly different ($p<0.05$) according to the Duncan test. S0, S1, S2, S3 and S4 are non-saline, 4, 8, 12 and 16 $dS.m^{-1}$, respectively. NI, Ri and Pi are non-inoculated, *R.intraradices* incoculated and *P.indica* inoculated plants.

اثرهای اصلی شوری و قارچ بر میزان نشت الکترولیت بخش هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی اثر متقابل این دو تیمار بر این پارامتر معنی‌دار نبود (جدول ۲). تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار مقدار نشت الکترولیت برگ‌ها گردید و کم‌ترین میزان نشت الکترولیت متعلق به گیاهان تلقیح یافته با قارچ Ri بود (جدول ۳). نشت الکترون‌ها از زنجیره انتقال الکترون به O_2 در طی متابولیسم هوازی، منجر به تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن[1](ROS) نظیر سوپراکسید می‌شود. این نوع اکسیژن سمی بسیار فعال بوده و در صورت اختلال در سازوکارهای محافظتی سلول، با وارد کردن آسیب اکسیداتیو سبب اختلال در متابولیسم سلولی می‌شود که یکی از موارد آسیب اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌باشد. به همین دلیل افزایش میزان پراکسیداسیون غشاءها به عنوان شاخصی برای افزایش تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (Lutts *et al*., 1996). مطالعات نشان داده است که غلظت بالای نمک در سلول‌ها با وارد کردن آسیب اکسیداتیو به واسطه تولید گونه‌های فعال اکسیژن منجر به سمیت سلولی می‌گردد (He *et al*., 2007). به‌نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزی نقش مهمی در تنظیم واکنش‌های اکسیداتیو و دفاع آنتی اکسیدانی در گیاه میزبان تحت تنش ایفا می‌کنند که با کاهش تجمع ROS و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی صورت می‌پذیرد. پراکسیداسیون لیپیدی پایین‌تر و استحکام بالاتر غشاء پلاسمایی در گیاهان دارای همزیست AM در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح با قارچ توسط برخی محققان گزارش شده است (Evelin *et al*., 2012). اولین و همکاران (Evelin *et al*., 2012) کاهش میزان نشت الکترولیت در برگ گیاهان میکوریزی را با تغییرات القاء شده در اثر تغذیه فسفری این گیاهان مرتبط دانسته‌اند که آثار آن در سطح فسفولیپیدهای غشاء و تغییر در خواص نفوذپذیری غشاء نمایان می‌گردد. هم‌چنین در گیاهان میکوریزی با توجه به تغذیه مؤثر فسفر و افزایش پایداری غشاها از جمله غشاهای واکوئلی، فرضیه تأثیر مثبت قارچ بر افزایش کارایی کده‌بندی[2] سدیم در واکوئل‌ها و کاهش غلظت سیتوپلاسمی آن در شرایط تنش شوری قابل طرح است (Cantrell & Linderman, 2001). اثرهای اصلی شوری، قارچ و برهمکنش آنها بر شاخص کلروفیل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). تنش شوری موجب کاهش شاخص کلروفیل در گیاهان با یا بدون تلقیح شد (جدول ۲). در تمام سطوح شوری گیاهان دارای همزیست AM بطور معنی‌داری کلروفیل بیش‌تری نسبت به گیاهان تلقیح شده با قارچ Pi و گیاهان تلقیح نشده داشتند و کم‌ترین مقدار کلروفیل در تمام سطوح شوری متعلق به گیاهان تلقیح نشده بود. گیاهان تلقیح شده با Pi در سطوح شوری S0 و S2 بطور معنی‌داری شاخص کلروفیل بالاتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده نشان دادند ولی در سطح شوری S1 و S3 و S4 از نظر آماری تفاوت معنی-

1. Reactive oxygen species (ROS)

2. Compartmentalization

www.SID.ir

Archive of SID

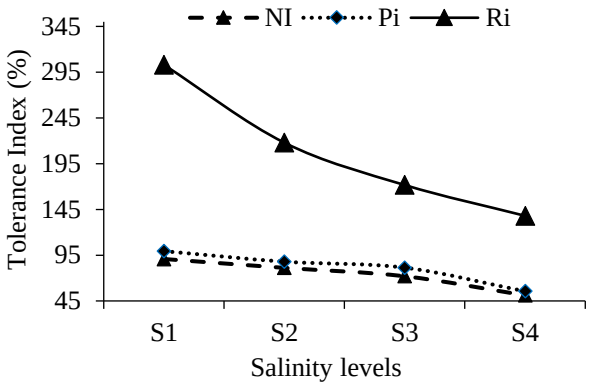
داری بین این دو تیمار مشاهده نشد (جدول ۲). یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل‌ها تحت تنش شوری، افزایش تولید ROS می‌باشد. هم‌چنین اثر مستقیم سمیّت یونی و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز از دیگر عوامل کاهش میزان رنگیزه‌ها می‌باشند (Zhang *et al*., 2007). به نظر می‌رسد اختلال در تغذیه معدنی گیاه تحت تنش شوری موجب اختلال در بیوسنتز مولکول-هایی هم‌چون کلروفیل می‌شود. تلقیح با قارچ میکوریز آربوسکولار سبب افزایش میزان عدد کلروفیل متر در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده گردید. وو و شیا (Wu & Xia, 2006) گزارش کردند که محتوای کلروفیل در گیاهچه‌های تانجرین[1] تلقیح شده با قارچ میکوریزی تحت شرایط آبیاری ۲۳ درصد بیش‌تر از گیاهچه‌های بدون قارچ بود. به‌طورکلی، بهبود شرایط تغذیه‌ای و محیطی باعث افزایش توان گیاه در تولید کلروفیل در برگ‌ها و تولید انرژی بیش‌تر می‌شود. افزایش میزان کلروفیل در اثر تلقیح با میکوریز می‌تواند ناشی از بهبود جذب فسفر از خاک توسط گیاه نیز باشد. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، اثرهای اصلی شوری، قارچ و برهم‌کنش آن‌ها بر نسبت سدیم به پتاسیم ریشه و بخش هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تنش شوری باعث افزایش Na^+/K^+ بخش هوایی و ریشه گیاهان با یا بدون تلقیح گردید. بیش‌ترین نسبت Na^+/K^+ بخش هوایی متعلق به گیاهان تلقیح نشده در سطح شوری ۱۶ دسی زیمنس بر متر بود که تفاوت معنی‌داری با گیاهان تیمار Pi نداشت. در سطوح شوری S1، S2، S3 و S4 گیاهان تلقیح شده با قارچ Ri نسبت Na^+/K^+ کم‌تری نسبت به گیاهان تلقیح نشده و تلقیح شده با Pi نشان دادند ($p<0.05$). هم‌چنین تلقیح با قارچ Pi در هیچ یک از سطوح شوری اثر معنی‌داری بر این نسبت در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده نداشت. نسبت Na^+/K^+ ریشه گیاهان تلقیح شده با Ri به غیر از سطح شاهد شوری، در سایر سطوح به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) کم‌تر از گیاهان تلقیح نشده بود (جدول ۴). نسبت سدیم به پتاسیم از عوامل تعیین‌کننده حساسیت به شوری و بیانگر میزان جذب پتاسیم در طی بالارفتن غلظت سدیم در محیط ریشه است. جذب کم‌تر پتاسیم نشان از ممانعت تنش شوری از جذب پتاسیم توسط گیاه دارد. گیاهان تلقیح نشده تا سطح S2 کاهش معنی‌داری در وزن خشک بخش هوایی و تا سطح S1 در وزن خشک ریشه‌ها نشان ندادند (جدول ۲). ولی همانطور که نتایج نشان می‌دهد نسبت سدیم به پتاسیم در این گیاهان افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد که موجب افت وزن خشک نشده است. یکی از فرآیندهای سازش اسمزی برای گیاهان هالوفیت یا گلیکوفایت‌های متحمل به شوری، تحمل به غلظت‌های بالای سدیم در بافت برگ است. اجرای موفق فرآیندهای سازش اسمزی توسط گیاه موجب تسهیل تنظیم تورژسانس گشته و در نتیجه آن سبب توسعه سلول می‌شود (Hasegawa *et al*., 2000). گیاهان شورپسند ظرفیت قابل توجه برای تجمع یون‌های غیرآلی، عمدتاً Na^+ و K^+ دارند و هم‌چنین تحمل بالایی به یون‌های انباشته شده در بافت‌ها نشان می‌دهند. از آنجا که یون‌هایی مثل Na^+ و Cl^- در غلظت‌های مورد نیاز برای تنظیم اسمزی سمّی می‌باشند، فرضیه کده‌بندی این یون‌ها در واکوئل‌ها مطرح می‌شود که متعاقب آن غلظت این یون‌ها در سیتوپلاسم در محدودهٔ قابل تحمل حفظ خواهد شد. با توجه به مطالب ذکر شده و پارامترهای رشدی فرضیه کده‌بندی مؤثر سدیم در سلول‌های گیاه قابل طرح می‌باشد. نتایج حاضر حاکی از کاهش نسبت Na^+/K^+ در بخش هوایی و ریشه‌های گیاه تلقیح شده با قارچ Ri می‌باشد. محققان اظهار داشته‌اند که همزیستی میکوریزی می‌تواند با کمک به گیاه میزبان در جذب پتاسیم از طریق فعال‌سازی کانال‌های انتقال‌دهنده پتاسیم[2] به افزایش نسبت K^+/Na^+ منجر شود (Chinnusamy *et al*., 2005). نتایج مشابه توسط گیری و همکاران (Giri *et al*., 2007) در گیاه کرت[3] گزارش شده است. برخی محققان از جمله الکراکی (Alkaraki, 2006)، غلظت‌های بالایی از سدیم را در ریشه‌های گیاهان میکوریزی بدون انتقال به بخش هوایی گیاهان مشاهده کردند که می‌تواند نشان دهنده توقیف سدیم در هیف‌های درون ریشه‌ای قارچ‌های میکوریزی یا بصورت کده‌بندی شده در واکوئل‌های سلول‌های گیاه میزبان باشد.

1. *Citrus tangerine*

2. High affinity K^+ transporters
3. *Acacia nilotica*

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- شاخص تحمل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P.indica* (Pi) و قارچ *R.intraradices* (Ri) و گیاهان تلقیح نشده (NI) تحت سطوح مختلف شوری

Figure 2. Tolerance index of inoculated plants with *P. indica* (Pi) or *R. intraradices* (Ri) and non-inoculated plants (NM) under salinity levels

جدول ۴- محتوای فسفر، پتاسیم و سدیم بخش هوایی و نسبت سدیم به پتاسیم بخش هوایی و ریشه گیاه شیرین‌بیان تلقیح نشده و تلقیح شده با قارچ‌های *P.indica* و *R. intraradices* در سطوح مختلف شوری

Table 4. Shoot K, P and Na content, Na^+/K^+ ratio of shoot and root of *Glycyrrhiza glabra* L. non-inoculated or inoculated with *R. intraradices* or *P.indica* at different levels of salinity

Fungi	Salinity Levels	Shoot K content (mg pot^{-1})	Shoot P Content (mg pot^{-1})	Shoot Na content (mg pot^{-1})	Na+:K+ Shoot	Na+:K+ Root
NI	S0	22.90^{gf}	2.72^{fg}	3.30^{i}	0.14^{h}	0.54^{gh}
	S1	21.08^{gf}	2.55^{fg}	23.91^{g}	1.15^{de}	1.60^{e}
	S2	19.05^{gf}	2.26^{ghi}	31.61^{ef}	1.67^{c}	2.35^{d}
	S3	15.01^{gf}	1.81^{ghi}	39.94^{cd}	2.66^{ab}	3.23^{ab}
	S4	9.60^{g}	1.21^{i}	28.36^{fg}	2.95^{a}	3.15^{bc}
Pi	S0	28.11^{f}	3.43^{ef}	3.85^{i}	0.13^{h}	0.41^{gh}
	S1	23.60^{gf}	2.92^{fg}	23.12^{g}	0.99^{ef}	1.25^{ef}
	S2	20.68^{gf}	2.36^{fgh}	35.08^{de}	1.70^{c}	2.60^{cd}
	S3	17.36^{gh}	2.02^{ghi}	42.06^{cc}	2.42^{b}	3.37^{a}
	S4	10.88^{g}	1.34^{hi}	30.35^{ef}	2.78^{a}	3.51^{a}
Ri	S0	132.12^{a}	12.24^{a}	10.14^{h}	0.07^{h}	0.163^{h}
	S1	108.83^{b}	9.57^{b}	36.23^{cde}	0.33^{h}	0.590^{g}
	S2	80.34^{c}	6.95^{c}	52.10^{b}	0.65^{g}	0.997^{f}
	S3	62.98^{d}	5.44^{d}	51.77^{b}	0.82^{fg}	1.52^{e}
	S4	45.10^{e}	4.05^{e}	62.97^{a}	1.40^{cd}	2.34^{d}
				F value		
Fungi		366.371^{**}	399.126^{**}	115.846^{**}	262.237^{**}	110.262^{**}
Salinity		35.062^{**}	59.457^{**}	189.883^{**}	372.489^{**}	201.464^{**}
Salinity×Fungi		14.002^{**}	18.829^{**}	9.578^{**}	21.949^{**}	8.302^{**}

- ** عبارت است از معنی‌دار در سطح ۱ درصد. حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (آزمون دانکن، ۰/۰۵ > P). S0، S1، S2، S3 و S4 به ترتیب عبارتند از سطوح بدون شوری، چهار، هشت، ۱۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر. NI، Ri و Pi به ترتیب عبارتند از گیاهان تلقیح نشده، تلقیح شده با قارچ *R. intraradices* و قارچ *P. indica*.

- **: significant at 0.01 probability level. Values labeled with the different letters are significantly different ($p<0.05$) according to the Duncan test. S0, S1, S2, S3 and S4 are non-saline, 4, 8, 12 and 16 $dS.m^{-1}$, respectively. NI, Ri and Pi are non-inoculated, *R.intraradices* incoculated and *P.indica* inoculated plants.

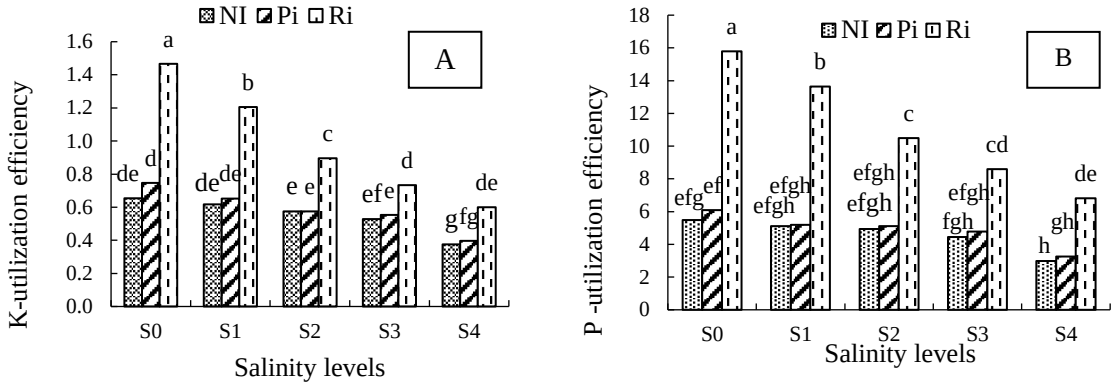
www.SID.ir

Archive of SID

هم‌چنین هامر و همکاران (Hammer *et al*., 2011) مشاهده کردند که قارچ‌های میکوریزی از جذب سدیم از خاک یا انتقال آن به گیاهان جلوگیری می‌کنند. این یافته‌ها حاکی از آن است که قارچ‌های میکوریزی نقش نظارتی بر جذب و یا انتقال سدیم به بخش‌های هوایی گیاه میزبان ایفا می‌کند و به همین دلیل نسبت Na^+/K^+ بیش‌تری در بخش هوایی گیاهان غیرمیکوریزی مشاهده می‌شود. هم‌چنین الکراکی (Alkaraki, 2006) مشاهده کردند که غلظت کم‌تر سدیم در بخش هوایی گیاهان میکوریزی ممکن است با اثر رقت از طریق افزایش رشد توضیح داده شود. در تحقیق حاضر گیاهانی که در معرض شوری قرار دارند جذب پایین‌تری از پتاسیم را نشان می‌دهند و گیاهان تلقیح شده غلظت بالایی از پتاسیم را در بخش هوایی نشان دادند. نتایج مشابه توسط گیری و همکاران (Giri *et al*., 2007) تحت تیمار شوری در کرت میکوریزی گزارش شده است. کاهش جذب پتاسیم در اثر افزایش سطوح سدیم در خاک احتمالا ناشی از رقابت این دو یون در ورود به سلول‌های گیاه می‌باشد (Colla *et al*., 2008). تجمع پتاسیم بالاتر توسط گیاهان میکوریزی یک مکانیسم مفید در خاک‌های شور است که منجر به حفظ نسبت K^+/Na^+بالا و تحت تأثیر قرار دادن تعادل یونی سیتوپلاسم و یا خروج Na^+ از گیاهان می‌گردد (Giri *et al*., 2007). تحت شرایط شوری بالا، غلظت K^+ بالاتر در گیاهان میکوریزی مشاهده شد که با نتایج کولا و همکاران (Colla *et al*., 2008) در کدو سبز و بلترانو و همکاران (Beltrano *et al*., 2013) در فلفل مطابقت دارد. اثر اصلی شوری، قارچ و برهمکنش این دو تیمار بر مقدار سدیم، پتاسیم و فسفر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).گیاهان تلقیح شده با Ri در تمام سطوح شوری مقدار سدیم و فسفر بیش تری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده و تلقیح شده با Pi داشتند. مقدار پتاسیم نیز در گیاهان تلقیح شده با Ri بیش از گیاهان تلقیح نشده و تلقیح شده با Pi در تمام سطوح شوری بود. با افزایش شوری، مقدار پتاسیم و مقدار فسفر با روند مشابه کاهش یافت و گیاهان تلقیح شده با قارچ Ri دارای بالاترین مقدار پتاسیم در مقایسه با دو تیمار قارچی دیگر بودند. افـزایش غلظـت و مقـدار فسـفر در گیاهـان میکوریزی به دلایل مختلف از جمله کاوش حجم بیش‌تری از خاک از طریق گسترش هیف‌های خارج ریشه‌ای قارچ به مناطقی فراتر از منطقه تخلیه فسفر، سطح ویژه بالای هیف‌ها، پـایین بـودن Km (تمایل بالا به سوبسترا) قـارچ نسبت به گیاه و فعالیت زیاد آنزیم فسفاتاز قارچ‌های میکوریزی می‌باشد (Miyasaka & Habte, 2007). در اغلب مطالعات انجام شده در شرایط خاک تأثیر منفی شوری بر غلظت فسفر در بافت‌های گیاهی گزارش شده است. از آنجائی‌که انتقال مواد فتوسنتزی در داخل گیاه به فسفر نیازمند است، لذا کاهش میزان جـذب فسـفر در تنش شوری، می‌تواند منجر به کاهش انتقـال ایـن گونـه مواد به اندام‌هـای رویشـی و در نهایـت کـاهش رشد گیـاه گـردد (Awad *et al*., 1990). بـا توجـه بـه این که فسفر یک عنصر غیرمتحرک است، می‌توان کـاهش جذب آن را به کاهش طول ریشـه ایـن گیـاه در شـرایط شوری نسبت داد (Awad *et al*., 1990). محققان اظهار داشته‌اند که بهبود جذب فسفر توسط قارچ‌های AM در گیاهان رشد کرده در شرایط شور می‌تواند اثر منفی سدیم و کلراید را به وسیله حفظ تمامیت غشاء واکوئل و تسهیل در نفوذپذیری انتخابی غشاء کاهش دهد (Cantrell & Linderman, 2001). تحقیقاتی چندانی در زمینه تغذیه فسفری گیاهان تلقیح شده با قارچ شبه میکوریزی *P. indica* در دست نیست ولی برخی مطالعات انجام یافته نشان‌دهنده تأثیر مثبت قارچ در این زمینه می‌باشند. یاداو و همکاران (Yadav *et al*., 2010) اظهار داشتند که هیف‌های خارج ریشه‌ای قارچ *P. indica* محلی برای جذب فسفات از خاک می‌باشند. آنها بیان ژن‌های *PiPT* که محصول آن انواع پروتئین ناقل فسفات می‌باشد، از هیف‌های خارج ریشه-ای قارچ *P. indica* گزارش کرده‌اند. نتایج تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری بین مقدار فسفر گیاهان تلقیح شده با Pi و گیاهان تلقیح نشده نشان نداد که ممکن است به دلیل درصد کلونیزاسیون پایین و رابطه نه چندان موفقیت‌آمیز این قارچ اندوفیت با گیاه شیرین‌بیان باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- کارایی مصرف پتاسیم (A) و فسفر (B) در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* (Pi) و قارچ *R. intraradices* (Ri) و گیاهان تلقیح نشده (NI) تحت سطوح مختلف شوری. S0، S1، S2، S3 و S4 به ترتیب نشان دهنده سطوح بدون شوری، چهار، هشت، ۱۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر می‌باشند.

Figure 3. K-utilization efficiency (A) and P-utilization efficiency (B) of inoculated plants with *P. indica* (Pi) and *R. intraradices* (Ri) and non-inoculated plants (NM) under salinity levels. S0, S1, S2, S3 and S4 are non-saline, 4, 8, 12 and 16 $dS.m^{-1}$, respectively.

کارایی مصرف عناصر به عنوان ماده خشک تولید شده در واحد عناصر در بافت‌های گیاهی بیان می‌شود (Porras-Soriano *et al*., 2009). گیاهانی با کارایی مصرف عناصر بالاتر، در استفاده و بهره‌برداری از عناصر جذب شده برای تولید ماده خشک موفق‌تر هستند و در مقایسه با گیاهان با کارایی کم‌تر، ماده خشک بیش‌تری تولید می‌کنند (Satter *et al*., 2006). فتوسنتز و سایر فعالیت‌های متابولیک گیاهان وابسته به مقادیر کافی عناصر در گیاهان می‌باشد. در گیاهان با کارایی مصرف عناصر بالاتر، بهره‌برداری از عناصر جذب شده در فرآیندهایی که منجر به رشد سریع‌تر و تخصیص بیش‌تر زیست توده به بخش‌های قابل برداشت می‌شود، بیش‌تر است. با توجه به نقش قارچ‌های AM در تحریک رشد گیاه به طور ویژه از طریق بهبود جذب عناصر، توسعه برگ‌ها و افزایش کارایی مصرف آب، توان گیاهان دارای همزیست برای رسیدن به عملکرد بهتر افزایش می‌یابد (Rai *et al*., 2013). همانطور که در شکل ۳ نیز مشاهده می‌شود کارایی مصرف فسفر و پتاسیم بطور قابل توجهی در گیاهان تلقیح شده با Ri بیش از گیاهان شاهد تلقیح نشده و گیاهان تلقیح شده با Pi است. ولی تفاوت معنی‌داری بین گیاهان شاهد و تلقیح شده با Pi مشاهده نشد ($p<0.05$). این نتایج حاکی از کارایی گیاهان تلقیح شده با قارچ Ri در استفاده از این عناصر می‌باشد که در کلیه سطوح شوری به وضوح قابل مشاهده است. نتایج مشابه تحت تنش شوری در گیاه زیتون میکوریزی شده گزارش شده است (Porras-Soriano *et al*., 2009).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که همزیستی با قارچ میکوریز آربوسکولار *R. intraradices* در شرایط تنش شوری، با افزایش وزن خشک گیاه، افزایش پایداری غشاء، افزایش مقدار فسفر و پتاسیم و کاهش نسبت Na^+/K^+ اثر مثبت قابل توجهی بر گیاه شیرین‌بیان داشت. هم‌چنین نتایج این تحقیق در مورد تلقیح گیاه شیرین‌بیان با قارچ‌های میکوریزی اطلاعات مفید برای تولید این گیاه، با کیفیت بهتر در مناطق شور یا خشک، به عنوان مثال مناطق بیابانی را فراهم می‌کند. بهبود رشد، عملکرد و جذب مواد مغذی در گیاهان شیرین‌بیان در ارتباط با همزیست میکوریز آربوسکولار نشان دهنده توانایی این گیاه در احیای اراضی و مبارزه با بیابان‌زایی می‌باشد، این درحالی است که قارچ *P. indica* در ارتباط با گیاه شورپسند شیرین‌بیان نتیجه قابل قبولی نداشت و به نظر می‌رسد این قارچ کارایی مناسبی تحت شرایط شوری در ارتباط با این گیاه ندارد. نتایج مقدار سدیم بخش هوایی در این مطالعه قابل تأمل است چرا که گیاهان تلقیح شده با *R. intraradices* مقادیر بالایی از سدیم را در بخش هوایی انباشته کرده‌اند که می‌تواند برای اهداف گیاه‌پالایی در خاک‌های شور مورد توجه قرار گیرند.

www.SID.ir

Archive of SID

References

Akhani H., and Ghorbanli M. 1993. A contribution to the halophytic vegetation and flora of Iran. *In*: Lieth H., and Al Masoom A. (Ed.), Towards the Rational Use of High Salinity Tolerant Plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 35–44.

Al-Karaki G. N. 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10(2): 51-54.

Al-Khaliel A. 2010. Effect of salinity stress on mycorrhizal association and growth response of peanut infected by *Glomus mosseae*. *Plant, Soil and Environment*, 56: 318-324.

Asghari H., Marschner P., Smith S., and Smith F. 2005. Growth response of *Atriplex nummularia* to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi at different salinity levels. *Plant and Soil*, 273: 245-256.

Ashraf M. 2002. Exploitation of genetic variation for improvement of salt tolerance in spring wheat. *In*: Ahmad R., and Malik K.A. (Ed.), Prospects for Saline Agriculture. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 113–121.

Awad A., Edwards D., and Campbell L. 1990. Phosphorus enhancement of salt tolerance of tomato. *Crop Science*, 30: 123-128.

Baltruschat H., Fodor J., Harrach B.D., Niemczyk E., Barna B., Gullner G., Janeczko A., Kogel K.H., Schäfer P., and Schwarczinger I. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, 180: 501-510.

Beltrano J., Ruscitti M., Arango M., 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: 123-141.

Cantrell I.C., and Linderman R.G. 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant and Soil*, 233: 269-281.

Chinnusamy V., Jagendorf A., and Zhu J.K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45: 437-448.

Colla G., Rouphael Y., Cardarelli M., Tullio M., Rivera C.M., and Rea E. 2008. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology and Fertility of Soils*, 44: 501-509.

Dionisio-Sese M.L., and Tobita S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135(1): 1-9.

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: 203-217.

Giri B., Kapoor R., and Mukerji K. 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microbial Ecology*, 54: 753-760.

Gupta M., Prasad A., Ram M., and Kumar S. 2002. Effect of the vesicular–arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81: 77-79.

Hammer E.C., Nasr H., Pallon J., Olsson P.A., and Wallander H. 2011. Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. *Mycorrhiza*, 21: 117-129.

Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.K., and Bohnert H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51: 463-499.

He Z., He C., Zhang Z., Zou Z., and Wang H. 2007. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59: 128-133.

Hill T.W., and Kafer E. 2001. Improved protocols for *Aspergillus* minimal medium: trace element and minimal medium salt stock solutions. *Fungal Genetics Reports*, 48: 20-21.

Jamil M., and Rha E.S. 2004. The effect of salinity (NaCl) on the germination and seedling of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Plant Resources*, 7: 226-232.

www.SID.ir

Archive of SID

Karagiannidis N., Thomidis T., Panou-Filotheou E., and Karagiannidou C. 2012. Response of three mint and two oregano species to *Glomus etunicatum* inoculation. *Australian Journal of Crop Science*, 6: 164.

Kushiev H., Noble A.D., Abdullaev I., and Toshbekov U. 2005. Remediation of abandoned saline soils using *Glycyrrhiza glabra*: a study from the hungry steppes of Central Asia. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 3: 102-113.

Lutts S., Kinet J., and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78: 389-398.

Miyasaka S.C., and Habte M. 2001. Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32: 1101-1147.

Nautiyal C.S., Chauhan P.S., DasGupta S.M., Seem K., Varma A., and Staddon W.J. 2010. Tripartite interactions among *Paenibacillus lentimorbus* NRRL B-30488, *Piriformospora indica* DSM 11827, and *Cicer arietinum* L. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26: 1393-1399.

Oelmüller R., Sherameti I., Tripathi S., and Varma A. 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*, 49: 1-17.

Phillips J.M., and Hayman D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society*, 55: 159-161.

Porcel R., Aroca R., and Ruiz-Lozano J.M. 2012. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32: 181-200.

Porras-Soriano A., Soriano-Martín M.L., Porras-Piedra A., and Azcón R. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *Journal of Plant Physiology*, 166: 1350-1359.

Qiang X., Weiss M., Kogel K.H., and Schäfer P. 2012. *Piriformospora indica*—a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Molecular Plant Pathology*, 13: 508-518.

Rabhi M., Atia A., Abdelly C., and Smaoui A. 2015. New parameters for a better evaluation of vegetative bioremediation, leaching, and phytodesalination. *Journal of Theoretical Biology*, 383: 7-11.

Rai A., Rai S., and Rakshit A. 2013. Mycorrhiza-mediated phosphorus use efficiency in plants. *Environmental and Experimental Biology*, 11: 107-117.

Satter M., Hanafi M., Mahmud T., and Azizah H. 2006. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphate rock on uptake of major nutrients by *Acacia mangium* seedlings on degraded soil. *Biology and Fertility of Soils*, 42: 345-349.

Sherameti I., Tripathi S., Varma A., and Oelmüller R. 2008. The root-colonizing endophyte *Pirifomospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress–related genes in leaves. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 21: 799-807.

Sirrenberg A., Göbel C., Grond S., Czempinski N., Ratzinger A., Karlovsky P., Santos P., Feussner I., and Pawlowski K. 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 131: 581-589.

Varma A., Singh A., Sahay N.S., Sharma J., Roy A., Kumari M., Rana D., Thakran S., Deka D., and Bharti K. 2001. *Piriformospora indica*: A cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: Hock B. (Ed.), The Mycota IX. SpriSpringer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 125–150.

Varma A., Verma S., Sahay N., Bütehorn B., and Franken P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 2741-2744.

Wu Q.S., and Xia R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163: 417-425.

Yadav V., Kumar M., Deep D.K., Kumar H., Sharma R., Tripathi T., Tuteja N., Saxena A.K., and Johri A.K. 2010. A phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant. *Journal of Biological Chemistry*, 285: 26532-26544.

Zhang F., Wang Y., Yang Y., Wu H., Wang D., and Liu J. 2007. Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in salt resistance in the calluses from *Populus euphratica*. *Plant, Cell and Environment*, 30: 775-785.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of Symbiosis Efficiency of Arbuscular Mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and Root Endophyte *Piriformospora indica* under Salinity Stress in *Glycirrhiza glabra* L.

Maryam Khodabandeloo[1], Setareh Amanifar[2*], Ehsan Mohsenifard[3], Mohammad Sadegh Askari[2]

(Received: April 2018 Accepted: September 2018)

Abstract

Symbiotic fungies such as mycorrhiza can alleviate biotic and abiotic stresses in host plants and affect their growth, nutrition and tolerance to salinity stress. *Glycyrrhiza glabra* is commonly grown in Asia for medicinal purpose and fodder source for livestock. In order to assess the effect of entophytic fungi symbiosis on growth and some physiological properties of *G. glabra* under different levels of salinity, an experiment was conducted in a factorial design with combination of two factors, salinity levels (non-saline, 4, 8, 12 and 16 dS m^{-1}) and symbiotic fungi (non-inoculated, inoculated with *Piriformospora indica* or *Rhizophagus intraradices*) in three replicates. Results showed the decrease of root fungal colonization, shoot and root dry weight and root length, and shoot K and P content with increasing of salinity levels. Phosphorus and K utilization efficiency were decreased by increasing of salinity levels. Moreover, salinity caused a significant increase in electrolyte leakage and Na^+/K^+ ratio. *R. intraradices* colonization considerably increased tolerance index under salinity stress and decreased Na^+/K^+ ratio. *R. intraradices* inoculated plants showed greater biomass, P and K content in comparison with non-inoculated and *P. indica* inoculated plants. While plant inoculating with *P. indica* resulted in an increase in shoot dry weight at non-saline condition, and did not significantly affect other studied parameters. Results of this study indicated the ameliorating effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis in *G.glabra* under salinity stress, and the utilization ability of this symbiosis in phytoremediation of salt affected soils.

Keywords: Mycorrhizal symbiosis, Physiological properties, Phytoremediation, Salinity

Khodabandeloo M., Amanifar S., Mohsenifard E., Askari M. S. 2019. Evaluation of Symbiosis Efficiency of Arbuscular Mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and Root Endophyte *Piriformospora indica* under Salinity Stress in *Glycirrhiza glabra* L. *Applied Soil Research*, 7(3):40-53.

1. MSc. Graduate, Deptartment of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
2. Assistant Profesor, Deptartment of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
3. Assistant Profesor, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
* Corresponding Author Email: amanifar@znu.ac.ir

www.SID.ir