



علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم / شماره سوم / ۱۳۹۹ (۳۰۹ - ۲۹۵)

DOI: 10.22124/jms.2019.4591

اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی، رشد و غلظت اسید گلیسرزیک شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

رقیه نظریان سیرزار^۱، الهه وطن‌خواه^{۲*}، ستاره امانی‌فر^۳، مهناز وفادار^۴

تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۲

چکیده

ریشه شیرین بیان شامل مقدار زیادی از اسید گلیسرزیک است که کاربردهای متنوعی در صنایع غذایی، صنعتی، آرایشی و دارویی دارد. با توجه به گسترش شوری در مناطق خشک و نیمه خشک، جهت بررسی سطوح تحمل به شوری گیاه شیرین بیان در مراحل جوانه‌زنی و رویشی همچنین اثر تنش شوری بر میزان اسید گلیسرزیک، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با حداقل سه تکرار انجام شد. تنش شوری در ۴ سطح ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم اعمال شد. نتایج در مرحله جوانه زنی نشان داد تنش شوری در غلظت ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت به تیمار شاهد شد و در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم جوانه‌زنی صورت نگرفت. نتایج مرحله رویشی نشان داد سطوح بالای شوری موجب کاهش نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه، عملکرد گیاه، محتوای پروتئین و نسبت‌های پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم در اندام هوایی و ریشه شد، در مقابل غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار شوری موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه، محتوای مالون دی آلدهید و فنل کل اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین غلظت‌های بالای شوری موجب افزایش میزان اسید گلیسرزیک ریشه گردید. با توجه به نتایج مراحل جوانه‌زنی و رویشی گیاه شیرین بیان می‌توان گفت تحمل به شوری یک پدیده وابسته به نمو می‌باشد. همچنین کشت گیاه شیرین بیان در خاک‌های شور می‌تواند مقدار اسید گلیسرزیک در ریشه این گیاه را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: اسید گلیسرزیک، پایداری غشاء، ترکیبات آنتی اکسیدانت، تعادل یونی، تنش شوری، شیرین بیان

- ۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
- ۲- استادیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
- ۳- استادیار بیولوژی خاک، گروه مهندسی علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
- ۴- استادیار سیستماتیک گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

*نویسنده مسئول: elah_e_vatankhah@znu.ac.ir

مقدمه

گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. گیاهی چندساله از خانواده بقولات (Fabaceae) است که به واسطه دارابودن 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). ریشه شیرین بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف (تا ۱۸ درصد)، فلاونوئیدها، استروئولها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها می‌باشد. عمده‌ترین ساپونین آن اسید گلیسیریزیک یا گلیسیریزین می‌باشد (Khanahmadi et al., 2013). این ماده به‌عنوان مهم‌ترین ماده مؤثره ریشه شیرین بیان حدود ۵۰ مرتبه از شکر شیرین‌تر است. مقدار این ماده در ریشه به نوع گیاه و شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد و بین ۲۰ تا ۵۰ درصد است (Amani et al., 2005).

شوری یکی از فاکتورهای محیطی مهمی است که به‌طور چشمگیری رشد و عملکرد گیاهان را در بسیاری از بخش‌های جهان کاهش می‌دهد. تخمین زده می‌شود حدود ۷ درصد سطح زمین جهان و حداقل ۲۰ درصد زمین‌های آبیاری شده، تقریباً شور هستند که منجر به کاهش رشد و تولید گیاهان زراعی می‌شود (Ahmadi et al., 2018). غلظت‌های بالای شوری از طریق عدم تعادل مواد غذایی، تنش اسمزی، کمبود آب و تنش اکسیداتیو، بسیاری از گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Parida and Das, 2005). تغییر در سطوح متابولیت‌های ثانوی گیاهان از جمله ترکیبات فنلی و ترپنوئیدها، سازوکارهای دفاعی در برابر تنش به‌ویژه تنش اکسیداتیو القاشده با شوری را افزایش می‌دهد (Wahid and Ghazanfar, 2006). سنتز و انباشتگی پلی‌فنل‌ها در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند شوری، القا می‌شود. ترکیبات فنلی، گیاهان را در برابر گونه‌های اکسیژن‌واکنشگر (ROS) حاصل آسیب تنفس سلولی یا متابولیسم فتوسنتزی ناشی از تنش‌های محیطی، محافظت می‌کنند (Bettaieb et al., 2011). همچنین تنش شوری با افزایش غلظت‌های سدیم و کاهش غلظت‌های پتاسیم، کلسیم و منیزیم موجب عدم تعادل یونی می‌گردد. کنترل انباشتگی سدیم و حفظ نسبت‌های بالای پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم،

ممکن است تحمل یا مقاومت به شوری را در گیاهان افزایش دهد (Al-Karaki, 2000). پروتئین‌ها ممکن است در پاسخ به تنش شوری از نو (*de novo*) سنتز شوند یا به‌طور نهادی در غلظت کم وجود داشته باشند. پروتئین‌هایی که در گیاهان تحت شرایط شوری انباشته می‌شوند ممکن است یک شکل ذخیره‌ای از نیتروژن را فراهم کنند که بعدها مورد استفاده قرار می‌گیرند و یا نقشی را در تنظیم اسمزی ایفا کنند (Parvaiz and Satyawati, 2008). گیاهان در مواجهه با تنش‌ها، بسیاری از استراتژی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در خود توسعه داده‌اند (Liang et al., 2018). چنین پاسخ‌هایی در گیاه شیرین بیان تحت تنش شوری توسط تعدادی از محققان در مراحل جوانه‌زنی بذر (Behnamnia and Shenavai zare, 2013) و دانه‌رستی (Okamura et al., 2015) مورد بررسی قرار گرفته است. گیاه شیرین بیان به‌عنوان یک گیاه متحمل به شوری در اصلاح خاک-های قلیایی هند مورد استفاده قرار گرفته است (Dagar et al., 2015). همچنین افزایش تولید ماده مؤثره ریشه شیرین بیان (گلیسیریزین) تحت شرایط کم‌آبی شدید (Nasrollahi et al., 2014) و تنش شوری (Amanifar et al., 2019) گزارش شده است. گلیسیریزین همانند ترکیبات فنلی به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت عمل کرده و موجب سمیت‌زدایی ROSهای ناشی از تنش اکسیداتیو می‌گردد (Amanifar et al., 2019).

از آن‌جایی که شوری از جمله عوامل تهدیدکننده محیط و کشاورزی در بخش‌های زیادی از جهان می‌باشد و کشت گیاهان متحمل به شوری برای اصلاح خاک‌های تحت تأثیر شوری به‌عنوان یک روش کم‌هزینه در نظر گرفته می‌شود، بنابراین در این تحقیق، سطوح تحمل به شوری گیاه شیرین بیان در دو مرحله جوانه‌زنی بذر و رویشی در سطوح ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بررسی می‌شود. همچنین با توجه به اهمیت گیاه شیرین بیان در صنایع دارویی، اثر تنش شوری بر میزان گلیسیریزین نیز مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تأثیر شوری ناشی از کلرید سدیم در دو مرحله جوانه‌زنی و رویشی گیاه شیرین بیان طی دو آزمایش جداگانه مورد بررسی قرار گرفت:

گرفتند و یک روز در میان با محلول غذایی آبیاری شدند. ۶۰ روز بعد از کشت، گیاهان تحت تیمار شوری قرار گرفتند. سطوح شوری به کار برده شده در ۴ سطح صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار بود که با اضافه کردن نمک کلرید سدیم به محلول غذایی لانگ آشتون مورد استفاده قرار گرفت. ۳۵ روز پس از اعمال تنش شوری، بوته‌ها برداشت شده و نسبت به ارزیابی صفات زیر اقدام گردید:

نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی: ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه جدا شده و پس از انتقال نمونه‌ها به دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت، وزن خشک ریشه و اندام هوایی با استفاده از ترازو اندازه‌گیری شد و سپس نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی و عملکرد گیاه بر اساس گرم وزن تر در بوته محاسبه گردید.

سنجش پروتئین: برای عصاره‌گیری پروتئین برگ‌ها از بافر فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار (pH 6.8) به نسبت ۱:۲ استفاده شد. سپس در دمای ۴ درجه سلسیوس با ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و محلول رویی جدا گردید و از آن برای سنجش پروتئین استفاده شد. سنجش پروتئین با استفاده از معرف برادفورد انجام شد (Bradford, 1976). میزان جذب عصاره در طول موج ۵۹۵ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از آلبومین سرم گاوی استفاده گردید و مقدار پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش محتوای فنل کل: محتوای فنل کل نمونه‌ها براساس روش ترابلسی (Trabelsi et al., 2010) و با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره گیاهی ۰/۱ گرم بافت گیاهی خشک توسط محلولی شامل ۶/۶۶ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱ نرمال و ۰/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۷۰ درجه سلسیوس حمام آب گرم به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. سپس عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و الکل آن در مجاورت هوا تبخیر شد. رسوب حاصل در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. برای سنجش محتوای فنل، ۰/۴ میلی‌لیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد، سپس به هر یک ۱/۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۴ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتو افزوده شد. بعد از یک دقیقه ۴ میلی‌لیتر معرف - کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط اضافه کرده و حجم آن با آب مقطر به ۹ میلی‌لیتر رسانده شد. بلافاصله پس از

مرحله جوانه‌زنی: این آزمایش به صورت طرح کامل تصادفی در ۵ تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام شد. در این آزمایش به منظور ضد عفونی بذر ها از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه و به دنبال آن هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. سپس ۱۰ بذر هم اندازه در ظروف پتری دیش پوشانده شده با دو لایه کاغذ صافی کشت داده شد و سپس غلظت‌های مختلف کلرید سدیم شامل صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار بر روی بذر ها اعمال شد. ظروف پتری دیش در اتاق رشد تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس قرار گرفتند (Rafieiolhossaini et al., 2015). برای تعیین درصد جوانه‌زنی تعداد بذور جوانه‌زده در هر روز شمارش شدند. شمارش نهایی تا هنگامی که در تعداد بذور جوانه‌زده در دو نوبت متوالی افزایشی مشاهده نشد (حدود ۳-۴ روز) ادامه یافت. سپس درصد جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۱ و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۲ (Maguire, 1962) تعیین شد. در پایان، طول و وزن ریشه‌چه و ساقه-چه اندازه‌گیری شد.

$$GP = 100(n/N) \quad (\text{رابطه ۱})$$

GP درصد جوانه‌زنی، n تعداد بذرهای جوانه‌زده، N تعداد کل بذر ها

$$GR = \sum_{i=1}^n Si/Di \quad (\text{رابطه ۲})$$

که در آن GR، سرعت جوانه‌زنی، Si تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز شمارش، Di، تعداد روز تا شمارش n و n دفعات شمارش می‌باشد.

مرحله رویشی: این آزمایش به منظور بررسی اثر شوری در مرحله رویشی گیاه در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در دانشگاه زنجان انجام گرفت. برای کشت گیاه ابتدا بذرهای ضد عفونی شده در سینی‌های نشاء در بستر حاوی مخلوط کوکوبیت و پرلیت استریل کشت شدند و سپس بعد از یک ماه گیاهچه‌ها به گلدان‌های اصلی حاوی پرلیت استریل (استریل به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ بار در اتوکلاو انجام گرفت) منتقل شدند و گلدان‌ها با محلول غذایی لانگ آشتون (Hewitt, 1966) آبیاری شدند. سپس گلدان‌ها، در اتاق رشد تحت شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس و شدت نور ۱۲۰۰۰ لوکس قرار

Jenway) و برای اندازه‌گیری غلظت کلسیم و منیزیم از دستگاه جذب اتمی استفاده شد و غلظت یون‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید. سپس نسبت‌های غلظت‌های پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم بخش هوایی و ریشه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری غلظت اسید گلیسرینیک: به‌منظور اندازه‌گیری غلظت اسید گلیسرینیک در ریشه گیاه، از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. برای این منظور به ۰/۴ گرم از پودر بافت گیاهی ریشه خشک مقدار ۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد افزوده و به مدت ۶ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در حمام آب گرم قرار گرفت. سپس مخلوط به لوله سانتریفیوژ منتقل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس گراد و با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی با استفاده از سمپلر برداشته و به داخل ویال کوچک ریخته شد. به رسوب باقیمانده دوباره ۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه و سانتریفیوژ انجام شد و روشنای به محلول قبلی اضافه شد. این عمل تا ۵ بار تکرار شد. در نهایت اجازه داده شد محلول تبخیر شود و حجم نهایی به یک میلی‌لیتر برسد. عصاره حاصل برای سنجش غلظت گلیسرینیک به دستگاه HPLC (Knauer) تزریق شد و با کمک کروماتوگرام استاندارد، غلظت گلیسرینیک محاسبه شد (Orujei et al., 2013). سیستم HPLC شامل پمپ Knauer-K1001، یک ستون C18 (250 × 4.6 mm) و یک دتکتور Knauer-UV K2501 برای آنالیز استفاده شد. جداسازی به روش ایزوکراتیک با استفاده از فاز متحرک استیک اسید- استونیتریل- آب (۶۱/۴-۳۸-۰/۶) و جریان ۱ ml/min با تعیین جذب UV در ۲۵۴ nm انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: محاسبه میانگین‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلافات با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 انجام شد.

نتایج و بحث

مرحله جوانه‌زنی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها

افزودن معرف دوم لوله‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار فنل از منحنی استاندارد اسید گالیک استفاده شد.

سنجش مالون‌دی‌آلدئید: میزان پراکسیداسیون لیپید در بافت‌ها از طریق تعیین محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در واکنش با تیوباربتوریک اسید سنجیده شد (Heath and Packer, 1968). یک گرم بافت تر برگ در ۵ میلی‌لیتر محلول اسید تری‌کلرواستیک (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل شد و در دمای محیط و با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به یک میلی‌لیتر از محلول روشنای حاصل از سانتریفیوژ، ۴ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربتوریک (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. جذب محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است. جذب بقیه رنگی‌های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین شد و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد و در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدئید که فراورده اکسایش چربی‌ها است، بر اساس میکرو مول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش عناصر: آماده‌سازی نمونه‌ها به روش روتری و برودی (Rothery and Brodie, 1982) انجام شد. برای این منظور ۰/۱ گرم از پودر بافت گیاهی خشک (ریشه و بخش هوایی) را در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا نمونه گیاهی به خوبی در اسید حل شود. بعد از این مدت محصول حاصل را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج شوند. سپس حجم محلول را با استفاده از آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شدند. از محلول به دست آمده جهت اندازه‌گیری عناصر استفاده شد. جهت اندازه‌گیری عناصر سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتری (PFP7)

نشان داد اثر تنش شوری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، جنبه‌های کشاورزی استقرار گیاه، سرعت جوانه‌زدن تعداد کافی بذر و استقرار آن‌ها در مدت زمانی است که شرایط محیطی مناسب می باشد (Ajm al Khan *et al.*, 2006). همچنین اختلاف معنی‌داری از لحاظ طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بین تیمار شاهد و سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری وجود داشت (جدول ۱ و شکل ۱- پ و ت). کاهش طول گیاهچه با افزایش غلظت نمک در شیرین بیان گزارش شده است (Behnamnia and Shenavai zare, 2013).

از آن‌جاکه شوری به روش افزایش فشار اسمزی و در نتیجه کاهش جذب آب و همچنین از طریق اثرات سمی یون‌هایی همچون سدیم و کلر جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه را می‌توان به- کاهش میزان و سرعت جذب اولیه آب و همچنین تأثیر منفی پتانسیل‌های اسمزی کم و سمیت یون‌ها بر فرآیندهای بیوشیمیایی نسبت داد (Safarnejad and Hamidi, 2008). بین تیمار شاهد و سطح ۱۰۰ میلی-مولار شوری اختلاف معنی‌داری از لحاظ وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس سطوح مختلف شوری بر ویژگی‌های جوانه زنی بذر شیرین بیان

Table 1. Analysis of variance different levels of salinity on seed germination characteristics of licuorice.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی GP	سرعت جوانه- زنی GR	طول ساقه‌چه PL	طول ریشه‌چه RL	وزن تر ساقه‌چه PFW	وزن تر ریشه‌چه RFW	وزن خشک ساقه‌چه PDW	وزن خشک ریشه‌چه RDW
شوری Salinity	1	2250**	1.28**	0.96*	1.22**	0.0006 ^{ns}	0.0006 ^{ns}	0.00004 ^{ns}	0.00004 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	8	95	0.079	0.10	0.03	0.0001	0.0002	0.00004	0.0001
ضریب تغییرات (%CV)		15.47	14.53	18.52	14.34	24.82	13.92	12.45	5.61

** و * معنی‌داری به ترتیب در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد، ns: بدون تفاوت معنی‌دار.

: Significant at probability levels of 1% and 5%, respectively, ns: non-significant, SOV: source of variance, df: degree of freedom, CV: coefficient of variation, GP: germination percentage, GR: germination rate, PL: plumule length, RL: radicle length, PFW: plumule fresh weight, RFW: radicle fresh weight, PDW: plumule dry weight, RDW: radicle dry weight.

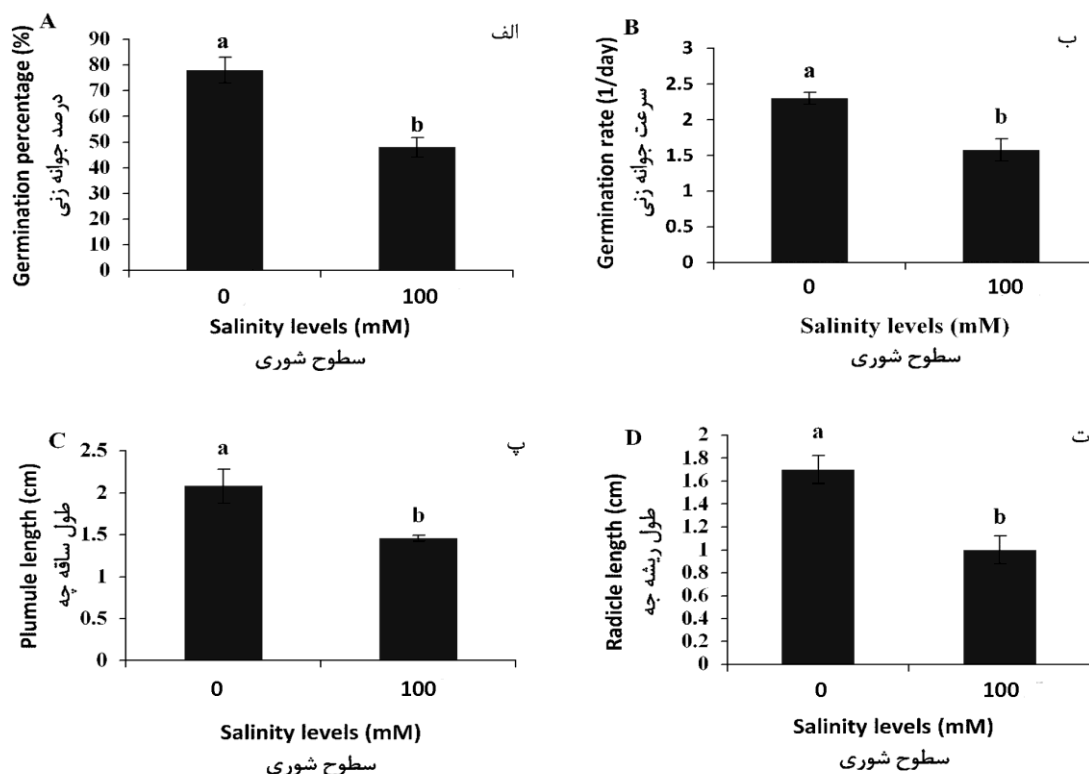
شوری در سطوح بالا موجب افزایش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی گیاه گردید که این افزایش در سطوح شوری بالا (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) معنی‌دار بود (شکل ۲- پ). عملکرد گیاه شیرین بیان بر اساس وزن تر در سطوح شوری شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب برابر با ۰/۲۱۴، ۰/۱۷۳، ۰/۱۴۷ و ۰/۱۳۹ گرم در بوته برآورد شد. شوری به‌طور معنی‌داری عملکرد بوته را کاهش داد (جدول ۲)، ولی تفاوت معنی-داری بین سطوح ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار مشاهده نشد.

مرحله جوانه‌زنی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها طول ریشه‌چه ($p \leq 0/01$) و طول ساقچه ($p \leq 0/05$) معنی‌دار بود (جدول ۱). در سطوح شوری ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم جوانه‌زنی مشاهده نشد و در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار، درصد و سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد (آب مقطر) کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۱- الف و ب). بر خلاف نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، جوانه‌زنی بذرهای شیرین بیان تا سطح ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نیز گزارش شده است (Behnamnia and Shenavai zare, 2013). کاهش درصد جوانه‌زنی با افزایش کلرید سدیم در زیره سبز و سنبل‌الطیب گزارش شده است (Salami *et al.*, 2006). محققان اعلام کردند که پتانسیل آب در محیط، مؤثرترین پارامتر در جذب آب و آماس بذر است و تنش شوری، پتانسیل آبی در نتیجه جذب آب را کاهش می‌دهد. با کاهش جذب آب به‌وسیله بذر قابلیت جوانه‌زنی کاهش و از درصد جوانه‌زنی کاسته می‌شود (Khammari *et al.*, 2007). کاهش در سرعت جوانه‌زنی و افزایش زمان مورد نیاز برای رسیدن به‌میزان جوانه‌زنی نهایی به سبب تنش شوری، یک حد بحرانی در مناطق نیمه‌خشک می‌باشد. بنابراین یکی از مهم‌ترین

مرحله رویشی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش شوری بر نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی ($p \leq 0/01$)، وزن خشک بخش هوایی ($p \leq 0/05$) همچنین وزن خشک ریشه ($p \leq 0/001$) معنی‌دار بود (جدول ۲). کاهش وزن خشک بخش هوایی و افزایش وزن خشک ریشه تنها در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار معنی‌دار بود، به‌طوری‌که وزن خشک بخش هوایی و وزن خشک ریشه در این سطح شوری به ترتیب ۰/۱۶۷ و ۰/۱۲۷ گرم در گلدان بود (شکل ۲- الف و ب). تنش

قرار می‌گیرد، در نتیجه رشد متوسط تولید ماده خشک ریشه نسبت به ساقه به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Naseer *et al.*, 2001). مهار رشد اندام هوایی همراه با رشد پیوسته ریشه به‌عنوان یک سازش مورفولوژیک به تنش‌های آبی یا شوری نشان داده شده است (Saab *et al.*, 1990). شیرین بیان یک سیستم ریشه‌ای بسیار وسیعی دارد که در تماس با حجم زیادی از خاک می‌باشد و تا عمق ۲/۵ متری از خاک نفوذ می‌کند.

اگرچه عملکرد در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به‌طور معنی‌داری بالاتر از سطح ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار شوری و به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود. گزارش شده تنش شوری نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی را در گیاهان پنبه (Meloni *et al.*, 2001) و گوجه فرنگی (Dasgan *et al.*, 2002) افزایش داده است که موافق با نتایج به‌دست آمده می‌باشد. با افزایش غلظت کلرید سدیم رشد قسمت‌های هوایی بیش‌تر از ریشه تحت تاثیر شوری



شکل ۱- اثر شوری بر درصد (الف) و سرعت (ب) جوانه‌زنی بذر و طول ساقه‌چه (پ) و ریشه‌چه (ت) دانه رست‌های شیرین بیان. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 1. Effect of salinity on percentage (A) and rate (B) of seed germination and plumule (C) and radicle (D) lengths of liquorice seedlings. Different letters indicate significant differences at 5% probability level according to Duncan's test.

درصد بود (جدول ۲). میزان MDA در سطوح مختلف شوری نسبت به شاهد افزایش یافت اما این افزایش تنها در سطوح شوری بالا معنی‌دار بود، به‌طوری‌که میزان MDA در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد به ترتیب ۳/۱ و ۳/۶ برابر افزایش یافت (شکل ۲-ت). افزایش میزان MDA تحت تنش شوری در دانه‌رست‌های گندم (Qiu *et al.*, 2014) و گاوزبان (Jaffel *et al.*, 2011) نیز گزارش شده است که موافق با نتایج به‌دست‌آمده می‌باشد.

این ویژگی در اقتصاد آب گیاه مهم است و به گیاه امکان رشد تحت شرایط رطوبتی شدید را می‌دهد (Abd El-Rahman *et al.*, 1974) و کارایی جذب آب و مواد غذایی را تحت شرایط شوری افزایش می‌دهد (Meloni *et al.*, 2001). بنابراین افزایش سیستم ریشه‌ای نسبت به اندام هوایی، تنظیم تعادل آبی را در گیاه شیرین بیان تسهیل می‌کند و ممکن است یک پارامتر مهم در تحمل شوری باشد (Dasgan *et al.*, 2002). نتایج تجزیه واریانس میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) نشانگر اثر معنی‌دار شوری بر مقدار MDA برگ در سطح احتمال ۱

جدول ۲- تجزیه واریانس سطوح مختلف شوری بر برخی ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه شیرین بیان در مرحله رویشی

Table 2. Analysis of variance different levels of salinity on growth and biochemical characteristics of licuorice at vegetative stage

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک بخش هوایی SDW	عملکرد FW Yield	وزن خشک ریشه RDW	وزن خشک ریشه به بخش هوایی RDW/SDW	پروتئین Protein	فنل Phenol	مالون دی آلدئید MDA
شوری Salinity	3	0.0019*	0.0034**	0.0035***	0.134**	0.029***	35.601*	3.585**
Error اشتباه آزمایشی	12	0.0004	0.00018	0.00036	0.005	0.002	9.87	0.079
ضریب تغییرات (%CV)		10.58	7.93	19.41	15.47	9.72	8.81	14.22

* و ** و *** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ می‌باشد.

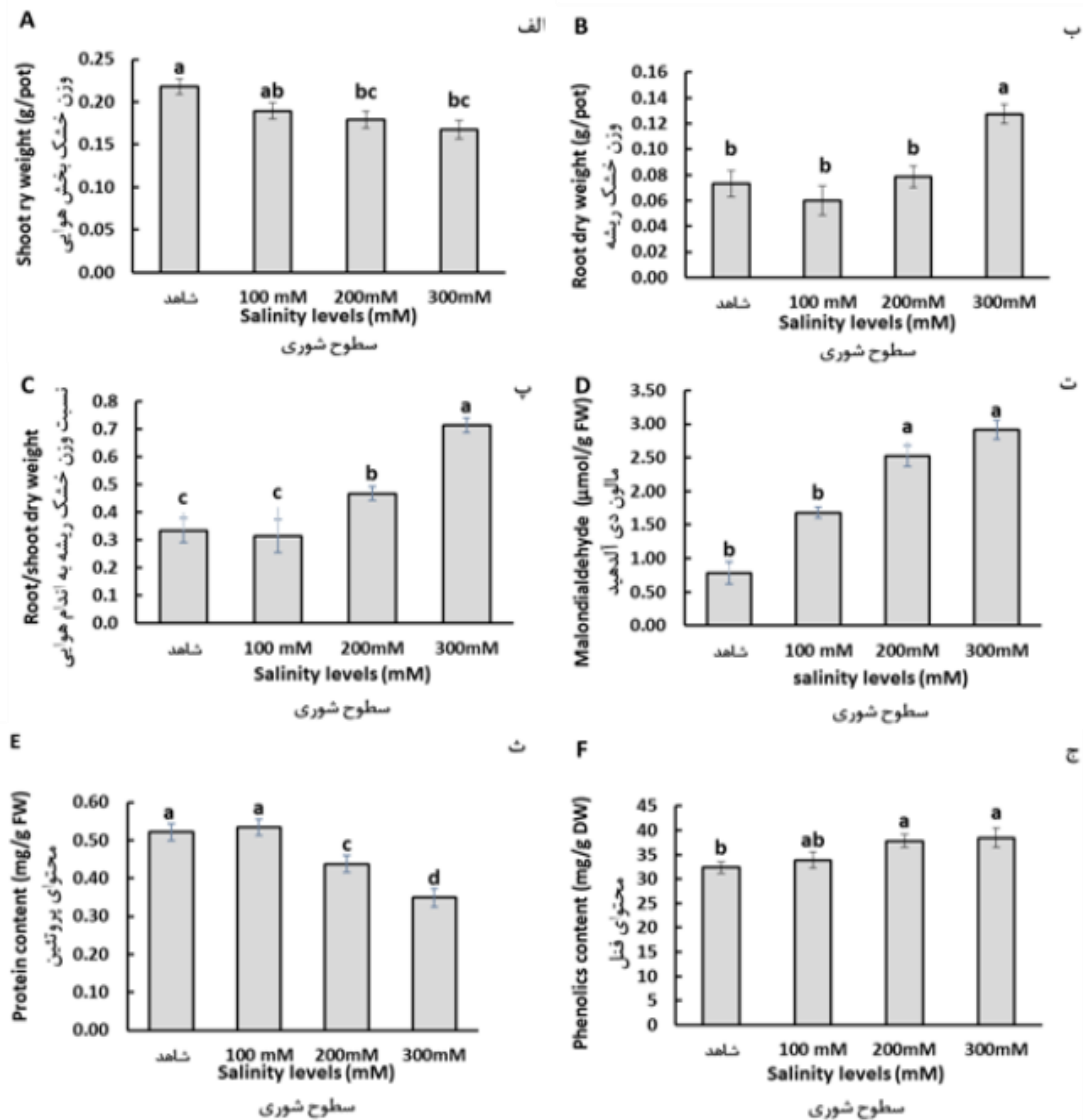
* , ** and ***: Significant at probability levels of 1% , 5% and 0.1%, respectively SOV: source of variance, df: degree of freedom, CV: coefficient of variation, SDW: shoot dry weight, RDW: root dry weight, RDW/SDW: root/shoot dry weight ratio, MDA: malondialdehyde

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تنش شوری بر محتوای فنل بخش هوایی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). افزایش میزان فنل تحت تاثیر تنش شوری مشاهده شد. بیش‌ترین میزان فنل ۳۸/۴۵ mg/g DW بود که در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۲- ج). فنل‌ها یکی از گروه‌های مهم متابولیت‌های ثانوی می‌باشد که دارای نقش‌های متعددی در گیاهان از جمله حفاظت در برابر UV، دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا، رنگیزه‌دار- شدن برای جذب گرده‌افشان‌ها و حفاظت در برابر ROS ایجادشده توسط تنش‌های محیطی مختلف از جمله تنش شوری می‌باشند (Waśkiewicz et al., 2013).

بیش‌تر ترکیبات فنلی که در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی تحریک می‌شوند، از طریق مسیر فنیل پروپانوئید سنتز می‌شوند. تنش شوری، مسیر فنیل پروپانوئید را از طریق انباشتگی اسید جاسمونیک درون‌زا و تحریک فعال‌سازی آنزیم فنیل آلانین آمونیولیز (PAL) القا می‌کند (Lim et al., 2012). بنابراین محتوای ترکیبات فنلی در گیاهان می‌تواند تحت تنش شوری تغییر کند، اما این تغییر به حساسیت گیاهان وابسته است (Kim et al., 2008). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که تنش شوری محتوای ترکیبات فنلی را در مقایسه با شاهد افزایش داد که در موافق با نتایج ما، ولی فرد و همکاران (Valifard et al., 2014) گزارش کردند محتوای فنل کل بخش هوایی *Salvia mirzayanii* تحت تاثیر شوری افزایش نشان داد. بنابراین در این پژوهش، افزایش ترکیبات فنلی در سطوح بالای شوری، تحمل گیاه شیرین بیان نسبت به شوری را افزایش داد. براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تنش شوری بر غلظت اسید گلیسیریزیک در سطح ۰/۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

تحت تنش شوری زیاد، افزایش ROS منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی می‌شود. MDA یک فرآورده پراکسیداسیون لیپیدی است که به غشای سلولی آسیب می‌رساند و نشت الکترولیت‌ها را افزایش می‌دهد و به‌عنوان یک شاخص آسیب غشایی الفاشده با تنش اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Demidchik, 2015). بنابراین محتوای MDA می‌تواند میزان تنش و تحمل به تنش را نشان دهد. در این تحقیق با توجه به این‌که این شاخص آسیب غشا در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار با غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری ندارد، می‌توان گفت گیاه شیرین بیان از طریق سازوکارهایی که آسیب تنش اکسیداتیو را به حداقل رسانده است نسبت به شوری بالا سازش یافته است. مطابق جدول ۲، اثر شوری بر میزان پروتئین برگ در سطح ۰/۱ درصد معنی‌دار بود. در این پژوهش، میزان پروتئین برگ طی تنش شوری کاهش یافت و این کاهش در سطوح بالای شوری معنی‌داری بود. مقدار پروتئین در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار شوری، ۰/۳۴۸ mg/g FW بود که ۱/۵ برابر نسبت به میزان شاهد کاهش یافت (شکل ۲- ث). پروتئین‌ها در پاسخ به تنش شوری ممکن است افزایش یابند و از نو سنتز شوند و یا کاهش یابند (Rasool et al., 2013). موافق با نتایج به‌دست آمده، کاهش پروتئین‌های محلول برگ در پاسخ به تنش شوری گزارش شده است (Parida et al., 2002; Muthukumarasamy et al., 2000; Kamiab et al., 2014).

کاهش در محتوای پروتئین طی تنش شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش سنتز پروتئین، تسریع پروتئولیز، کاهش در اسیدهای آمینه فراهم و یا واسرشته‌شدن آنزیم‌های درگیر در سنتز پروتئین باشد (Peltzer et al., 2002). بر اساس



شکل ۲- اثر شوری بر وزن خشک اندام هوایی (الف)، وزن خشک ریشه (ب)، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (پ)، مالون دی آلدئید (ت)، پروتئین (ث) و فنل (ج) گیاه شیرین بیان. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

Figure 2. Effect of salinity on shoot dry weight (A), root dry weight (B), root/shoot dry weight (C), contents of malondialdehyde (D), protein (E) and phenolics (F) in liquorice. Different letters indicate significant differences at 1% probability level according to Duncan's test

همان طور که در شکل ۳ مشاهده می شود، شوری موجب افزایش غلظت این ماده در ریشه گیاه گردید و بیشترین غلظت این ماده در سطح ۲۰۰ (۳۱۶/۴ ppm) و سپس ۳۰۰ (۲۸۷/۹ ppm) میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد. تولید متابولیت های ثانوی به طور قوی در ارتباط با شرایط رشد و به ویژه شرایط تنشی می باشد که تأثیر مهمی بر مسیرهای متابولیک مربوطه می گذارد (Selmar and Kleinwächter, 2013). مطابق نتایج به- دست آمده محتوای گلیسیریزین در غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار NaCl در گیاه *G. uralensis* Fisher

ex Candolle افزایش یافت اما محتوای آن در غلظت ۴۰۰ میلی مولار NaCl کاهش یافت (Satomi et al., 2015). همچنین افزایش غلظت اسید گلیسیریزیک در ریشه های گیاه *G. glabra* تحت شرایط تنش کم آبی (Amanifar et al., 2014) و تنش شوری (Nasrollahi et al., 2014) گزارش شده است. بنابراین افزایش یا کاهش متابولیت های ثانویه تحت شوری تابع عوامل مختلفی از جمله گونه گیاهی و شدت شوری می باشد. همچنین نشان داده شده است که اسید گلیسیریزیک و متابولیت هیدرولیز شده آن β -۱۸-گلیسیریتینیک اسید از

با $(p \leq 0.001)$ تحت تاثیر شوری قرار گرفت (جدول ۳). با افزایش شوری، نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی و ریشه در سطوح بالای شوری (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۴- الف و ب). نسبت کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم ریشه و بخش هوایی در غلظت بالای شوری (۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۴- پ تا ج).

G. glabra یک نقش مهم در روبشگری ROS ایفا می‌کند که منجر به کاهش در تنش اکسیداتیو می‌شود (Kim and Lee, 2008). بنابراین گلیسیریزین در سطوح بالای شوری به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت عمل می‌کند و در پاسخ‌های دفاعی گیاه درگیر می‌شود.

تجزیه واریانس نسبت غلظت عناصر معدنی نشان داد که نسبت پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم هم در اندام هوایی و هم در ریشه به‌طور معنی‌داری

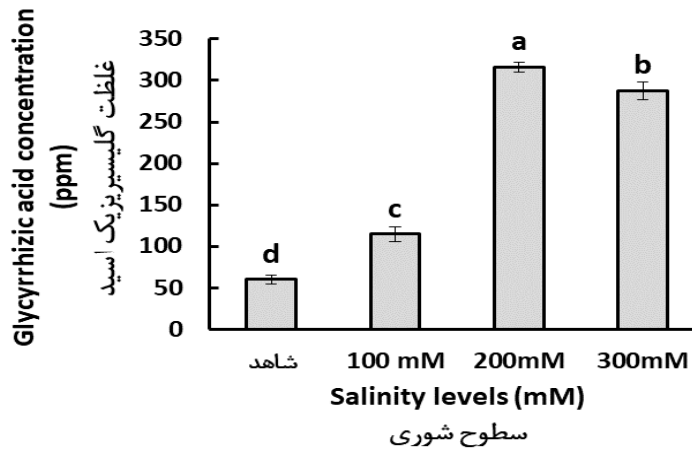
جدول ۳- تجزیه واریانس سطوح مختلف شوری بر نسبت غلظت عناصر و غلظت اسید گلیسیریزیک (GA) شیرین بیان در مرحله رویشی

Table 3. Analysis of variance different levels of salinity on mineral concentration ratios and glycyrrhizic acid (GA) concentration of licuorice at vegetative stage.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	اسید گلیسیریزیک GA	پتاسیم به سدیم بخش هوایی K/Na _S	پتاسیم به سدیم ریشه K/Na _R	کلسیم به سدیم بخش هوایی Ca/Na _S	کلسیم به سدیم ریشه Ca/Na _R	منیزیم به سدیم بخش هوایی Mg/Na _S	منیزیم به سدیم ریشه Mg/Na _R
شوری Salinity	3	48036***	1.122***	0.993***	1.18***	0.76***	1.593***	0.322***
Error اشتباه آزمایشی	12	140.58	0.009	0.003	0.05	0.002	0.103	0.001
ضریب تغییرات (CV%)		6.9	11.9	10.04	24.43	5.42	18.3	5.15

***: معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱ درصد. S و R: به ترتیب بخش هوایی و ریشه

***: Significant at probability level of 0.1%, SOV: source of variance, df: degree of freedom, CV: coefficient of variation, S and R: shoot and root, respectively

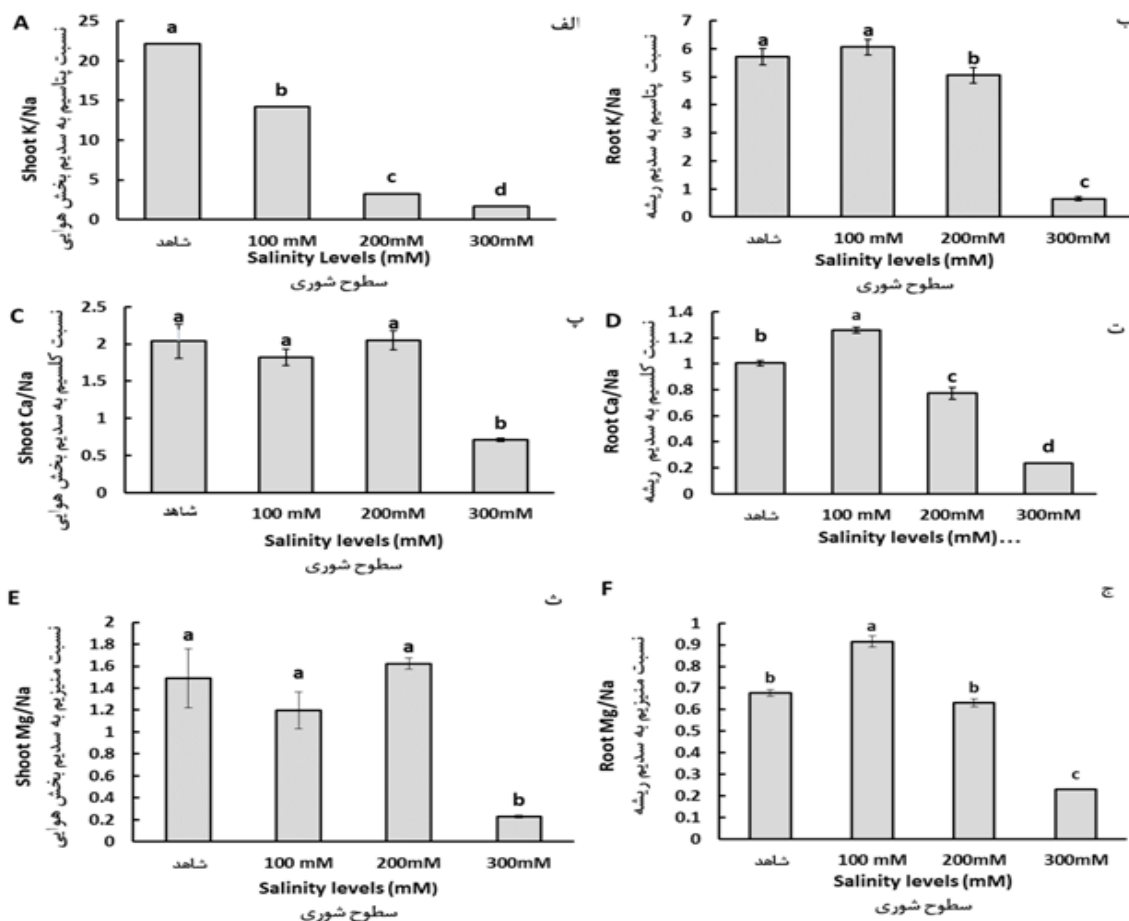


شکل ۳- اثر تنش شوری بر غلظت اسید گلیسیریزیک در ریشه گیاه شیرین بیان. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 3. Effect of salt stress on glycyrrhizic acid concentration in licuorice root. Different letters indicate significant differences at 1% probability level according to Duncan's test.

به سدیم در گیاهان گندم (El-Fouly et al., 2011)، *Citrullus* و *Zea mays* (Bassuony et al., 2008) و *lanatus* (Yetisir and Uygur, 2010) القا کرد. اثرات مهم تنش شوری، سمیت سدیم و عدم تعادل یونی در سیتوسل می‌باشد. غلظت‌های زیاد سدیم به‌طور اساسی فعالیت بسیاری از مواد غذایی ضروری را کاهش می‌دهد و قابلیت دسترسی آن‌ها به ریشه را کاهش می‌دهد.

همچنین نتایج نشان داد غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به افزایش معنی‌دار نسبت کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم ریشه شد. در موافق با نتایج ما، پروسلی و همکاران (Procelli et al., 1995) گزارش کردند که با افزایش سطوح شوری خاک، نسبت‌های پتاسیم به سدیم و کلسیم به سدیم در بافت‌های *Brassica napus* کاهش یافت. همچنین افزایش سطح کلرید سدیم یک کاهش را در نسبت‌های پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم و منیزیم



شکل ۴- اثر شوری بر نسبت پتاسیم به سدیم بخش هوایی (الف) و ریشه (ب)، نسبت کلسیم به سدیم اندام هوایی (پ) و ریشه (ت) و نسبت منیزیم به سدیم اندام هوایی (ث) و ریشه (ج) گیاه شیرین بیان. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 4. Effect of salinity on shoot K/Na (A), root K/Na (B), shoot Ca/Na (C), root Ca/Na (D), shoot Mg/Na (E) and root Mg/Na (F) of liquorice. Different letters indicate significant differences at 1% probability level according to Duncan's test.

یافته یون‌های کلسیم و منیزیم باشد (Varsheny *et al.*, 1998). نتایج ما نیز کاهش نسبت‌های پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم و منیزیم به سدیم را با افزایش غلظت شوری به‌ویژه در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم هم در ریشه و هم بخش هوایی نشان داد و در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم این نسبت‌ها نسبتاً ثابت بودند یا کاهش کم‌تری را در مقایسه با غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار نشان دادند. در این رابطه گزارش شده است که نسبت‌های غلظت مواد غذایی ممکن است به‌عنوان یک شاخص تحمل به شوری در نظر گرفته شود (El-Fouly *et al.*, 2011). همچنین اثرات سمی سدیم می‌تواند با افزایش غلظت کلسیم بهبود یابد. کلسیم با مهار جذب

سدیم ممکن است به‌طور مستقیم در جایگاه‌های جذب با بسیاری از کاتیون‌های ضروری مانند پتاسیم، منیزیم یا آمونیوم رقابت کند و ترانسپورترهای با میل ترکیبی کم مانند کانال‌های کاتیونی غیرگزینشی^۱ (NSCC) و میل ترکیبی بالا مانند ترانسپورترهای با میل ترکیبی بالای پتاسیم^۲ (HKT) را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین سدیم با عبور از غشا، دپولاریزاسیون غشا^۳ را موجب می‌شود که دپولاریزاسیون غشا نشت پتاسیم از طریق کانال‌های پتاسیم برون‌بر را افزایش می‌دهد (Shabala and Munns, 2012). کاهش در جذب کلسیم و منیزیم تحت شرایط تنش شوری ممکن است به-خاطر اثرات مهار سدیم بر این کاتیون‌ها یا انتقال کاهش

¹ Non-selective cation channels

² High affinity K⁺ transporters

³ Membrane depolarization

تحمل مانند نسبت‌های پتاسیم به سدیم، کلسیم به سدیم، منیزیم به سدیم و وزن خشک ریشه به اندام هوایی در مرحله رویشی نشان‌دهنده تعادل یونی همچنین تعادل آبی از طریق گسترش سیستم ریشه‌ای در جهت تحمل به شوری می‌باشد. بنابراین تحمل به شوری یک پدیده وابسته به مرحله نمو می‌باشد. همچنین افزایش مقدار گلیسیریزین در سطوح بالای شوری نشان‌دهنده آن است که کشت گیاه شیرین بیان در خاک‌های شور می‌تواند مقدار گلیسیریزین در ریشه شیرین بیان را افزایش دهد و به‌عنوان راهکاری در جهت بهره‌برداری از اراضی متأثر از املاح در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان تشکر و قدردانی می‌گردد.

سدیم از طریق کانال‌های NSCC و مهار برون‌شارش پتاسیم از طریق کانال‌های برون‌بر پتاسیم، اثر مفیدی را بر نسبت سیتوسولی پتاسیم به سدیم و متابولیسم سلول تحت شرایط شوری دارد. نه تنها کلسیم بلکه کاتیون‌های دو ظرفیتی دیگر مانند منیزیم قادر به مهار برون‌شارش پتاسیم القاشده با سدیم هستند. همچنین کلسیم از طریق مسیر علامت‌دهی SOS، تحریک فعالیت H^+ -ATPase و اثر تثبیت‌کنندگی بر اجزای دیواره سلولی، لیپیدها و پروتئین‌های غشا، اثرات تنش شوری را در بسیاری از گونه‌ها بهبود می‌دهد (Shabala and Munns, 2012).

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت گیاه شیرین بیان در مرحله جوانه‌زنی بذر نسبت به شوری حساس می‌باشد و در سطوح شوری بالا (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) قادر به جوانه‌زنی نمی‌باشد اما اندازه‌گیری شاخص‌های

منابع

- Abd El-Rahman, A.A., Batanouny, K.H. and Zayed, K.M. 1974. Water relations of *Glycyrrhiza glabra* L. under desert conditions. *Flora*, 163: 143-155. **(Journal)**
- Ahmadi, F.I., Karimi, K. and Struik, P.C. 2018. Effect of exogenous application of methyl jasmonate on physiological and biochemical characteristics of *Brassica napus* L. cv. Talaye under salinity stress. *South African Journal of Botany*, 115: 5-11. **(Journal)**
- Ajmal Khan, M., Zaher Ahmed, M. and Hameed, A. 2006. Effect of salt and ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *Journal of Arid Environments*, 67: 535 - 540. **(Journal)**
- Al-Karaki, G.N. 2000. Growth, water use efficiency and sodium and potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 23: 1-8. **(Journal)**
- Amani, M., Sotudeh-Gharebagh, R., Mostaoufi, N. and Kashani, H. 2005. Optimal extraction of glycyrrhetic acid from licorice root. *Journal of Food Technology*, 3 (4):376-580. **(Journal)**
- Amanifar, S., Khodabandelo, M., Fard, E.M., Askari, M.S. and Ashrafi, M. 2019. Alleviation of salt stress and changes in glycyrrhizin accumulation by arbuscular mycorrhiza in liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) grown under salinity stress. *Environmental and Experimental Botany*, 160: 25-34. **(Journal)**
- Bassouny, F.M., Hassanein, R.A., Baraka, D.M. and Khalil, R.R. 2008. Physiological effects of nicotinamide and ascorbic acid on *Zea mays* plants grown under salinity stress II- changes in nitrogen constituents, protein profiles, protease enzyme and certain inorganic cations. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2: 350-359. **(Journal)**
- Behnamnia, M. and Shenavai zare, A. 2013. The effect of salicylic acid in the condition of salt stress on licorice seedlings (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 2(5): 73-89. (In Persian)**(Journal)**
- Bettaieb, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B. 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33: 1103-1111. **(Journal)**
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254. **(Journal)**
- Dagar, J.C., Yadav, R.K., Dar, S.R. and Ahmad, S. 2015. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): a potential salt-tolerant highly remunerative medicinal crop for remediation of alkali soils. *Current Science*, 108: 1683-1688. **(Journal)**

- Dasgan, H.Y., Aktas, H., Abak, K. and Cakmak, I. 2002. Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses. *Plant Science*, 163: 695-703. **(Journal)**
- Demidchik, V. 2015. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109: 212-228. **(Journal)**
- El-Fouly, M.M., Mobarak, Z.M. and Salama, Z.A. 2011. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. *African Journal of Plant Science*, 5: 314-322. **(Journal)**
- Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198. **(Journal)**
- Hewitt, E.J. 1966. *Sand and Culture Methods Used in the Study of Plant Nutrition* (2th ed.). CAB. **(Book)**
- Jaffel, K., Bouraoui, N.K., Ammar, R.B., Legendre, L., Lachaal, M. and Marzouk, B. 2011. Influence of salt stress on growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activity in borage (*Borago officinalis* L.). *Plant Biosystems*, 145: 362-369. **(Journal)**
- Kamiab, F., Talaie, A., Khezri, M. and Javanshah, A. 2014. Exogenous application of free polyamines enhances salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation*, 72: 257-268. **(Journal)**
- Khammari, I., Sarani, S.H.A. and Dahmardeh, M. 2007. The effect of salinity on seed germination and growth in six medicinal plants. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23: 331-339. **(Journal)**
- Khanahmadi, M., Naghdi Badi, H., Akhondzadeh, S., Khalighi-Sigaroodi, F., Mehrafarin, A., Shahriari, S. and Hajiaghvae, R. 2013. A review on medicinal plant of *Glycyrrhiza glabra* L. *Journal of Medicinal Plants*, 2 (46): 1-12. (In Persian)**(Journal)**
- Kim, H.J., Fonseca, J.M., Choi, J.H., Kubota, C. and Dae, Y.K. 2008. Salt in irrigation water affects the nutritional and visual properties of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 3772-3776. **(Journal)**
- Kim, Y.J. and Lee, C.S. 2008. Glycyrrhizin attenuates MPTP neurotoxicity in mouse and MPP-induced cell death in PC12 cells. *The Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 12: 65-71. **(Journal)**
- Liang, W., Ma, X., Wan, P. and Liu, L. 2018. Plant salt-tolerance mechanisms: a review. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495: 286-291. **(Journal)**
- Lim, J.H., Park, K.J., Kim, B.K., Jeong, J.W. and Kim, H.J. 2012. Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food Chemistry*, 135:1065-1070. **(Journal)**
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination- aid selection and evaluation for seeding emergence and vigor. *Crop Science*, 2: 176-177. **(Journal)**
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Ruiz, H.A. and Martinez, C.A. 2001. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 24: 599-612. **(Journal)**
- Muthukumarasamy, M., Gupta, S.D. and Panneerselvam, R. 2000. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activities by triadimefon in NaCl stressed *Raphanus sativus* L. *Biologia Plantarum*, 43(2): 317-320. **(Journal)**
- Naseer, S.H., Nisar, A. and Ashraf, M. 2001. Effect of salt stress on germination and seedling growth of Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Pakistan Journal of Biological Science*, 4: 359-360. **(Journal)**
- Nasrollahi, V., Mirzaie-asl, A., Piri, K., Nazeri, S. and Mehrabi, R. 2014. The effect of drought stress on the expression of key genes involved in the biosynthesis of triterpenoid saponins in licorice (*Glycyrrhiza glabra*). *Phytochemistry*, 103: 32-37. **(Journal)**
- Okamura, S., Yamamoto, F., Nishihara, E., Taniguchi, T. and Yamanaka, N. 2015. The effect of salinity stress on growth and physiology of 1 yr old seedling of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer ex Candolle). *Journal of the Japanese Society of Revegetation Technology*, 41: 33-38. **(Journal)**
- Orujei, Y., Shabani, L. and Sharifi-Tehrani, M. 2013. Induction of glycyrrhizin and total phenolic compound production in licorice by using arbuscular mycorrhizal fungi. *Russian Journal of Plant Physiology*, 60: 855-860. **(Journal)**
- Parida, A., Das, A.B. and Das, P. 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, 45: 28-36. **(Journal)**

- Parida, A.K. and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3): 324-349. **(Journal)**
- Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- a review. *Plant, Soil and Environment*, 54: 89-99. **(Journal)**
- Peltzer, D., Dreyer, E. and Polle, A. 2002. Differential temprature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40: 141-150. **(Journal)**
- Porcelli, C.A., Gutierrez Boem, F.H. and Lavado, R.S. 1995. The K/Na and Ca/Na ratios and rapeseed yield, under soil salinity. *Plant and Soil*, 175: 251-255. **(Journal)**
- Qiu, Z., JGuo, J., Zhu, A., Zhang, L. and Zhang, M. 2014. Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104: 202–208. **(Journal)**
- Rafieiolhossaini, M., Tadayon, M.R. and Mazhari, M. 2015. The effect of dormancy breaking treatments on seed germination of licorice medicinal plant. *Journal of Crops Improvement*, 16: 809-817. (In Persian)**(Journal)**
- Rasool, S., Hameed, A., Azooz, M.M., Rehman, M., Siddigi, T.O. and Ahmad, P. 2013. Salt stress: causes, types and responses of plants. In: Ahmad, P., Azooz, M. and Prasad, M.N.V. (Eds.) *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer Science+Business Media, New York. pp: 1-24. **(Book)**
- Rothery, E., and Brodie, K.G. 1982. *Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers*. Varian Techtron. **(Book)**
- Saab, I.N., Sharp, R.E., Pritchard, J. and Voetberg, G.S. 1990. Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedlings at low water potentials. *Plant Physiology*, 93: 1329-1336. **(Journal)**
- Safarnejad, A. and Hamidi, H. 2008. Study of morphological characters of *Foeniculum vulgare* under salt stress. *Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 16 (1): 125-140. (In Persian)**(Journal)**
- Salami, M.R., Safarnejad, A. and Hamidi, H. 2006. Effect of salinity stress on morphology charecters of *Cuminum cyminum* and *Valeriana officinalis*. *Pazhouhesh and Sazandegi*, 72: 77-83. (In Persian)**(Journal)**
- Satomi, O., Fukuju, Y., Eiji, N., Takeshi, T. and Norikazu, Y. 2015. The effect of salinity stress on growth and physiology of 1 yr old seedling of licorice (*Gycyrrhiza uralensis* Fischer ex Candolle). *Journal of the Japanes Society of Revegetation Technology*, 41: 33-38. **(Journal)**
- Selmar, D. and Kleinwachter, M. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 42: 558–566. **(Journal)**
- Shabala, S. and Munns, R. 2012. *Salinity Stress: Physiological Constrains and Adaptive Mechanisms*. In: Shabala, S. (Ed.) *Plant stress physiology*. CABI, London. pp: 59-93. **(Book)**
- Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Soueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. and Abdely, C. 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 632-639. **(Journal)**
- Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B. and Rowshan, V. 2014. Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *South African Journal of Botany*, 93: 92-97. **(Journal)**
- Wahid, A. and Ghazanfar, A. 2006. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 163: 723-730. **(Journal)**
- Varsheny, K.A., Sanwal, N. and Agarwal, N. 1998. Salinity induced changes in ion uptake and chemical composition in chick pea (*Cicer arietinum* L.). *Indian Journal of Plant Physiology*, 3: 140-142. **(Journal)**
- Waskiewicz, A., Muzolf-Panek, M. and Goliński, P. 2013. Phenolic content changes in plants under salt stress. In: Ahmad, P., Azooz, M.M., and Prasad, M.N.V. (Eds.) *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer. pp: 283-314. **(Book)**
- Yetisir, H. and Uygur, V. 2010. Responses of grafted watermelon onto different group species to salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*, 33: 315-327. **(Journal)**



The effect of salt stress on germination, growth and concentration of glycyrrhizic acid in liquorice (*Glycyrrhiza glabra*)

Roghayeh Nazarian Sirzar¹, Elahe Vatankhah^{2*}, Stareh Amanifar³, Mahnaz Vafadar⁴

Received: March 3, 2019

Accepted: May 14, 2019

Abstract

The root of liquorice contains a large amount of glycyrrhizic acid which are known to have various food, industrial, cosmetic and pharmaceutical applications. Regarding to spreading of salinity in arid and semi-arid regions, to assay the tolerance levels of salinity in germination and vegetative stages and the effect of salt stress on the concentration of glycyrrhizic acid in liquorice plant, an experiment performed based on a randomized complete design with at least three replications. Salt stress applied at four levels including 0, 100, 200 and 300 mM NaCl. Our results at the germination stage showed that NaCl at 100 mM level caused a significant decrease in germination rate and percentage and the length of primary root and hypocotyl were diminished. While 200 and 300 mM levels of NaCl inhibited the germination. The results at vegetative stage showed that high salinity levels decrease the root/shoot dry weight ratio, plant yield, protein content and the K/Na, Ca/Na, Mg/Na ratios of shoot and root while the concentration of 300 mM NaCl caused a significant increase in root dry weight and shoot malondialdehyde and total phenol content in comparison with control. Also, the high concentrations of salinity increased the concentration of glycyrrhizic acid in roots. According to measured results at germination and vegetative stages of liquorice plant, it can be concluded that salt tolerance is a developmental stage specific phenomenon. Also, that cultivation of liquorice in saline soils potentially could increase glycyrrhizic acid accumulation in liquorice roots.

Key words: Antioxidant compounds; Glycyrrhizic acid; Ionic homeostasis; Liquorice; Membrane stability; Salt stress

How to cite this article

Nazarian Sirzar, R., Vatankhah, E., Amanifar, S. and Vafadar, M. 2020. The effect of salt stress on germination, growth and concentration of glycyrrhizic acid in liquorice (*Glycyrrhiza glabra*). Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(3): 295-308. (In Persian)(Journal)

DOI: [10.22124/jms.2020.4591](https://doi.org/10.22124/jms.2020.4591)

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit <http://jms.guilan.ac.ir/>

1. MSc of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
 2. Assistant Professor of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
 3. Assistant Professor of Soil Biology, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
 4. Assistant Professor of Plant Systematics, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
- *Corresponding author: elahe_vatankhah@znu.ac.ir