علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره اول/ ۱۳۹۹ (۱۰۲ - ۹۳)

DOI: 10.22124/jms.2020.4343

اثر اسید هومیک، ورمی‌کمپوست و قارچ مایکوریزا بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی ماریتیغال تحت تنش شوری

علیرضا لادن مقدم*[۱] و عیسی ابراهیمی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۲۷

چکیده

گیاه ماریتیغال یا خارمریم از گیاهان دارویی و یک‌ساله‌ای است که در نقاط مختلف دنیا رشد می‌کند. این گیاه در درمان بیماری‌های کبدی و جلوگیری از هپاتیت مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف این پژوهش بررسی اثر شوری، اسید هیومیک، ورمی‌کمپوست و دو نوع قارچ مایکوریزا بر ویژگی‌های گیاه ماریتیغال است. این پژوهش در دو بخش جداگانه به‌صورت بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شده است. برای انجام این پژوهش در بخش اول از دو گونه قارچ مایکوریزا شامل *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* استفاده شد و شوری در سه سطح ۲، ۴ و ۸ dS/m به تیمارها اعمال شد. همچنین در بخش دوم از چهار سطح اسید هیومیک و سه سطح ورمی‌کمپوست و قارچ استفاده شده است. برخی از ویژگی‌های مرفولوژیک و چهار آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و سلی‌بین اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داده است که با افزایش شوری ویژگی‌های گیاه شامل طول ریشه‌چه، وزن خشک گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه کاهش معنی-داری یافته است و مدت زمان لازم برای جوانه‌زنی افزایش یافته است. همچنین بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذرها تیمار قارچ مایکوریزا *Glomus intraradices* در شرایط شوری با غلظت ۲ dS/m به‌مقدار ۹۸/۴۵ درصد بوده است و کم‌ترین مقدار درصد جوانه‌زنی نیز مربوط به تیمار قارچ مایکوریزا *Glomus mossea* در شرایط تنش شوری ۸ dS/m به مقدار ۷۰/۳۲ درصد بوده است. بالاترین فعالیت آنزیم‌ها در تیمار ۷۵ درصد ورمی‌کمپوست و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر اسید هیومیک در شرایط رشد قارچ *Glomus intraradices* به‌دست آمده است. استفاده از قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices*، ورمی‌کمپوست و اسید هیومیک سبب بهبود ویژگی‌ها (ویژگی‌های مورفولوژیک شامل طول ریشه‌چه، درصد جوانه‌زنی، وزن خشک و طول ساقه‌چه و ویژگی‌های بیوشیمیایی شامل آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و سلی‌بین) در گیاه ماریتیغال شده است.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، خارمریم، سوپراکسید دیسموتاز، سلی‌بین، کود آلی

۱- گروه باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران
۲- دانشجوی دکتری خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
*نویسنده مسئول: LMAR13201396@Yahoo.com

مقدمه

ماریتیغال یا خارمریم (*Silybum marianum* L.) گیاهی دارویی، علفی و یک‌ساله است که در نقاط مختلف ایران به‌صورت وحشی یافت می‌شود. این گیاه در رویشگاه‌های طبیعی خود در برخی مناطق معتدله با شرایط آب و هوای مدیترانه‌ای قادر به گذراندن دوره سرمای زمستان است به‌همین دلیل می‌تواند به‌عنوان یک محصول پاییزه نیز در آن مناطق کشت شود، ولی در نواحی سردسیری مدیترانه‌ای باید در فصل بهار کشت گردد (Omidbeigi, 2005).

مواد مؤثره دانه‌های گیاه ماریتیغال از نوع فلاونولیگنان‌ها هستند، که این مواد ۱/۵ تا ۳ درصد وزن دانه ماریتیغال را تشکیل می‌دهند (Dewick, 1998). به‌نظر می‌رسد فعالیت مواد مؤثره این گیاه در درمان بیماری‌های کبد و جلوگیری از هپاتیت به خاطر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت آن‌ها باشد، به‌طوری‌که از پراکسیداسیون چربی و تخریب غشا سلولی جلوگیری می‌نماید. علاوه بر این بیوسنتز پروتئین را تحریک نموده و ترمیم سلول‌ها را در کبد صدمه‌دیده تسریع می‌نماید (Alikaridis *et al.*, 2000). منشاء این گیاه نواحی شرقی مدیترانه گزارش شده است و فراوان‌ترین منطقه رشد این گیاه، سواحل جنوب شرقی انگلیس، ایران، آمریکای شمالی و استرالیا و نیوزیلند می‌باشد (Greenlee *et al.*, 2007).

قارچ‌های مایکوریزا از نظر اکولوژیک دارای اهمیت زیادی هستند، چرا که این قارچ‌ها با ریشه گیاهان همزیستی برقرار می‌کنند. به‌طورکلی بیش از ۹۰ درصد از گیاهان با این قارچ‌ها می‌توانند همزیستی داشته باشند. از این قارچ‌ها به‌عنوان پل زنده بین خاک و گیاه یاد می‌شود (Smith and Read, 1997). ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نظیر رطوبت، نوع خاک، مقدار و نوع مواد آلی خاک و شرایط اقلیمی نظیر میزان نور، حرارت و نوع پوشش گیاهی و همچنین فلور میکروبی خاک همگی بر روی نوع مایکوریزا و شدت رابطه آن موثر می‌باشند (Mostajeran and Zoie, 2006).

علایم تنش شوری در گیاهان تقریبا مشابه کمبود فسفر به شکل آب‌دار شدن و تیره رنگ‌شدن برگ‌ها مشاهده می‌گردد. بنابراین شوری باعث کاهش فسفر در گیاه می‌شود، لذا قارچ‌های مایکوریزا می‌توانند با افزایش جذب فسفر توسط گیاه از اثرات منفی تنش شوری بکاهند (Ojala *et al.*, 1983). در گیاهان مایکوریزی غلظت پتاسیم بیش‌تر از گیاهان غیر مایکوریزی می‌باشد و بدین ترتیب با افزایش نسبت K/Na همزیستی مایکوریزی گیاه را در برابر اثرات منفی سدیم، محافظت می‌نماید. اثرات شوری و تلقیح با قارچ *Glomus intraradices* بر روی نهال‌های هشت ماهه مرکبات مورد بررسی قرار گرفته و مشاهده گردیده است که جذب کلر و غلظت کلر در بخش هوایی گیاهان مایکوریزی افزایش یافته است (Graham and Syvertsen, 1989). قنبری و همکاران (Ghanbari *et al.*, 2013) تاثیر ۵ سطح آمینولولینیک اسید (ALA) را بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌های ماریتیغال بررسی کردند. ALA در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار تحت شرایط شوری، بیش‌ترین طول ریشه و طول برگ و وزن تازه دانهال را تولید کرد. نتایج نشان داد که غلظت‌های کم ALA (۰/۲۵- ۱ mM) تاثیر تنش شوری را در ماریتیغال اصلاح می‌کند.

احمدیان و همکاران (Ahmadian *et al.*, 2012) اثرات خشکی و شوری را به‌صورت جداگانه و با غلظت‌های مختلف بر ویژگی‌های جوانه‌زنی ماریتیغال بررسی کردند. نتایج نشان داد که مقاومت بذور ماریتیغال در شرایط تنش خشکی بهتر از شوری است سطوح بالای نمک سبب می‌شود که طول ریشه ۱۱ و طول ساقه دو درصد نسبت به شرایط خشکی کاهش پیدا کند. بنابراین اثرات بخصوص محلول نمک در یک درصد معنی‌دار بوده و وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه تحت شرایط خشکی افزایش می‌یابد. عموزاد و همکاران (Amoozad *et al.*, 2013) تاثیر ۵ سطح پرایمینگ و ۵ سطح شوری را بر بذور ماریتیغال بررسی کردند و نتایج نشان داد تاثیر تیمارها و برهمکنش آن‌ها اثر معنی‌داری بر افزایش میزان جوانه‌زنی، یکنواختی جوانه‌زنی، افزایش ۵۰ درصد سرعت جوانه‌زنی و افزایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و شاخص بنیه بذور داشت. نتایج نشان داد که تیمارهای بذر مخصوصاً هیدرو پرایمینگ، کارایی بیش‌تری را نسبت به تیمار شاهد، تحت تنش شوری نشان می‌دهد. با توجه به کمبود اطلاعات در زمینه اثر تنش شوری، قارچ‌های مفید مانند مایکوریزا و همچنین اصلاح‌کننده‌های آلی همانند ورمی‌کمپوست و هیومیک اسید روی گیاه دارویی ماریتیغال انجام این پژوهش از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. لذا هدف از انجام

این مطالعه بررسی اثر شوری، ورمی‌کمپوست، اسید هیومیک و دو گونه قارچ مایکوریزا بر روی برخی ویژگی‌ها مرفولوژیک و آنزیمی گیاه دارویی ماریتیغال است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش بذر ماریتیغال از مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی اصفهان تهیه شد، سپس درون گلدان در گلخانه‌ای واقع در شهرستان گرگان در بهار سال ۱۳۹۴ کاشته شدند. برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شد. آزمایش اول برای تعیین تأثیر بذرمال‌کردن بذر گیاه ماریتیغال با دو گونه قارچ مایکوریزا در شرایط تنش شوری بر روی صفات مرتبط با جوانه‌زنی بود که تیمارهای اعمال‌شده به‌ترتیب شاهد، شوری ۲ dS/m، ۴ dS/m و ۸ dS/m، بذرمال‌کردن با قارچ مایکوریزا گونه *Glomus mosseae* (M1) و *Glomus intraradices* (M2) می‌باشد. بنابراین آزمایش شامل ۵ تیمار بوده که با اضافه‌کردن ۳ تکرار برای هر تیمار ۱۵ واحد آزمایشی دارد. این پژوهش به‌صورت طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. در بخش بعدی این پژوهش از سه سطح ورمی‌کمپوست شامل ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد وزنی (به‌ترتیب V1، V2 و V3) و همچنین چهار سطح اسید هیومیک شامل صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر (به‌ترتیب H0، H1، H2 و H3) و دو نوع قارچ (M1 و M2) نامبرده‌شده در بخش قبل استفاده شده است. در این بخش میزان چهار آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و سیلی‌بین مورد بررسی قرار گرفته است.

برای تیمارهای مورد مطالعه بذرها به‌صورت جداگانه به این دو گونه قارچ آغشته شده و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. برای ایجاد تنش شوری، از محلول NaCl با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۸ dS/m و به‌میزان ۱۰ میلی‌لیتر در هر پتری‌دیش استفاده شد. پس از بسته‌شدن درب پتری‌دیش‌ها، به ژرمیناتور انتقال داده شده و به‌مدت ۱۰ روز در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. به‌مدت ۱۰ روز، جوانه‌زنی بذور در هر روز شمارش می‌گردند و معیار جوانه‌زنی بذور خروج ۲ میلی‌متری ریشه‌چه در نظر گرفته شد. در نهایت ویژگی‌های گیاه شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، تعداد برگ‌های نرمال و وزن خشک گیاه‌چه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز از روش Sahebjamei *et al.*, (2007) در طول موج ۲۴۰ نانومتر، اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز از روش Pandolfini *et al.*, (1992) در طول موج ۴۷۰ نانومتر و برای اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از Gianopolitis and Ries, (1977) استفاده شد و در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت صورت گرفت

سیلی‌بین با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. استاندارد سیلی‌بین از شرکت مرک تهیه شده و با محلول اسید استیک و متانول غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ و ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام تهیه گردید. سپس به دستگاه تزریق شد تا نمودارهای استاندارد به دست آمد. پس از جمع‌آوری اطلاعات ابتدا تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون Tukey در سطح پنج درصد انجام شد. کلیه تجزیه‌های آماری و محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 و رسم نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel 2013 صورت گرفته است.

نتایج

تجزیه واریانس ویژگی‌های مرفولوژیک

نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱ نشان می‌دهد که شوری بر وزن خشک گیاهچه و تعداد گیاهچه‌های نرمال در سطح احتمال پنج درصد و بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌دار داشت. همچنین اثر بذرمال به‌وسیله قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae* و قارچ مایکوریزا *Glomus intraradices* بر درصد جوانه‌زنی، میانگین سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، تعداد گیاهچه نرمال، تعداد گیاهچه‌های غیر نرمال در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شده است.

تجزیه واریانس ویژگی‌های آنزیمی

نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی گیاه ماریتیغال نشان داد که بین اثر تیمارهای مورد مطالعه بر میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و سیلی‌بین در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری بوده است (جدول ۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تیمارهای قارچ بر صفات جوانه‌زنی در تنش شوری

Table 1. Results of variance analysis of Fungi treatments on germination traits in salinity stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares					
		وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	تعداد گیاهچه‌های نرمال Number of normal seedlings	طول ساقه‌چه Shoot length	طول ریشه‌چه Radicle length	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه‌زنی Germination percentage
قارچ Fungi (F)	2	51.76*	43.87*	434.42*	0.34*	0.98*	0.18*
شوری Salinity (S)	2	37.65*	54.12*	2321.91**	18.26**	26.17**	47.38**
S*F	4	43.45ns	23.43ns	6532.07ns	0.40ns	0.57ns	0.41ns
خطا Erorr	23	78.32	43.12	231.15	43.59	8.61	0.70
ضریب تغییرات CV(%)	-	12.80	34.28	10.54	19.51	1.40	8.90

ns، * و ** به‌ترتیب تفاوت غیر معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

ns, *, **: no significant, and significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively

ویژگی‌های مرفولوژیک

در شکل ۱ مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف اسید هیومیک، ورمی‌کمپوست و قارچ بر روی ویژگی‌های گیاه ماریتیغال نمایش داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود تیمارهای مختلف شوری و قارچ باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری در ویژگی‌های گیاه مورد مطالعه شده است. با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثر بذرمال-کردن قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae* (M1) و قارچ مایکوریزا *Glomus intraradices* (M2) در ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر ماریتیغال در شرایط بدون تنش (شاهد) و تنش شوری (غلظت‌های ds/m ۲، ۴، ۸) بیش‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن گیاهچه و تعداد گیاهچه سالم را به خود اختصاص داده است. به‌طورکلی با افزایش شوری وضعیت گیاه دچار افت شده است. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در بذرهای گیاه ماریتیغال مربوط به تیمار قارچ مایکوریزا *Glomus mossea* (M1) معادل با ۹۸/۷۶ درصد بوده است و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به شرایط تنش شوری dS/m ۸ به‌میزان ۴۲/۵۶ درصد بوده است. مرحله جوانه‌زنی از حساس‌ترین مراحل رشدی گیاه در شرایط تنش‌های خشکی و شوری می‌باشد و درصورتی‌که گیاه این مرحله را به‌خوبی تحمل کند، معمولاً سایر مراحل رشد را بدون مشکل سپری خواهد کرد. طبق گزارش (Turjaman *et al*., 2006) تلقیح قارچ مایکوریزا علاوه بر افزایش شاخص‌های ریشه، سبب رشد اندام هوایی نیز می‌گردد. در پژوهش حاضر *G.mosseae* و *P.indica* سبب افزایش وزن تر هوایی نسبت به گیاه شاهد شد و وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و وزن تر ریشه هوایی در تلقیح با *G.mosseae* افزایش نشان داد. بیش‌ترین مقدار وزن خشک گیاهچه در تیمارهای قارچ مشاهده شده است و قارچ *Glomus intraradices* (M2) و *Glomus mossea* (M1) به‌ترتیب ۰/۱۹ و ۰/۱۸ گرم به‌دست آمده است که تفاوت معنی‌داری بین دو قارچ مشاهده نشده است.

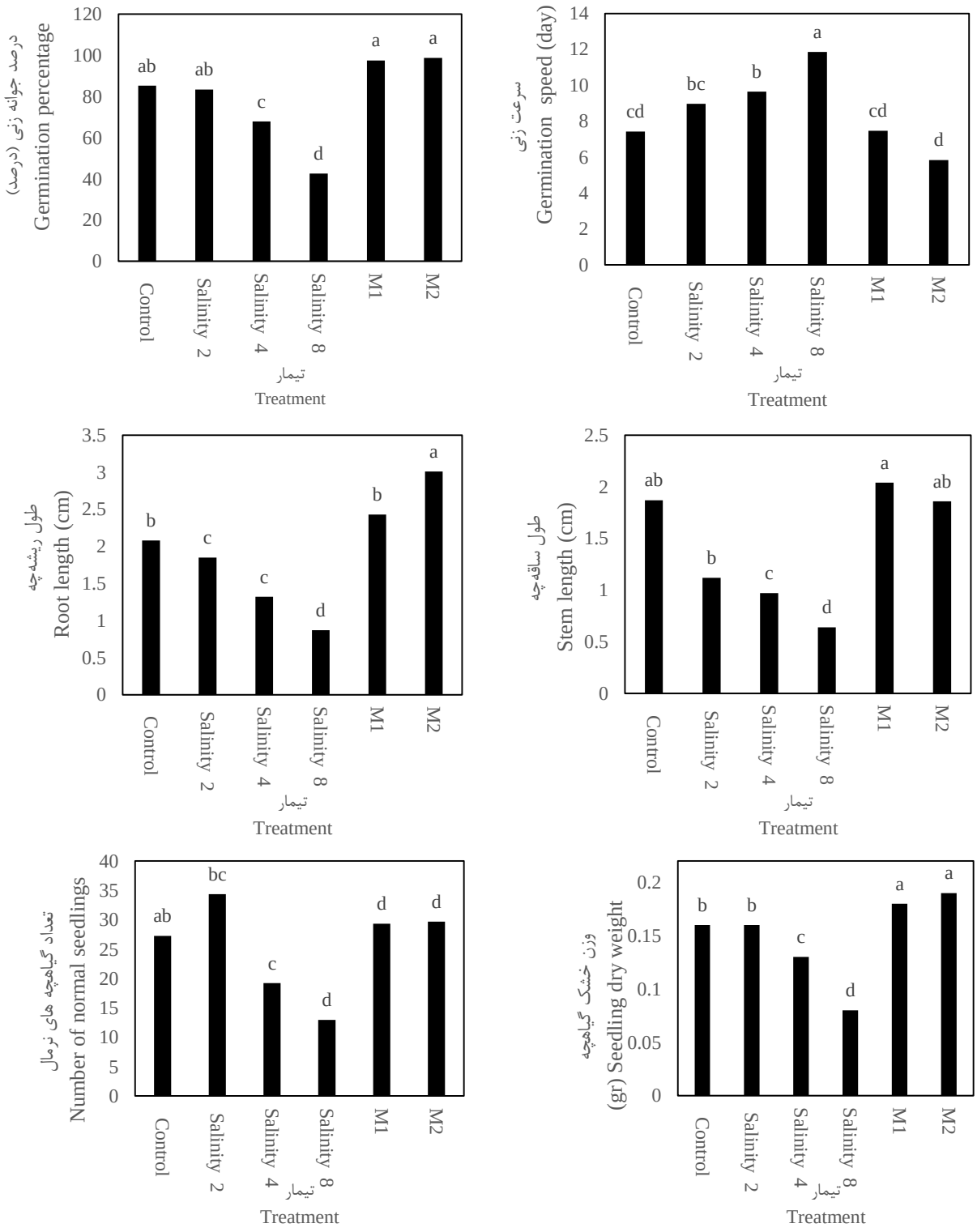
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تیمارهای اسید هیومیک، قارچ و ورمی‌کمپوست اعمال شده بر فعالیت آنزیمی

Table 2. Results of variance analysis of applied treatments on activity enzymatic

S.O.V	df	میانگین مربعات Mean of squares			
		سیلی‌بین Silybin	آنزیم کاتالاز Catalase	آنزیم پراکسیداز Peroxidase	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase
تکرار Replication (R)	2	0.142ns	0.340ns	0.980ns	0.180ns
تیمار Treatment (T)	32	21.970**	19.280**	40.970**	4.138*
R *T	98	32.070**	0.400**	0.570*	0.410**
خطا Erorr	65	0.15	0.09	0.11	0.07
ضریب تغییرات CV(%)	-	0.98	11.51	12.4	8.9

ns، * و ** به‌ترتیب تفاوت غیر معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

ns, *, **: no significant, and significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively

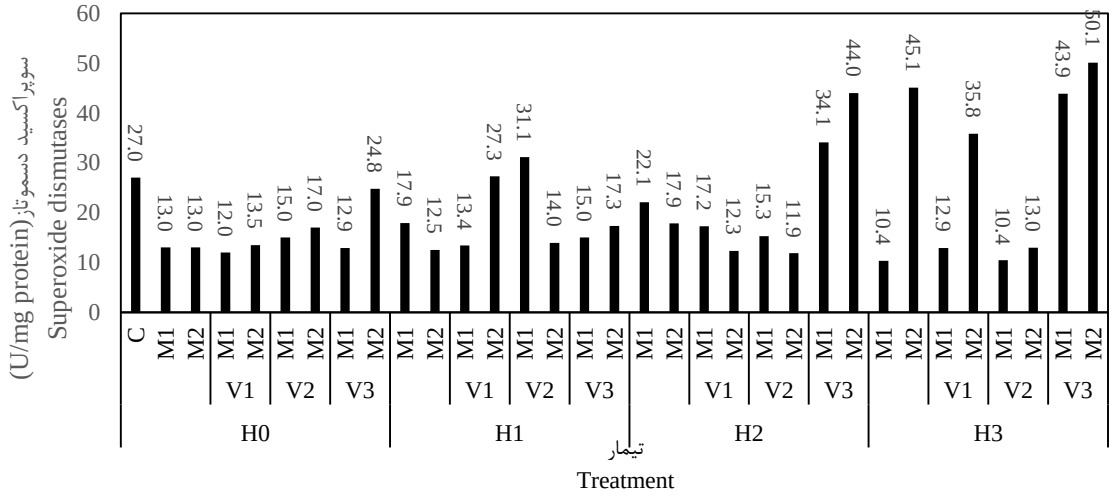


شکل ۱- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در تیمارهای مختلف

Figure 1. Mean Comparison of studied traits in different treatments

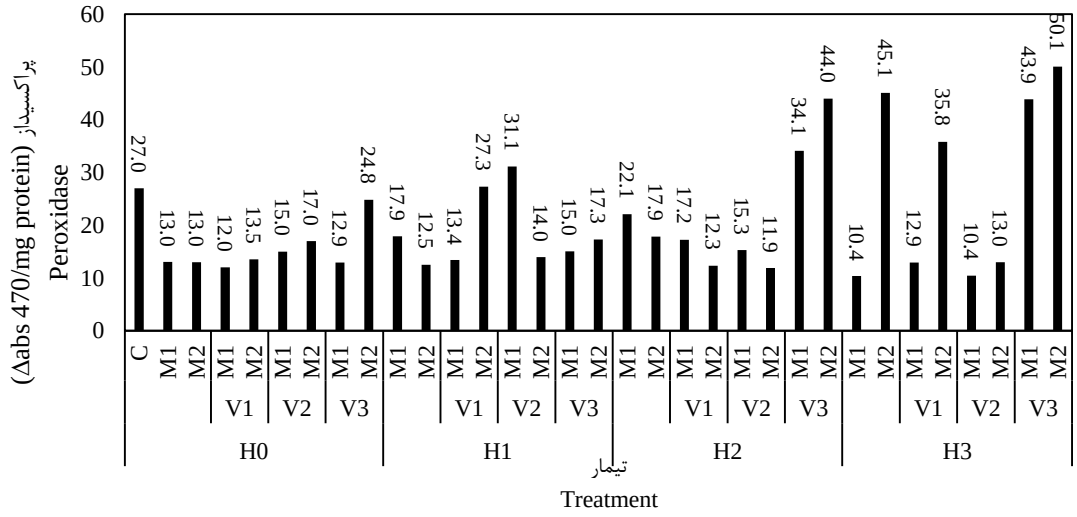
اصلانی و همکاران (Aslani *et al*., 2011) بیان کردند که گونه *Glomus mossea* به‌دلیل افزایش قندهای محلول و کلروفیل در برگ‌ها بیش‌ترین وزن خشک برگ را در گیاه ریحان تولید می‌کند. نتایج یک مطالعه نشان داد که مایکوریزا از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مثل فسفر و برخی عناصر کم‌مصرف و افزایش جذب آب و کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، سبب بهبود در رشد و عملکرد گیاهان میزبان می‌گردند (Sherameti, 2008). بیش‌ترین طول ریشه‌چه در بذرهای گیاه

ماریتیغال مربوط به تیمار قارچ مایکوریزا *Glomus intraradices* (M2) میزان ۳/۰۱ cm بوده است و کم-ترین طول ریشه‌چه مربوط به شرایط تنش شوری dS/m ۸ به‌میزان ۰/۸۷ cm بود. قارچ‌ها به‌وسیله تولید هورمون-های گیاهی و همچنین افـزایش فعالیـت آنـزیمی می-توانند باعث افزایش رشد گیاه و رشد ریشـه شوند، در نتیجـه ظرفیـت جذب عناصرغذایی را بالا برده و شانس گیاه را در کنترل از شرایط کم‌آبی افزایش می‌دهند. هیف-های خارجی مایکـوریزا، اصـلی‌تـرین عامـل در تامین کربن در خاک محسوب می‌شوند (Alguacil *et al.*, 2004; Barea *et al.*, 2005; Swift, 2004). دولت آبادی و همکاران (Dolatabadi *et al.*, 2012) گزارش کردند تلقیح گونه مایکوریزا *Glomus intraradices* سبب افزایش رشد محسوس (۵۱/۲ سانتی‌متر) نسبت به شاهد (۳۷/۸ سانتی‌متر) شده است. با توجه به شکل ۱ کوتاه‌ترین مدت زمان (سرعت) جوانه‌زنی در بذرهای گیاه ماریتیغال مربوط به تیمار بذرمال با قارچ مایکوریزا *Glomus intraradices* به‌میزان ۵/۸۴ روز بود. به-طورکلی نتایج نشان داده است که قارچ *Glomus intraradices* (M2) نسبت به قارچ *Glomus mossea* (M1) باعث بهبود بیش‌تر ویژگی‌های گیاه شده است. البته این مسئله در مورد سرعت جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه برعکس بوده است. در تعداد گیاهچه‌ها، درصد جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه نیز مشاهده شده است که بین تیمارهای قارچ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما این تیمارها با تیمارهای شوری اعمال‌شده دارای تفاوت معنی‌داری هستند.



شکل ۲- تأثیر قارچ مایکوریزا و غلظت‌های اسید هیومیک بر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

Figure 2. Effect of mycorrhizal fungi and concentrations of Humic acid on Super oxid desmutase



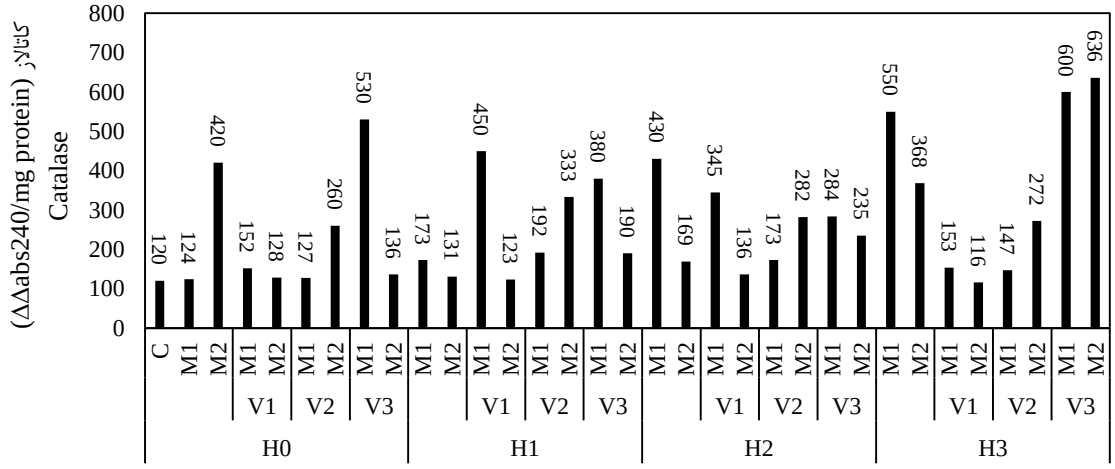
شکل ۳- تأثیر قارچ مایکوریزا و غلظت‌های اسید هیومیک بر آنزیم پراکسیداز

Figure 3. Effect of mycorrhizal fungi and concentrations of Humic acid on Peroxidase

ویژگی‌های آنزیمی

اثر تیمارهای اعمال‌شده در بستر کشت گیاه داروئی ماریتیغال بر سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه (شکل ۲) نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود کم-ترین مقدار سوپر اکسید دسیموتاز در گیاه 190 U/mg protein) مربوط به ورمی کمپوست ۲۵ درصد + هیومیک اسید g/l ۷۵+ قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae* و بیش‌ترین میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه (310 U/mg protein) مربوط به شاهد بود. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز به‌عنوان یک آنتی-اکسیدانت نقش مهمی در تبدیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به پراکسید هیدروژن بر عهده دارد (Samis *et al.*, 2002) که در زمان ایجاد تنش این آنزیم‌ها برای مقابله با شرایط و حفاظت گیاه در مقابل این تنش‌ها افزایش پیدا می‌کنند. نتایج این پژوهش با نتایج امینی و همکاران (Amini *et al.*, 2009) بر روی نحوه فعالیت آنزیم‌ها در مراحل رشد زایشی جو مطابقت دارد.

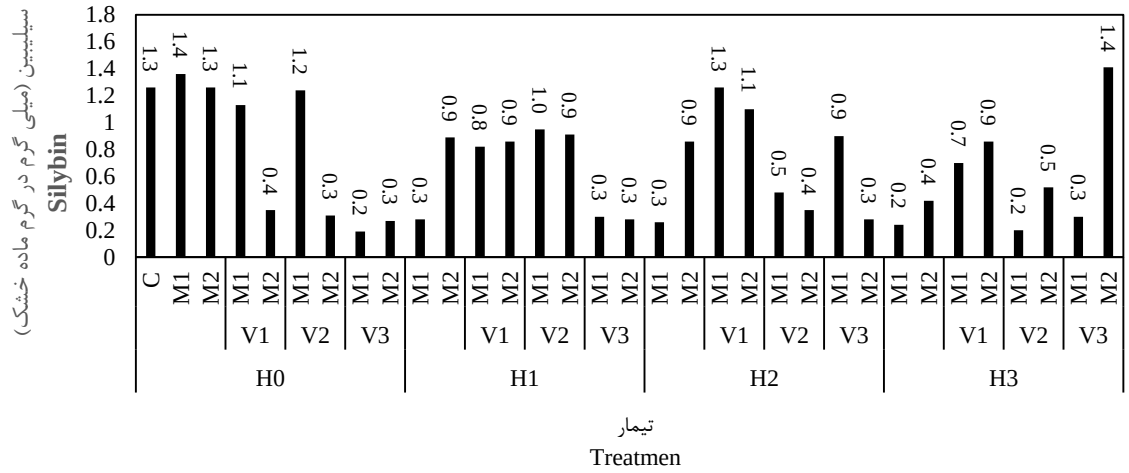
در شکل ۳ اثر تیمارهای اعمال‌شده در بستر کشت گیاه داروئی ماریتیغال بر آنزیم پراکسیداز در گیاه نمایش داده شده است. مشاهده می‌شود که بیش‌ترین مقدار آنزیم پراکسیداز در گیاه (Δabs 470/mg protein) ۳۲۰ مربوط به شاهد و کم‌ترین آنزیم پراکسیداز در گیاه Δabs) (470/mg protein ۲۹/۵۲ مربوط به ورمی‌کمپوست ۲۵ درصد + هیومیک اسید g/l ۷۵+ قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae* است. آنزیم پراکسیداز از گروه آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز است که قادر به تجزیه ماده سمی آب اکسیژنه در فرایندهای مختلف سلولی است. حداکثر فعالیت این آنزیم در فصول سرد سال گزارش شده است. افزایش فعالیت پراکسیداز رابطه نزدیکی با مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی دارد (Koca *et al.*, 2007). اثر تیمارهای اعمال‌شده در بستر کشت گیاه داروئی ماریتیغال بر آنزیم کاتالاز در گیاه (شکل ۴) نشان داد که بیش‌ترین مقدار آنزیم کاتالاز در گیاه (Δabs240/mg protein) ۶۳۶ مربوط به ورمی کمپوست ۲۵ درصد + هیومیک اسید g/l ۷۵+ قارچ مایکوریزا *Glomus intraradices* و کم‌ترین آنزیم کاتالاز در گیاه (Δabs240/mg protein)۱۲۰ مربوط به شاهد است. آنزیم کاتالاز به‌عنوان یک آنزیم محافظتی در سیستم دفاع آنتی اکسیدانت باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌گردد (Lee *et al.*, 2004). القای فعالیت آنزیم کاتالاز سبب غلبه بر تنش اکسیداتیو از طریق سم‌زدایی پراکسیداز هیدروژن ناشی از واکنش SOD می‌شود. به این دلیل نقش حفاظتی برای غشاها دارد (Sharma and Dubey, 2005).



شکل ۴- تأثیر قارچ مایکوریزا و غلظت‌های اسید هیومیک بر آنزیم کاتالاز

Figure 4. Effect of mycorrhizal fungi and concentrations of Humic acid on Catalase

اثر تیمارهای اعمال‌شده در بستر کشت گیاه داروئی ماریتیغال بر سیلی‌بین در گیاه در شکل ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیش‌ترین مقدار سیلی‌بین در گیاه ۱/۴۱ میلی‌گرم در گرم ماده خشک مربوط به شاهد و کم‌ترین سیلی‌بین در گیاه ۰/۲۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک مربوط به ورمی‌کمپوست ۵۰ درصد+ هیومیک اسید g/l ۷۵+ قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae* بود.



شکل ۵- تأثیر قارچ مایکوریزا و غلظت‌های اسید هیومیک بر آنزیم سیلی‌بین

Figure 5. Effect of mycorrhizal fungi and concentrations of Humic acid on Silybin

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزایش شوری سبب کاهش ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه ماریتیغال شامل درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و... شده است. اما استفاده از قارچ مایکوریزا باعث بهبود وضعیت تغذیه گیاه ماریتیغال شده و در نتیجه باعث بهبود ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه شده است. از بین دو قارچ مایکوریزا گونه *Glomus intraradices* نسبت به گونه *Glomus mossea* عملکرد بهتری از خود نشان داده است. به‌طورکلی نتایج نشان داده است که در شرایطی که گیاه ماریتیغال تحت تاثیر تنش شوری قرار دارد اگر با قارچ مایکوریزا همزیستی داشته باشد می‌تواند اثر این تنش را تا حد زیادی از بین برده و رشد مناسبی را دارا باشد. اثر مثبت را می‌توان به تأثیر بهبودپذیری وضعیت فیزیکی و شیمیایی خاک توسط این مواد و فراهمی بهتر عناصر غذایی برای این گیاه نسبت داد. در نهایتاً نتایج پژوهش حاضر نشان داده است که استفاده از قارچ *Glomus intraradices* و دو ماده هیومیک اسید (۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) و ورمی‌کمپوست (۷۵ درصد وزنی) سبب بهبود وضعیت گیاه ماریتیغال شده است.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

Ahmadian, M., Kalvandi, R. and Zand, F. 2012. Comparison of solute – specific effects on seed germination characteristic of *Silybum marianum* seed at the same osmotic potential under salinity and drought stress conditions, Annals of Biological Research, 3(8): 4145–4153. **(Journal)**

Al – Karaki, G., MeMichael, B. and Zak, J. 2004. Field response of Wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. Mycorrhiza, 14(4): 263 – 269. **(Journal)**

Alguacil, M.D., Caravaca, F., Diaz, G., Marin, P. and Roldán, A. 2004. Establishment of *Retama sphaerocarpa* L. seedlings on a degraded semiarid soil as influence by Mycorrhizal inoculation and sewage-sludge amendment. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 167: 637-644. **(Journal)**

Alikaridis, F., Papadakis, D., Pantelia, K. and Kephalas, T. 2000. Flavonolignan production from *Silybum marianum* transformed and untransformed root cultures. Fitoterapia, 71: 379-384. **(Journal)**

Amini, Z., Haddad, R. and Moradi, F. 2009. Evaluation the effect of water stress on the activity of antioxidant enzymes in the growth stages of barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Agricultural Science and Technology, 12: 46. 65-74. (In Persian)**(Journal)**

Amoozad, Z., Todashki, M.R.M. and EshraghiNezhad, M. 2013. The effect of hydro and Smo ($ZnSO_4$) priming on seed germination characteristics under salt (NaCl) stress on *Silybum marianum* (milk thistle) seeds. Journal of Plant Nutrition and Agricultural Sciences, 5: 2979–2984. **(Journal)**

Aslani, Z., Hassani, A., Rasouli Sedaghani, M.R., Sofidkon, F. and Brin, M. 2011. Effect of two species of Mycorrhiza arbuscular (*Glomus mosseae*, *Giomus intraradices*) on growth of chlorophyll content and phosphorus adsorption in basil (*Ocimum basilicum*) under drought conditions. Iranian Medicinal Plants and Herbs, 27(3): 486-471. **(Journal)**

Barea, J.M., Pozo, M.J., Azcon, R. and Azcon, C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany, 56(417):1761-1778. **(Journal)**

Dewick, D.M. 1998. Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach, John Wiley and Sons, Canada, 465 pp. **(Book)**

Dolatabadi, H., Mohammadi Goltapeh, E., Moieni, A. and Varma, A. 2012. Evaluation of different densities of auxin and endophytic fungi (*Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera*) on Mentha piperita and Thymus vulgaris growth. Journal of Biotechnology, 11(7):1644-1650. **(Journal)**

Ghanbari, F., Zarei, B., Pour – Aboughadareh, A. and Kordi, S. 2013. Investigation of 5 – aminolevolinic acid (ALA) effects on seed germination and seedling growth of *Silybum marianum* under salinity stress, International Journal of Biosciences, 3(9): 95-101. **(Journal)**

Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology, 59(2):309–314. **(Journal)**

Greenlee, H., Abascal, K., Yarnell, E. and Ladas, E. 2007. Clinical applications of *Silybum marianum* in oncology. Integrative Cancer Therapies, 6(2):158-65. **(Journal)**

Koca, H., Bor, M., Ozdemir F. and Turkan, I. 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environmental and Experimental Botany, 60: 344- 351. **(Journal)**

Lee, D.H., Blomhoff, R. and Jacobs, D.R. 2004. Is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? Free Radical Research, 38: 535-539. **(Journal)**

Marschner, H. and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159: 89-102. **(Journal)**

Mostajeran, A. and Zoie, F. 2006. Mycorrhizal symbiosis, Isfahan University Press. (In Persian)**(Book)**

Ojala, J.C., Jarrell, W.M., Menge, J.A. and Johnson, E.L.V. 1983. Jnfluence of mycorrhizal fungi on the mineral nutrition and yield of onion in saline soil. Agronomy Journal, 75:755-258. **(Journal)**

Omidbeigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plants. Astan Quds Razavi Publishing House, Mashhad, 347 pages. (In Persian)**(Book)**

PandolÞni, T., Gabrielli, R., and Comparini, C. 1992. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. Plant Cell and Environment, 15: 719-725. **(Journal)**

Sahebjamei, H., Abdolmaleki, P. and Ghanati, F. 2007. Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco cells. Bioelectromagnetics, 28:42–47. **(Journal)**

Samis, K., Bowley, S. and McKersie, B. 2002. Pyramiding Mn-superoxide dismutase transgenes to improve persistence and biomass production in alfalfa. Journal of Experimental Botany, 53(372):1343–1350. **(Journal)**

Sharma, P. and Dubey, R.S. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulators, 46:209–221. **(Journal)**

Sherameti, I., Tripathi, S., Varma, A. and Oclmuller, 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-Microb Interactions, 21: 799 – 807. **(Journal)**

Smith, S.E. and Read, G.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Aeademic press, San Diego California, PP: 126 – 60. **(Book)**

Swift, C.E. 2004. Mycorrhiza and soil phosphorus levels. Area Extension Agent: http://www.colostate.edu/Depts/CoopExt/TRA/PLANTS/mycorrhiza. **(Journal)**

Turjaman, M., Tamai, Y. and Santoso, E. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi increased early growth of two nontimber forest product species Dyera polyphylla and Aquilaria filarial under greenhouse conditions. Mycorrhiza, 16:459 –4 64. **(Journal)**

The effect of Humic acid, Vermicompost and Mycorrhizal fungus on the characteristics of *Silybum marianum* medicinal plant influenced by salinity stress

Alireza Ladan Moghadam [1]*and Eisa Ebrahimi[2]

Received: June 18, 2018 Accepted: December 18, 2018

Abstract

Silybum marianum is a one-year lasting medicinal plant which grows around the world. This herb is used to treat liver disease and prevent hepatitis. The aim of this study is to investigate the effect of salinity, Humic acid, Vermi-compost and two types of mycorrhizal fungi on the characteristics of *Silybum marianum* plants. This research is carried out in two phase in a random design and three replications. To do so, two species of mycorrhizal fungi including *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* were used and salinity treatments were applied at 3 levels of 2, 4 and 8 dS/m. In the other part, fungi and four levels of humic acid and three levels of vermicompost have been used. Some morphological characteristics and four enzymes of Superoxide dismutase, Peroxidase, Catalase and Silybin were measured. The results indicate that with increasing salinity, plant characteristics such as root length, seedling dry weight, germinating percentage and stem length decreased significantly and the duration of germination has also increased. Moreover, the highest germination percentage (95.98%) and the lowest one (70.32%) were observed in *Glomus intraradices* and *Glomus mossea* under 2 dS/m and 8 dS/m salinity conditions respectively. The highest amount of enzymes was obtained in the treatment of vermicompost (75%) and humic acid (75 mg/l) under growth conditions of Glomus intraradices. It has been observed that the usage of mycorrhizal fungus in species, *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*, has improved plant *Silybum marianum* characteristics (Morphologic of properties such as root length, seedling, dry matter and shoot length, and biochemistry of properties such as Superoxide dismutase, Peroxidase, Catalase and Silybin).

Keywords: Organic fertilizer; Silybin; *Silybum marianum*; Superoxide dismutase

How to cite this article

Ladan Moghadam, A. and Ebrahimi, E. 2020. The effect of Humic acid, Vermicompost and Mycorrhizal fungus on the characteristics of *Silybum marianum* medicinal plant influenced by salinity stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(1): 93-102. (In Persian)(**Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2020.4343

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. Department of Horticulture, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran
2. Ph.D Student, Soil Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
*Corresponding author: LMAR13201396@Yahoo.com