



تأثیر همزیستی میکوریزی در تعدیل اثرات زیانبار علفکش هالوکسی‌فوب-آر متیل استر در آفتاگردان

زینب دهقان^۱، جلیل خارا^۲

دریافت: ۹۸/۴/۶ پذیرش: ۹۸/۸/۲۱

چکیده

به منظور بررسی اثرات تلقیح با قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus intraradices* در تعدیل اثر علفکش هالوکسی‌فوب آرتیل استر با نام تجاری سوپرگالانت بر شاخص‌های بیوشیمیایی و پاسخ‌های هورمونی گیاه آفتاگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم لاکومکا، یک آزمایش فاکتوریل به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۴ سطح غلظت علفکش (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ پی.پی.ام) در ۳ تکرار انجام شد. در مرحله ۴ تا ۶ برگی، غلظت‌های مختلف علفکش به اندام هوایی گیاهان پاشیده شد. اثرات علفکش روی درصد همزیستی میکوریزی و سایر شاخص‌ها، در گیاهان تحت تیمار با میکوریز و شاهد کاملاً مشهود بود. با افزایش غلظت علفکش، افزایش ۶۰ (درصد) مقدار جیبرلین در گیاهان همزیست و کاهش معنی‌دار مقدار اکسین اندام هوایی (۴۸ درصد) نسبت به شاهد مشاهده شد. علاوه بر این، افزایش مقدار پرولین ۲/۷ و ۱/۵ برابر در اندام هوایی و ریشه و محتوای قندهای محلول (۳۶/۵ و ۲۳/۵ درصد در اندام هوایی و ریشه) و نیز کاهش محتوای پروتئین کل (۲۹/۲ درصد در اندام هوایی و ۱/۱ درصد در ریشه) و کاهش وزن خشک (۶۱/۳ و ۷۶/۰ درصد در اندام هوایی و ریشه) گیاهان شاهد و همزیست قابل توجه بود. با افزایش غلظت علفکش، مقدار آسیب واردہ به گیاه بیشتر شد و گیاه برای مقابله با این شرایط با افزایش جیبرلین، پرولین و قندهای محلول پاسخ داد. این پاسخ‌های سازشی در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز شدیدتر و مؤثرتر بود. از این رو، به نظر می‌رسد تلقیح گیاهان آفتاگردان با *G. intraradices* می‌تواند این گیاه را در برابر اثرات زیانبار علفکش فوق مقاوم‌تر کند.

واژه‌های کلیدی: میکوریز، علفکش، هالوکسی‌فوب آر-متیل استر، آفتاگردان، سوپرگالانت.

دهقان، ز. و ج. خارا. ۱۳۹۹. تأثیر همزیستی میکوریزی در تعدیل اثرات زیانبار علفکش هالوکسی‌فوب-آر متیل استر در آفتاگردان. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۴۳: ۵۷-۶۴.

۱- دانشجوی دکترا فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران- مسئول مکاتبات. j.khara@urmia.ac.ir

استار تعداد علوفه‌های هرز باریک برگ و پهن برگ به طور معنی داری کاهش یافته است (میری و رحیمی، ۱۳۸۸). جایگاه اصلی فعالیت علوفه کش هالوکسی فوب-آر متیل استر که به وسیله برگ‌ها به سرعت جذب می‌شود، بافت‌های مریستمی است. این ماده در مریستم‌ها جمع شده و به آسانی توسط ریشه‌های گیاهچه‌های در حال جوانه‌زنی جذب می‌شود (زند و همکاران، ۱۳۸۹).

قارچ‌های میکوریز آریوسکولار از جمله میکروارگانیسم‌های خاک می‌باشند که قادر به ایجاد همزیستی با ریشه طیف وسیعی از گیاهان بوده و روی رشد گیاه میزان اثر می‌گذارند (اینیوبونگ و همکاران، ۲۰۰۸). این قارچ به عنوان فراوان و ترین نوع قارچ‌های میکوریز با حضور هیف‌های قارچی در داخل سلول‌های ریشه، عدم ایجاد شبکه هارتیگ و غلاف قارچی و ایجاد هیف‌های قارچی در سطح ریشه تمایز می‌گردد. قارچ‌های میکوریز توانایی تشکیل جوامع همزیست با اغلب گونه‌های گیاهی را داشته و به عنوان یک نوع کود زیستی، برای افزایش محصولات کشاورزی دارای اهمیت‌اند (احمدخان و همکاران، ۲۰۰۷؛ خان، ۲۰۰۵). از اثرات مهم قارچ‌های میکوریز افزایش میزان آب گیاه، جذب عناصر غذایی مثل فسفر، مس، روی و بالابردن هدایت روزنه‌ای برگ‌های گیاهان (اوو و همکاران، ۲۰۱۱) و افزایش میزان تنظیم اسمزی ذکر شده است. تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی که منجر به افزایش بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌شوند نیز اهمیت دارد (فان و لیو، ۲۰۱۱).

با توجه به مطالعه ذکر شده و آسیب‌های وارده از طرف هالوکسی فوب به گیاهان غیرهدف تحت تأثیر آن، لازم است به دنبال راهکاری برای کاهش اثرات مخرب این علوفه کش در مزارع و گیاهان باشیم. گیاهان زراعی با وجود این که با تیمار علوفه کش از بین نمی‌روند آسیب‌هایی را از نظر فیزیولوژیک و توازن هورمونی تحمل می‌کنند. برای این منظور در مطالعه حاضر استفاده از تیمار کمکی میکوریز (*Glomus intraradices*) به عنوان راهکار پیشنهادی برای تخفیف تنش علوفه کش، مورد آزمایش قرار گرفت تا میزان کارآبی آن در مقایسه با گیاهان شاهد مقایسه گردد.

مواد و روش‌ها

آزمایش فاکتوریل به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۴ سطح غلظت علوفه کش هالوکسی فوب (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ پی.ام) در ۳ تکرار انجام شد. تعداد گلدان‌ها ۲۴ عدد در نظر گرفته شد.

مقدمه

کترول بیولوژیکی علوفه‌های هرز، مستلزم استفاده سنجیده از دشمنان طبیعی بازدارنده رشد، یا کاهش جمعیت گونه‌های علوفه هرز می‌باشد (ابوزینا و هاگاگ، ۲۰۱۶). اصطلاح «اولین محل» یا محل تأثیر علوفه کش، معمولاً برای توصیف محل فعالیت بیوشیمیابی که در آن علوفه کش می‌تواند باعث جلوگیری از یک فرآیند مهم رشد گیاه شود، به کار می‌رود. انتظار می‌رود که این محل به سرعت به علوفه کش عکس العمل نشان دهد. محقق باید تحقیقات دقیقی درباره تأثیر علوفه کش‌های جدید بر روی سوخت و ساز گیاه انجام دهد تا بتواند چگونگی تأثیر علوفه کش را بیابد (آگوستینتو و همکاران، ۲۰۱۶).

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) گیاهی است یک‌ساله از تیره کاسنی (Asteraceae) که به صورت بوته‌ای استوار رشد می‌کند و دارای ریشه‌ای توسعه یافته است. این گیاه چهارمین منبع تولید جهانی روغن و چربی گیاهی به شمار می‌آید. آفتابگردان در خاک‌هایی که بافت آن‌ها از شنی تا رسی تغییر می‌کند، به خوبی رشد می‌کند و طول دوره رویشی بسته به رقم آن حدود ۳ تا ۵ ماه است (خواجه پور، ۱۳۹۱). دانه آفتابگردان علت داشتن اسیدهای چرب مفید نظیر اسید اولئیک و اسید لینولئیک که جزء اسیدهای چرب اثبات شده می‌باشد، مورد استقبال بسیاری از مردم جهان قرار گرفته است (سیلر، ۲۰۰۷).

هالوکسی فوب آرمتیل استر (با نام تجاری سوپرگالانت یا گالانت‌سوپر) که از این پس برای اختصار هالوکسی فوب نامیده می‌شود جزو علوفه‌های فوب به حساب می‌آید. علوفه‌کش‌های فوب بازدارنده فعالیت آنزیم استیل کوآنزیم-آکربوکسیلاز (ACCase) از آنزیم‌های اولیه ساخت اسیدهای چرب هستند. فوب‌ها به ACCase متصل شده و مانع فعالیت آن در گیاهان می‌شوند. فوب‌ها ساخت اسیدهای چرب را کند و در نهایت متوقف می‌کنند و بدین ترتیب سبب اختلال در ساختار غشا می‌شوند که برای رشد سلول ضروری است. این علوفه‌کش‌ها عمدهاً روی شاخ و برگ گیاه قابل مصرف بوده و فعالیت اندرکی در خاک دارند. معمولاً در شرایط رطوبت نسبی و دمایهای بالاتر و نور کم (یه هنگام غروب آفتاب)، بهتر جذب می‌شوند. نتایج به دست آمده از تأثیر هالوکسی فوب در مزارع علوفه‌کش‌های الکلر، ترافلان، بوتیسان استار و لوئنرال در مزارع کلنزا و علوفه‌های هرز همراه آن، نشان داده که عملکرد دانه در تیمار با هالوکسی فوب همراه با لوئنرال مشابه شاهد بدون علوفه هرز بوده است. در تیمارهای هالوکسی فوب، لوئنرال و بوتیسان

و ۹۸ میلی لیتر FeCl_3 و ۳۵ میلی لیتر HClO_4 درصد) به نسبت ۲:۱ تهیه و میزان هورمون اکسین تولید شده در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (بنت و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین، برای سنجش هورمون جیبریلین، ۱ میلی لیتر از نمونه استخراج شده با ۱ میلی لیتر الكل مطلق در ارلن ۱۰ میلی لیتری قرارداده شده و اسیدکلریداریک (۳/۷۵ مولار) به آن افزوده شد تا به ۱۰ میلی لیتر برسد. سپس به مدت ۱۰ ثانیه به شدت به هم زده شد. جذب محلول حاصل در طول موج ۲۵۴ نانومتر با فواصل ۲۰ ثانیه‌ای ۲ دقیقه خوانده شد. دما در طی فرایند در حد ۲۰ درجه ثابت نگه داشته شد. یک نمودار کالیبراسیون با استفاده از محلول استاندارد GA_3 تهیه شد. این محلول با حل کردن ۰/۰۴ گرم GA_3 خالص در الكل مطلق و رقیق کردن آن تا ۱۰۰ میلی لیتر با الكل مطلق به دست آمد (بریوس و همکاران، ۲۰۰۴).

تجزیه آماری با استفاده از نرمافزار SPSS ورژن ۲۰ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چندامنه‌ای دانکن، در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در این تحقیق (جدول ۱) نشان داد که بین گروه‌های مورد نظر با توجه به اعمال سطوح تنش و عدم تنش، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ در صفات مورد ارزیابی گیاه آفتابگردان مشهود می‌باشد.

با توجه به اینکه علفکش هالوکسی‌فوب یک علفکش پس رویشی مورد استفاده در مزارع پهنه‌برگ برای از بین بردن باریک‌برگ‌ها است، نباید بر پهنه برگ‌ها صدمه‌ای وارد نماید؛ اما در مطالعه حاضر چند روز پس از اعمال علفکش، کلروزیس (زرد شدگی برگی) از حاشیه و نوک برگ‌ها شروع شد و به مرور پخش گردید. برگ‌های اولیه گیاه پژمرده شد و آثار خشکیدگی بافت ظاهر گردید. گفته می‌شود تنش اکسیداتیو در کوتاه مدت نقش مهمی در مرگ سریع گیاه در محل تماس دارد و تقریباً در تمامی موارد باعث از بین رفتن برگ می‌شود (یانیکا و همکاران، ۲۰۰۸). اختلال در بیوسترن چربی‌ها سبب تخریب غیرقابل جبران در سنتز غشاها می‌شود؛ درنتیجه، نمو طبیعی پلاستیدها مشاهده نمی‌شود و سوخت‌وساز گیاه به طرز چشمگیری تغییر می‌یابد. جلوگیری از رشد با ممانعت از فعالیت مرسیتم، ۴ ساعت پس از تیمار علفکش صورت می‌گیرد و علائم آن تخریب پلاستیدها در برگ‌های جوان و زرد شدگی است (کاب و رید، ۲۰۱۰). علائم خسارت شامل توقف سریع رشد شاخصاره‌ای و ریشه‌ای و تغییرات رنگ‌دانه‌ای برگ‌ها ظرف ۲ تا ۴ روز است. متعاقب آن

بذرهای آفتابگردان (*L. annuus*) رقم "لاکومکا" که از مرکز تحقیقات کشاورزی همدان تهیه شده بود، با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ به مدت ۵ دقیقه ضدغفاری شده و با آب مقطر کاملاً شسته شد. از گلدان‌هایی استریل با ابعاد متوسط استفاده شد که از مخلوط خاک و ماسه شسته شده و استریل با نسبت ۱:۵ پرشده بودند. در داخل هر گلدان حدود ۱۰ بذر قرار گرفت که بعدها به ۵ بذر تنک شد. مایه تلقیح قارچ میکوریز قبلاً در همین آزمایشگاه با استفاده از کشت ذرت (رقم ۷۰۴) تهیه شده بود. به خاک (۲ کیلوگرم) گلدان‌های تحت تیمار با میکوریز حدود ۵۰ گرم مایه تلقیح قارچی افزوده شد. اتفاق رشد با دمای شباهنگی ۱۸:۰ رطوبت نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ (روز و شب) به مدت ۵ هفته مورد استفاده قرار گرفت. گلدان‌ها در طول این دوره به مدت ۲ هفته با آب مقطر و از هفته سوم با محلول نیم قدرت هوگلند به صورت یک روز در میان آبیاری شدند. در مرحله ۴ تا ۶ برگی، غلظت‌های مختلف علفکش به بخش هواپی گیاهان پاشیده شد. پس از پایان دوره رشدی ۳۵ روزه و دوهفته پس از اعمال علفکش، تمام گیاهان برای آنالیزهای بیوشیمیابی برداشت شدند.

برای تعیین وزن خشک ریشه‌ها و اندام هواپی، گیاهان به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند. سپس وزن خشک این نمونه‌ها با ترازو با دقت سه رقم اعشار اندازه‌گیری شد.

برای تعیین درصد همزیستی میکوریزی از روش فلیپس و هیمن (۱۹۷۰) موسوم به Gridline intersect method استفاده شد. در این روش از رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با تریپان‌بلو و محاسبه نقاط رنگ شده و ریشه‌های غیرهمزیست استفاده می‌شود. به این ترتیب که تعداد نقاطی از ریشه که با خطوط عمودی و افقی کاغذ شترنجری برخورد کرده بودند، شمارش شدند. مناطقی که آبی پررنگ بودند (نشانگر وجود اندام‌های قارچی) نیز شمارش شدند و در نهایت از تقسیم این عدد بر تعداد کل برخوردها، درصد آغشتنگی ریشه‌ها با قارچ، محاسبه شد.

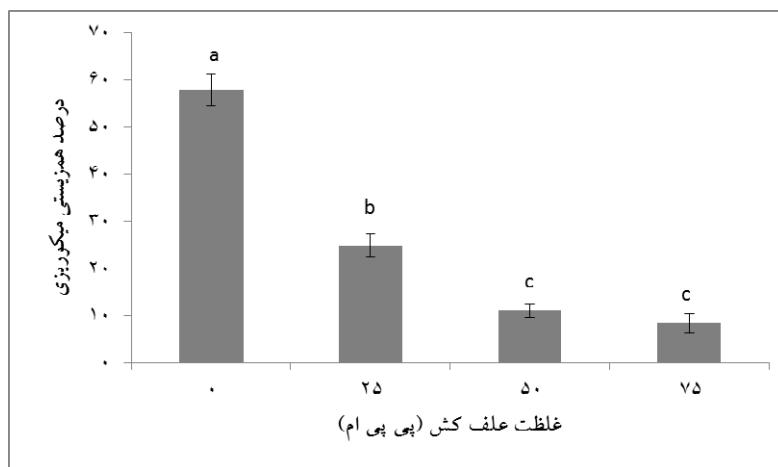
محتوای قندهای محلول با استفاده از روش فن سولفوریک (دویوپس و همکاران، ۱۹۵۶) محاسبه شد. برای تعیین پروتئین کل روش فولن-لوری (لوری و همکاران، ۱۹۵۱) به کار گرفته شد. محتوای پرولین با روش بیتز و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. برای سنجش هورمون اکسین مخلوطی از نمونه و معرف سالکوسکی (۲ میلی لیتر محلول نیم مولار

قارچ‌های میکوریزا با ریشه گیاهان آفتابگردان کاهش یافت (شکل ۱).

کلروز پیش‌رونده‌ای دیده می‌شود که از نواحی مریستمی آغاز گشته و در سرتاسر گیاه پخش می‌شود (نیلور، ۲۰۰۲). در این بررسی با افزایش غلظت هالوکسی‌فوب، درصد آغشتنگی

جدول ۱ - تجزیه واریانس خصوصیات مورد بررسی در آفتابگردان پس از القای سمیت با علف‌کش سوپر‌کالانت

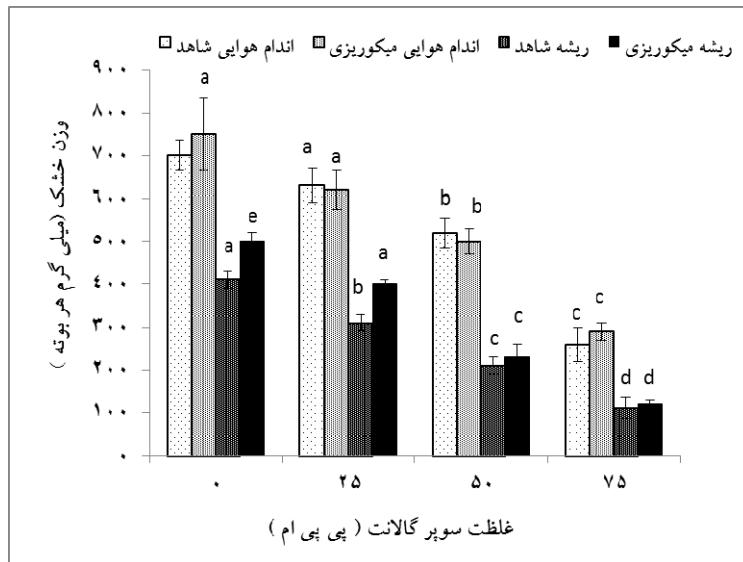
میانگین مربعات													متابع تفاوت	درجه آزادی	مقدار
وزن	وزن	وزن	محتوای وزن	محتوای قندهای	محتوای همزیستی	درصد جیبرلین	محتوای پروولین	محتوای پروولین	محتوای پروتئین	محتوای اکسین	مقدار	FW			
وزن	وزن	وزن	DW	DW	%	DW	DW	DW	DW	DW	FW	FW	Df		
۰/۰۸۸	۰/۱۱۲	۲۰۷	۷۲۸	**۱۵۴۳	۱/۲۸۴	۰/۰۰۷	**۰/۰۷۲	۵/۱۳۹	۲۹/۴۲	**۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۳	بین		
**	**	**	**		**	**		**	**	**	**		گروه‌ها		
۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۲۰/۳۳	۱۳/۱۶	۱۰/۰۳۱	۰/۰۹۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۳۲۶	۰/۵۰۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۸	درون		
** به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ می‌باشد													گروه‌ها		



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی‌فوب بر درصد همزیستی میکوریزی ریشه گیاهان آفتابگردان با *Glomus intraradices*. مقادیر میانگین سه تکرار و انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p < 0.05$ است.

همزیستی از طریق افزایش جذب عنصر غذایی (به ویژه فسفر)، تنظیم توان حرارتی، راهاندازی ژن‌های مقاومت در برابر انواع سمیت‌ها (شامل فلزات سنگین، علف‌کش‌ها و سایر مواد مصنوعی) و پاتوژن‌ها، ممانعت از ورود سموم خاکری و مکانیسم‌های ثانویه ناشی از مقاوم‌سازی گیاهان را در برابر آسیب‌های محیطی محافظت می‌کند (حسن و همکاران، ۲۰۱۳).

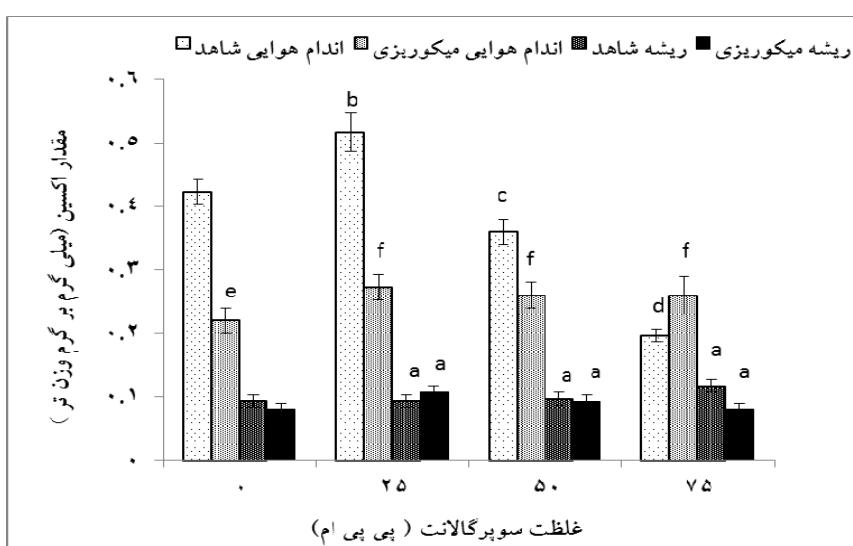
تیمار علف‌کش باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان تحت تیمار شد (شکل ۲). مطالعات نشان داده‌اند که وزن‌تر و خشک ریشه‌ها و اندام هوایی، به دلیل مسمومیت با علف‌کش‌ها کاهش می‌یابد (بالسترنی و همکاران، ۲۰۱۵). اثرات مثبت میکوریز بر رشد و عملکرد زیست توده با مطالعات قبلی نشان داده شده است.



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی‌فوب بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان آفتابگردان (شاهد و تحت تیمار با میکوریز). مقادیر میانگین سه تکرار و انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p<0.05$ است.

سلول‌ها وابسته است که منجر به افزایش برگشت‌ناپذیر ابعاد سلول‌ها می‌شود. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشانگر کاهش طول ریشه و اندام هوایی هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان تحت تیمار در اثر سمیت با علف‌کش هالوکسی‌فوب بود. جلوگیری از رشد ریشه به‌وسیله علف‌کش دیکلوفوب ممیل (از خانواده آریاکسی فنوکسی پروپیونیک اسید) در مورد ذرت نیز گزارش شده است (هوپ، ۱۹۸۰).

تأثیر کاهش زیست‌توده ریشه و رشد آن در اثر مسمومیت با علف‌کش‌های مختلف در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است (زو و همکاران، ۲۰۰۷؛ یانگ و همکاران، ۲۰۱۲). در بررسی تأثیر تلقیح میکوریزی بر رشد ذرت در حضور غلظت‌های مختلف علف‌کش متربوزین، مشاهده شد با افزایش ذرت علف‌کش، وزن خشک کاهش یافته اما این کاهش در تیمارهای میکوریزی نسبت به شاهد به طور معنی‌داری کمتر است (مکاریان و همکاران، ۱۳۸۹). رشد گیاه به تقسیم سلولی و بزرگ شدن

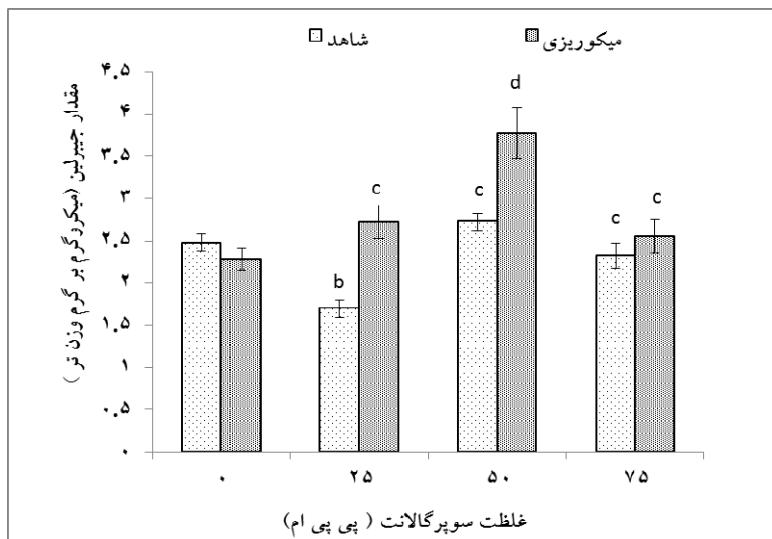


شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی‌فوب بر محتوای هورمون اکسین اندام هوایی و ریشه گیاهان آفتابگردان (شاهد و تحت تیمار با میکوریز). مقادیر میانگین سه تکرار و انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p<0.05$ است.

اکسین ریشه نیز در هر دو گروه گیاهان با افزایش غاظت علف-کش افزایش معنی داری نشان داد (شکل ۳). اکسین به عنوان یک عامل مؤثر در پاسخ های دفاعی از طریق تنظیم رُن های متعدد و میانجیگری متقابل بین پاسخ به تنش های زیستی و غیرزیستی شناخته شده است. IAA نقش مهمی در تنظیم رشد گیاه مثلاً در کنترل نمو بافت های آوندی، طویل شدن سلول و چیرگی انتهایی دارد (وگ، ۲۰۱۵). برخی مطالعات فعالیت آنتی اکسین علف کش های گرامینه ای را مشخص ساخته اند. به عنوان مثال، سم دیکلوفوب مตیل به تنهایی فعالیت اکسینی ندارد اما می تواند علت بسیاری از فرآیندهای واپسیه به اکسین مانند تحریک تولید اتیلن، پمپاژ پروتون و تغییر پتانسیل غشای سلولی باشد (دپرادو و همکاران، ۱۹۹۹). به علاوه، برنات و همکاران (۲۰۱۸) با تیمار ۲,4-D و القای تنش اکسیداتیو توسط آن، پی برده اند که این علف کش باعث افزایش تراویبی و کاهش سیالیت غشای سلولی می شود. این تیمار افزایش اسید لیتوئیک را به دنبال داشته و نسبت فسفاتیدیل اتانول آمین به فسفاتیدیل کولین را بالا برده است.

در مطالعه حاضر، تقریباً در تمامی غاظت های علف کش، مقدار وزن خشک گیاهان تحت تیمار با میکوریز بالاتر از گیاهان شاهد بود که این نشان دهنده اثر تعادل بخشی این تیمار در کاهش اثرات مخرب علف کش هالوکسی فوب می باشد. مطالعات زیادی نیز افزایش جذب فسفر در اثر همزیستی میکوریزی را گزارش کرده و تأثیرات مثبت آن را هم به جذب فعال فسفر از خاک و هم به فعالیت ریشه های خارج ریشه ای قارچ و انتقال آن به گیاه نسبت داده اند. البته سهم جذب مستقیم از خاک و جذب از طریق میکوریز اختلافات قابل توجهی را در گیاهان مختلف نشان می دهد؛ با وجود این، در تحمل تنش های گوناگون بهبود تغذیه ای گیاهان همزیست غیرقابل انکار است. معلوم شده که فعال سازی مکانیسم های مقاومتی نیاز به تامین بهینه عناصر و بهویژه فسفر دارد (ونگزوان و همکاران، ۲۰۱۸؛ ووگل میکوس و همکاران، ۲۰۰۵).

با آنالیز آماری داده های مربوط به فعالیت اکسین مشاهده شد که محتوای اکسین در بخش هوایی گروه گیاهان شاهد کاهش یافت؛ اما در گیاهان تحت تیمار با میکوریز با افزایش غاظت هالوکسی فوب، مقدار اکسین افزایش یافت. محتوای



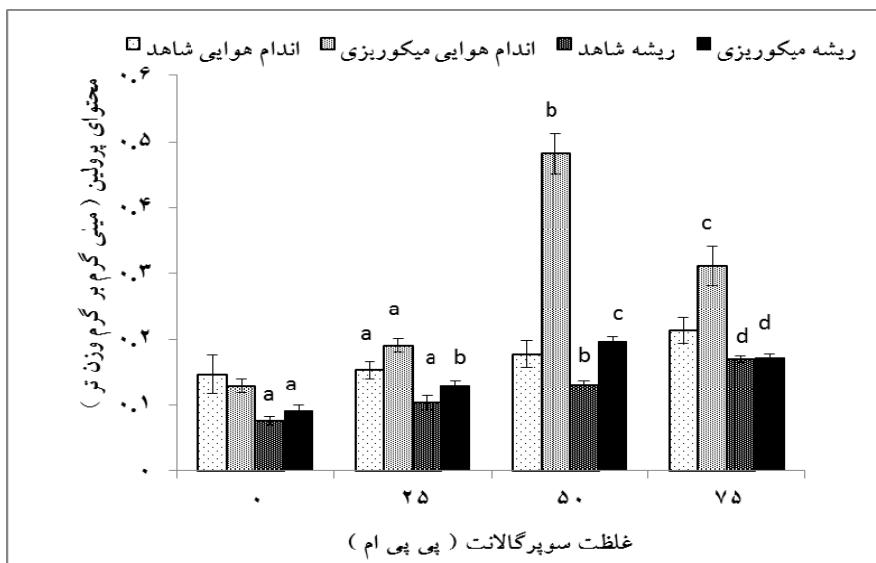
شکل ۴- اثر غاظت های مختلف علف کش هالوکسی فوب بر محتوای هورمون جیبریلیک اسید اندام هوایی گیاهان آفتابگردان (شاهد و تحت تیمار با میکوریز). مقادیر میانگین سه تکرار و انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p < 0.05$ است.

بررسی شده است. جیبریلین ها در تعامل با سایر هورمون های گیاهی در فرایندهای متعدد نمو و پاسخ های تحریکی شناخته شده اند. جیبریلین به طور کلی در رشد و توسعه سلول، جوانه زنی بذر، گسترش و طول عمر برگ و گل دهی دخالت

در این تحقیق، مقدار هورمون جیبریلین (GA₃) در گیاهان تحت تیمار با میکوریز همانند گیاهان گروه شاهد، افزایش یافت (شکل ۴). طی برخی آزمایش ها، نقش جیبریلین ها در پاسخ به تنش های اسمزی در جوانه های گیاه *Arabidopsis thaliana*

آنها نشان داده که تنفس ترکیبی علفکش و شوری در رقم ZJ ۸۸ ذرت باعث تجمع ABA و افزایش رونویسی اتیلن می‌شود. این ممکن است یکی از عوامل مؤثر در تحمل به شوری کم در رقم حساس باشد. این یافته‌ها نشان داده که استفاده از علفکش تحت تنفس شوری، احتمالاً با کاهش آسیب اکسیداتیو، تغییر جذب مواد معدنی، ارتقاء دفاع آنتی‌اکسیدانی و تنظیم دینامیکی ژن‌های کلیدی درگیر در هومئوستازی یون‌های Na^+ و K^+ در گیاهان، باعث تحمل به شوری می‌شود.

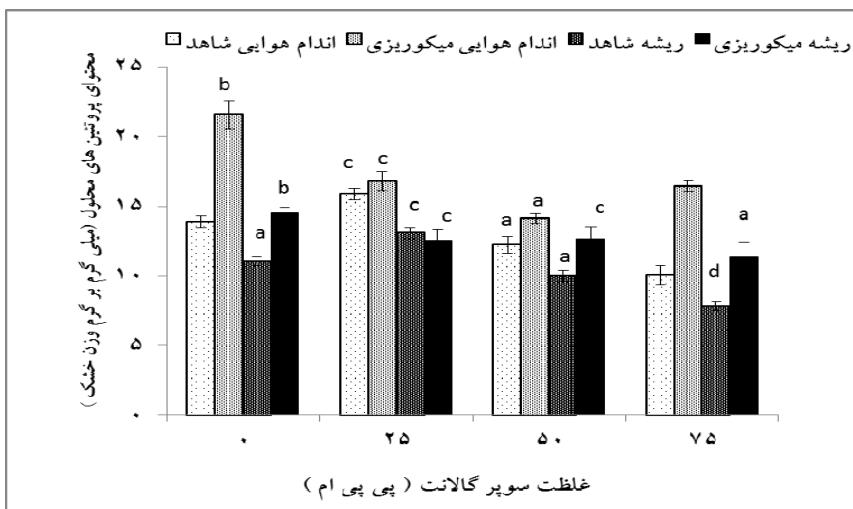
می‌کند (ماگوم و همکاران، ۲۰۰۸). وقتی گیاه در معرض تنفس‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرد، مقدار جیبریلیک اسید به سرعت افزایش می‌باید. دیده شده که تیمار GA_3 در گوجه‌فرنگی، مقاومت روزنه‌ای و آب مورداستفاده گیاه را در شرایط شوری، کاهش می‌دهد (مجیو و همکاران، ۲۰۱۰). در تحقیقی با ترکیب دو تنفس شوری و علفکش ۲ و ۴ دی کلروفونوکسی استینک اسید (2,4-D) روی گیاه ذرت، مقدار هورمون‌های گیاهی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفته است (اسلام و همکاران، ۲۰۱۶). نتایج



شکل ۵- اثر غلافت‌های مختلف علفکش هالوکسی‌فوب بر محتوای پرولین اندام هوایی و ریشه گیاهان آتابگردان (شاهد و تحت تیمار با میکوریز). مقادیر میانگین سه تکرار و انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p < 0.05$.

در بررسی اثر درجات مختلف تنفس خشکی بر روی گیاه آویشن (Thymus vulgaris) نشان داده شده که با افزایش تنفس خشکی میزان پرولین افزایش می‌یابد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). پرولین در شرایط تنفس علاوه بر حفظ تعادل اسمزی گیاه به عنوان پایدارکننده پروتئین‌ها، کلاتکننده فلزی، مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی و حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد شناخته می‌شود (میشرا و دوبی، ۲۰۰۶). در تحقیقی گزارش شد که میزان پرولین ریشه در گیاه سویاً آمیخته شده با قارچ میکوریز در مقایسه با گیاهان بدون قارچ تحت شرایط تنفس خشکی از سطح بالایی برخوردار است (پورسل و همکاران، ۲۰۰۳).

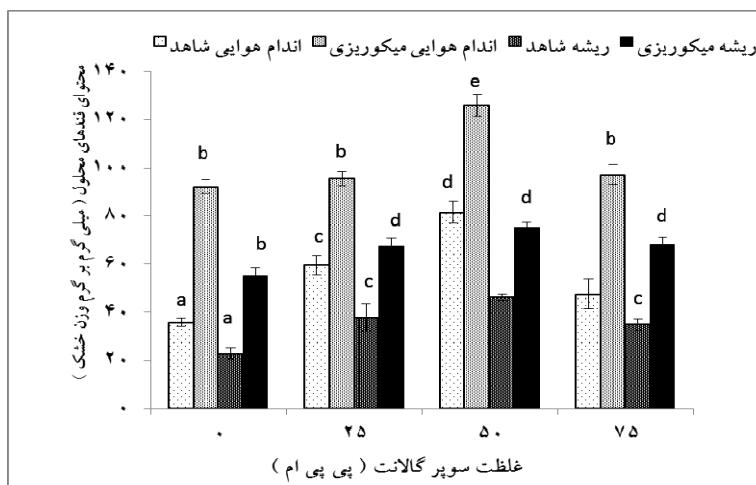
با آنالیز آماری داده‌های مربوط به محتوای پرولین اندام هوایی و ریشه‌ها مشاهده شد که هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان تحت تیمار با میکوریز با افزایش غلافت علفکش، محتوای پرولین افزایش یافت (شکل ۵). وقتی گیاهان در معرض انواع تنفس‌ها قرار می‌گیرند، تجزیه پروتئین‌ها و درنتیجه افزایش آمیدها و آمینواسیدها بهویژه پرولین تسريع می‌شود (هیلدبران و همکاران، ۲۰۱۵). افزایش تجمع پرولین در زمان تنفس می‌تواند به دلیل تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش بارگیری آن از طریق آوند آبکشی، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنفس و اختلال در فرآیند سنتز پروتئین‌ها در طی تنفس‌های رطوبتی باشد.



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف علف کش هالوکسی‌فوب بر محتوای پروتئین‌های محلول اندام هوایی و ریشه گیاهان آفتابگردان (شاهد و تحت تیمار با میکوریز). مقادیر میانگین سه تکرار و انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p<0.05$ است.

فعالیت آنزیم پروتئاز است (ال ساہت و همکاران، ۱۹۹۴). همچنین، کاهش پروتئین مشاهده شده در *Brassica juncea* تحت تنش، احتمالاً به علت افزایش فرآیند تخریب ناشی از افزایش فعالیت پروتئاز بوده است. کاهش هضم و اختلال در متabolیسم ترکیبات آمونیومی جذب شده توسط گیاه و متعاقب آن کاهش سترا اسیدهای آمینه و پروتئین از عوامل دیگر کاهش محتوای پروتئین کل در ریشه گیاه متأثر از سمیت علف کش عنوان شده است (جان و همکاران، ۲۰۰۹).

مقدار پروتئین‌های محلول اندام هوایی و ریشه در اثر اعمال سمیت علف کش هالوکسی‌فوب در گیاهان شاهد و تحت تیمار با میکوریز با افزایش غلظت علف کش، کاهش پیدا کرد (شکل ۶). افزایش محتوای پروتئین‌های محلول، می‌تواند به دلیل افزایش سنتز بعضی آنزیم‌ها از جمله آنزیم‌های پاداکساینده و همچنین سنتز پروتئین‌های درگیر در سیستم دفاعی سلول باشد (چوی و همکاران، ۲۰۰۹). از سوی دیگر گزارش شده که کاهش پروتئین کل ریشه در اثر غلظت‌های بالای علف کش متوجه بوزین به دلیل کاهش پروتئین‌سازی از طریق افزایش



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف علف کش هالوکسی‌فوب بر محتوای قندهای محلول اندام هوایی و ریشه گیاهان آفتابگردان (شاهد و تحت تیمار با میکوریز). مقادیر میانگین سه تکرار و انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p<0.05$ است.

میکوریز افزایش می‌یابد. با افزایش جذب املاح معدنی، نمک‌های مفید و عناصر موجود در آب و خاک، می‌توان کود کمتری مصرف نمود. ضمن اینکه با افزایش جذب مواد نیاز توسط گیاه، میزان رشد و محتوای ترکیبات گیاهی افزایش می‌یابد.

Glomus در پژوهش حاضر، اثر همیستی تحت *intraradices* آفتابگردان مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج به دست آمده در بسیاری موارد با نتایج سایر محققین در مورد اثرات فیزیولوژیکی هالوکسی فوب و میکوریز در رشد و نمو گیاهان مطابقت دارد. افزایش تجمع پرولین و قندهای محلول در این پژوهش از بارزترین پاسخ‌های گیاه آفتابگردان در مقابله با سمتی علفکش هالوکسی فوب بود. افزایش مقدار اکسین و جیرلین، نشان دهنده اثرات حفاظتی میکوریز در این مورد می‌باشد. کاهش محتوای پروتئین و فعالیت هورمون اکسین در گیاهان شاهد و کاهش ویژگی‌های رشدی، نشان دهنده اثرات بازدارنده این علفکش باریک برگ بر فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه آفتابگردان است. در پایان با توجه به اثرات مخرب علفکش برگ باریک هالوکسی فوب بر روی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فعالیت‌های بیوشیمیایی و هورمونی گیاه آفتابگردان، که در این مطالعه مشاهده گردید، پیشنهاد می‌شود در مزارع کشت آفتابگردان از تیمارهای کمکی مانند میکوریز برای جبران اثرات مخرب این علفکش‌ها استفاده شود.

آنالیز آماری مربوط به داده‌ها نشان داد که با اعمال علفکش هالوکسی فوب در گیاهان شاهد و گیاهان تحت تیمار میکوریز با افزایش غلظت علفکش، مقدار قندهای محلول افزایش یافت (شکل ۷). قندهای محلول از اسمولیت‌های سازگار می‌باشند که در شرایط تشنج تجمع یافته و به عنوان عامل حفاظتی در گیاهان عمل می‌کنند. قندها سبب تنظیم اسمزی، پایداری غشاها و پروتئین‌های موجود در سلول می‌شوند. این عمل می‌تواند از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل قندها و زنجیرهای قطبی پروتئین‌ها و درنهایت پایدارسازی پروتئین‌ها صورت گیرد. برای مثال تجمع ساکارز موجب حفظ فسفولیپیدهای غشا شده و از تغییرات ساختاری در پروتئین‌های محلول سلول نیز جلوگیری می‌کند (الهوبیدیان حمیدی، ۱۳۹۶). میزان قندهای محلول در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان شاهد می‌باشد که دلیل تأثیر این قارچ‌ها در افزایش محتوای قندهای محلول، افزایش مقدار هورمون‌های سیتوکینین و جیرلین در گیاهان میکوریزی می‌باشد (سلواراج و چلاپان، ۲۰۰۶). افزایش مقدار قندهای احیاکننده تحت شرایط تشنج نیز گزارش شده است (چترچی و چترچی، ۲۰۰۰؛ زو و همکاران، ۲۰۰۷).

نتیجه گیری

گیاهان برای رشد مطلوب نیاز به جذب موادغذائی از خاک در فرآیند فتوسنتز دارند. جذب بخش عمده‌ای از مواد غذائی موجود در خاک، هنگام همیستی ریشه گیاه با قارچ‌های

منابع

- الهوبیدیان حمیدی، ا. ۱۳۹۶. اثرات تعاملی کلونیزاسیون میکوریزای آریوسکولار و علفکش سوپرگالانت در رشد و فیزیولوژی گیاه کانولای (Brassica napus L.). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران.
- بابایی، ک.، م. امینی دهقی، س. ع. م. مدرس ثانوی و ر. جباری. ۱۳۸۹. اثر تشنج خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (Thymus vulgaris L.) تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. دوره ۲۶، شماره ۲ (پیاپی ۴۸)؛ از صفحه ۲۵۱-۲۳۹.
- خواجه پور، م. ۱۳۹۱. گیاهان صنعتی. جهاد دانشگاهی (دانشگاه صنعتی اصفهان). ۵۸۲ صفحه.
- زنده، ا.، م. باستانی، ف. بنکاشانی و ف. دستاران مقانی. ۱۳۸۹. بررسی کارایی تعدادی از علفکش‌ها در کنترل بیوتیپ‌های یولاف و حشی (Avena ludoviciana Durieu) مقاوم و حساس به علفکش‌های بازدارنده استیل کوانزیم-آ-کربوکسیلاز. مجله حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). دوره ۲۴، شماره ۳: ۲۴۲-۲۵۱.
- مکاریان، ح.، ح. ر. اصغری و ح. مطهری نژاد. ۱۳۸۹. تاثیر قارچ‌های میکوریزا بر تولید ماده خشک و محتوای کلروفیل برگ ذرت (Zea mays L.) در حضور علفکش متی بیوزین. یازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه شهید بهشتی تهران. صفحه ۴۸۶.

- میری، ح. و ی.ع. رحیمی. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر برخی از علفکش‌ها در کنترل علف‌های هرز (*Brassica napus*) در استان بوشهر. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان. دوره ۱، شماره ۱: ۶۳-۴۹.
- Abouziena, H. F. and W. M. Haggag. 2016. Weed Control in Clean Agriculture: A Review. *Planta Daninha*. 34(2): 377-392.
- Agostinetto, D., L. T., Perboni, A. C., Langaro, J. Gomes, D.S. Fraga and J. J. Franco. 2016. Changes in photosynthesis and oxidative stress in wheat plants submitted to herbicides application. *Planta Daninha*. 34(1): 1-9.
- Ahmad Khan, I., S. H. Ahmad, N. M. Sarvat, N. Moazzam, M. Athar and S. H. Shabir. 2007. Growth response of Buffel Grass (*Cenchrus ciliaris*) to phosphorus and mycorrhizal inoculation. *Agric. Conspec. Sci.* 72: 129-132.
- Balestrini, R., E. Lumini, R. Borriello and V. Bianciotto. 2015. Plant-soil biota interactions, in *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, ed Paul E. A., editor. London. Academic Press. Elsevier. 311-338.
- Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*. 39: 205-207.
- Bent, E., S. Tuzun, C. P. Chanway, and S. Enebak. 2001. Alterations in plant growth and root hormone levels of lodge pole pines inoculated with rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 47: 793-800.
- Bernat, P., J. Nykiel-Szymanska, P. Stolarek, M. Slaba and R. Szewczyk. 2018. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced oxidative stress: Metabolome and membrane modifications in *Umbelopsis isabellina*, a herbicide degrader. *PLoS One*. 13(6):e0199677
- Berrios, J., A. Illanes and G. Aroca. 2004. Spectrophotometric method for determining gibberellic acid in fermentation broths. *Biotech. Let.* 26: 67-70.
- Chatterjee, J. and C. Chatterjee. 2000. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environ Pollut.* 109(1): 69-74.
- Cobb, A. H. and J. P. H. Reade. 2010. *Herbicides and Plant Physiology*. Wiley-Blackwell Pub. London, U.K.
- Choi, N. H., G. J. Choi, B. S. Min, K. S. Jang, Y. H. Choi, M. S. Kang, M. S. Park, J. E. Choi, B. K. Bae and J. C. Kim. 2009. Effects of neolignans from the stem bark of *Magnolia obovata* on plant pathogenic fungi. *J. App. Microb.* 106: 2057-2063.
- De Prado, J., R. A. De Prado and R. H. Shimabukuro. 1999. The effect of diclofop on membrane potential, ethylene induction, and herbicide phytotoxicity in resistant and susceptible biotypes of grasses. *Pest. Biochem. Physiol.* 63(1): 1-14.
- DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28 (3):350–356.
- El-Saht, H. M., M. N. A. Hasaneen and F. M. Bassuony. 1994. Effect of metribuzin herbicide on nitrogen, pigments, protease and nitrate reductase activity of normal and NaCl-stressed castor bean and maize plants. *Biol. Plant.* 36(2): 267-275.
- Fan, Q. J. and J. H. Liu. 2011. Colonization with arbuscular mycorrhizal fungus affects growth, drought tolerance and expression of stress-responsive genes in *Poncirus trifoliata*. *Acta Physiol. Plant.* 33: 1533-1542.
- Hassan, S. E., M. Hijri and M. St.Arnaud. 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on trace metal uptake by sunflower plants grown on cadmium contaminated soil. *N. Biotechnol.* 30(6): 780-787.
- Hildebrandt, T. M., A. N. Nesi, W. L. Araújo and H. P. Braun. 2015. Amino acid catabolism in plants. *Mol. Plant.* 8(11): 1563-1579.
- Changes in membrane permeability, carbohydrate content, lipid content, and lipid Hoppe, H. H. 1980 composition in root tips from *Zea mays* after treatment with diclofop-methyl. *Z. Pflanzenphysiol.* 100: 414-426.
- Iniobong, O. E., M. G. Solomon and O. Osonubi. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus inoculation and phosphorus fertilization on the growth of *Gliricidia sepium* in sterile and non-sterile soil. *Agron. J.* 2: 23-27

- Islam, F., T. Yasmeen, S. Ali, B. Ali, M. A. Farooq and R. A. Gill. 2016. Priming-induced antioxidative responses in two wheat cultivars under saline stress. *Acta Physiol. Plant.* 37: 1-12.
- Janicka, U., H. Mioduszewska, E. Kielak, J. Klocek and M. Horbowicz. 2008. The effect of haloxyfop-ethoxyethyl on antioxidant enzyme activities and growth of wheat leaves (*Triticum vulgare* L.). *Polish Journal of Environmental Studies* 17: 485-490.
- John, R., P. Ahmad, K. Gadgil and S. Sharma. 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by (*Brassica juncea* L.) *Intl. J. Plant Prod.* 3(3):65-76.
- Khan, A. G. 2005. Mycorrhizas and phytoremediation. In: Willey, N. (ed.), *Methods in Biotechnology- Phytoremediation: Methods and Reviews*. Humana press Inc. Totowa, N.J., USA.
- Lowry, O. H., N. S. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-75.
- Maggio, A., G. Barbieri, G. Raimondi and S. D. Pascale. 2010. Contrasting effects of GA₃ treatments on tomato plants exposed to increasing salinity. *Plant Growth Regul.* 29: 63-72.
- Magome, H., Sh. Yamaguchi, A. Hanada, Y. Kamiya and K. Oda. 2008. The DDF1 transcriptional activator upregulates expression on a gibberellin-deactivating gene, GA2ox7, under high-salinity stress in *Arabidopsis*. *Plant J.* 56:613-626.
- Mishra, Sh. and R. S. Dubey. 2006. Heavy metal uptake and detoxification mechanisms in plants. *Intl. J. Agric. Res.* 1(2): 122-141.
- Naylor, R. E. L. 2002. *Weed Management Handbook*. British Crop Protection Council, Blackwell Science, Oxford, UK.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 157-161.
- Porcel, R., J. M. Barea and J. M. Ruiz-Lozano. 2003. Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. *New Phytol.* 157: 135-143.
- Seiler, G. J. 2007. Wild annual (*Helianthus anomalus*) and (*H. deserticola*) for improving oil content and quality in sunflower. *Ind. Crop. Prod.* 25: 95-100.
- Selvaraj, T. and P. Chellappan. 2006. Arbuscular mycorrizae: a diverse personality. *J. Cen. Eur. Agr.* 7: 349-358.
- Vogel-Mikus, K., D. Drobne and M. Regvar. 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonization of pennycress (*Thlaspi praecox* Wulf. Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter Slovenia. *Environ. Pollut.* 133: 233-242.
- Wagg, C., C. Barendregt, J. Jansa and M.G.A. van der Heijden. 2015. Complementarity in both plant and mycorrhizal fungal communities are not necessarily increased by diversity in the other. *J. Ecol.* 103: 1233-1244.
- Wenxuan, M., X. Xiangrong, G. Feng and T. Changyan. 2018. Simultaneously maximizing root/mycorrhizal growth and phosphorus uptake by cotton plants by optimizing water and phosphorus management. *BMC Plant Biol.* 18(334): 1-10.
- Wu, Q. S., Y. N. Zou, X. H. He. 2011. Differences of hyphal and soil phosphatase activities in drought-stressed mycorrhizal trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings. *Sci. Horti.* 129: 294-298.
- Xu, G. H., V. Chague, C. Melamed-Bessudo, Y. Kapulnik, A. Jain, K. G. Raghothama, A. A. Levy and A. Silber. 2007. Functional characterization of LePT4: a phosphate transporter in tomato with mycorrhiza-enhanced expression. *J. Exp. Bot.* 58: 2491-2501.
- Yang, S. Y., M. Grønlund, I. Jakobsen, M. Suter Grottemeyer, D. Rentsch, A. Miyao, H. Hirochika, C. S. Kumar, V. Sundaresan, N. Salamin, S. Catausan, N. Mattes, S. Heuer and U. Paszkowski. 2012. Nonredundant regulation of rice arbuscular mycorrhizal symbiosis by two members of the phosphate transporter 1 gene family. *Plant Cell* 24: 4236-4251.

The impact of mycorrhizal inoculation on amelioration of the effects of haloxyfop-R methyl ester herbicide on sunflower

Z. Dehgkan¹, J. Khara²

Received: 2019-6-27 Accepted: 2019-11-12

Abstract

To study the effects of inoculation by arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) in ameliorating the effects of haloxyfop-R methyl ester herbicide (commercial name Gallant super) on biochemical activity and hormonal responses of sunflower (*Helianthus annuus* L., cv. Lakomka) a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with 4 levels of herbicide concentration (0, 25, 50 and 75 ppm) in 3 replications. At 4 to 6 leaved stages, different concentrations of herbicide were sprayed on the aerial part of the plants. The effects of herbicide on colonization percentage, dry weight and other parameters of control and mycorrhizal treated plants were quite evident. Increased gibberellin content (60%) in inoculated plants, reduced amount of auxin in shoot of the control plants (48%) were observed by increasing herbicide concentration compared to the control. Furthermore, increased proline (1.5 and 2.7 fold), increased soluble sugars content (36.5% and 23.5%), reduced total proteins (29.2% and 40.1%) and reduced dry weight (61.3% and 76.0% in shoot and root respectively) were significant. More damage occurred by increased herbicide stress conditions and plants responded by raising the level of gibberrellins, proline and soluble sugars to cope the damages induced by haloxyfop-R methyl ester. Such adaptive responses were more pronounced and effective in inoculated plants by arbuscular mycorrhizal fungus *G.intraradices*. So, it seems that inoculation sunflower seedlings by *G. intraradices* can enhance their tolerance against deleterious effects of that herbicide.

Keywords: mycorrhiza, herbicide, haloxyfop R-methyl ester, sunflower, gallant super

1- PhD Student of Plant Physiology, Urumia University, Urumia, Iran

2- Department of Biology, College of Science, Urumia University, Urumia, Iran