رشد و فیزیولوژی گیاه دارویی *Thymus vulgaris* تحت تاثیر تیمار آب مغناطیسی و تلقیح میکوریزی

سحر مجدی* و جلیل خارا
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه
نویسنده مسئول: saharmajdy8@gmail.com

چکیده

به منظور ارزیابی تاثیر قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus etunicatum* و آبیاری با آب مغناطیسی و کاربرد همزمان آنها بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) آزمایش گلخانه‌ای با طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. گلدان‌ها شامل گیاهان شاهد، همزیست، آبیاری شده با آب مغناطیسی و تیمار توام بودند. نتایج نشان داد تیمار توام باعث کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهان میکوریزی شد. این نمایانگر تاثیر منفی آب مغناطیسی بر همزیستی میکوریزی در این گونه گیاهی بود. همچنین، آب مغناطیسی بر محتوای پرولین تاثیر معنی‌داری بجا نگذاشت، اما همزیستی و تیمار توام منجر به کاهش این ماده شدند. از سوی دیگر با بررسی محتوای مالون دی‌آلدئید معلوم شد که تیمار با آب مغناطیسی باعث افزایش معنی‌دار و فاحشی در محتوای آن شده و گیاهان همزیست و گیاهانی که تیمار توام را دریافت کرده بودند اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند. مالون دی‌آلدئید شاخصی از آسیب‌های غشایی به ویژه به هنگام تنش است. به نظر می‌رسد که آب مغناطیسی برخلاف بعضی یافته‌های قبلی به عنوان تنش عمل کرده و همزیستی میکوریزی از تاثیر این تنش تا حدودی می‌کاهد. از آنجایی که در زراعت گیاهان دارویی برای حفظ کیفیت اسانس مورد نظر استفاده از کودهای شیمیایی توصیه نمی‌شود، با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق برای افزایش تولید گیاه آویشن استفاده از میکوریز به جای استفاده از آب مغناطیسی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: آویشن، پرولین، گلوموس، مالون دی‌آلدئید، همزیستی

مقدمه

آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) گیاهی چندساله از تیره نعناعیان (Lamiaceae) با ساختار بوته‌ای بالشتکی یا کپه‌ای دارد و دارای ساقه مستقیم علفی یا چوبی و پرشاخه به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و در بعضی موارد تا ۴۵ سانتی‌متر است. افزایش مصرف نهاده‌های شیمیایی در اراضی کشاورزی موجب معضلات زیست محیطی عدیده‌ای از جمله آلودگی منابع آب، افت کیفیت محصولات کشاورزی و کاهش میزان حاصلخیزی خاک‌ها شده است (Blaise and Singh, 2005). از مهم‌ترین مسائل مؤثر بر پایداری سیستم‌های کشاورزی در تولید غذا، حفظ حاصلخیزی خاک از طریق کاربرد مواد آلی به جای کودهای شیمیایی می‌باشد. مصرف مواد آلی در یک سیستم مبتنی برکشاورزی پایدار، ضمن حفظ سلامت محیط زیست، موجب افزایش کیفیت و پایداری عملکرد، به ویژه در تولید محصولات کشاورزی می‌شود. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار یکی از انواع کودهای زیستی بوده که با ریشه اغلب گیاهان همزیستی تشکیل می‌دهد و از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش جذب آب،کاهش اثرات منفی تنش‌های محیطی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، سبب بهبود در رشد و عملکرد گیاهان میزبان می‌گردد (Smith and Read, 2008). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با بیشتر گیاهان دارویی در اکوسیستم‌های بیابانی و کوهستانی همزیست بوده، اثرات مطلوبی بر رشد آنها دارند و راهی برای کاهش مصرف مواد شیمیایی و اثرات منفی آنها می‌باشند (Malik *et al.*, 2011). یکی از راه‌هایی که می‌توان کل آب مصرفی برای آبیاری را کاهش داد، بکارگیری روش‌هایی است که محصول تولیدی به ازای هر واحد آب مصرفی افزایش یابد. فناوری کاربرد آب مغناطیسی اولین بار در روسیه، سپس آمریکا، ژاپن و انگلستان به کار رفته است و پس از آن درکل دنیا مرسوم شده است. یکی از این روش‌ها عبور دادن آب قبل از آبیاری از یک میدان مغناطیسی است که می‌تواند عملکرد آب را افزایش دهد. هنگامی که آب در یک میدان مغناطیسی قرار

IrHC2019

می‌گیرد، برخی خواص و ویژگی‌های آن مثل چگالی، رسانایی الکتریکی، توانایی حل نمک‌ها، سرعت ته‌نشین شدن ذرات جامد در آن، سرعت تبخیر ممکن است دستخوش تغییر گردد. در مصارف کشاورزی، به دلیل تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب آبیاری، کاربرد آب مغناطیسی اهمیت زیادی پیدا کرده است. این تغییرات بسته به سرعت جریان آب از میدان مغناطیسی، پارامترهای شیمیایی مثل سختی، مقدار کربنات و pH آب دارد (Duarte Diaz *et al.*, 1997). نتایج نشان داده که اثر میدان مغناطیسی با نوع گیاه و کیفیت و منبع آب متفاوت است. برخی از محققین عدم تأثیر آب مغناطیسی بر رشد انواع گیاهان از جمله خیار گلخانه‌ای (Dehghani *et al.*, 2009)، لوبیا سبز و گندم (Ahmadi *et al.*, 2014) را گزارش نموده‌اند.

به طور کلی مرور منابع در بسیاری از موارد نشان می‌دهد که احتمالا تاثیرات مفید میدان مغناطیسی روی رشد گیاهان وجود دارد؛ اما در رابطه با محدوده این تاثیرات و اثر داشتن آن روی تمام گیاهان گزارش‌های روشن و دقیقی موجود نیست. لذا آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر متقابل آب مغناطیسی و میکوریز بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه آویشن طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

بذرهای اصلاح شده گیاه آویشن در گلدان‌های ۱ کیلویی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه در شرایط محیطی کنترل شده با میانگین دمای شب و روز ۲۸-۲۴ درجه سانتی‌گراد در گلخانه به مدت ۳ ماه کشت شدند. خاک بستر گیاه حاوی مخلوط رس و ماسه به نسبت ۱ به ۳ بود. جهت تلقیح میکوریزی، مایه تلقیح قارچ مورد نظر که به تازگی تهیه شده بود به میزان ۲۰۰ گرم از مایه تلقیح و۸۰۰ گرم خاک استریل شده مخلوط شده و در گلدان‌های حاوی تیمار قارچی، از ابتدای کشت بذرها استفاده شد. تیمار آب مغناطیسی در مرحله ۶ برگی و یک ماه بعد از کاشت بذرها به مدت ۶۰ روز انجام گرفت. شدت میدان مغناطیسی ۱۷۰۰ گوس بود.

تعیین درصد همزیستی میکوریزی

برای تعیین درصد همزیستی میکوریزی از روش Philips و Hayman (۱۹۷۰) موسوم به Gridline intersect method استفاده شد. در این روش از رنگ آمیزی ریشه ها با تریپان بلو 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 شطرنجی 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 آغشتگی ریشه‌ها با قارچ، محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان پرولین

میزان پرولین آزاد در قسمت‌های مختلف نمونه‌های شاهد و تحت تیمار طبق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. برای این منظور نیم‌گرم از بافت تر اندام هوایی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد در هاون ساییده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت g ۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس به ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین (شامل ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار، ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین اضافه شد. نمونه‌ها به مدت۱ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه قرار گرفتند. بعد از خارج ساختن نمونه‌ها از حمام آب گرم، به وسیله یخ به سرعت سرد شدند. روی هر نمونه ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و هم زده شد. بعد از تشکیل دو فاز، جذب فاز رویی برای هر نمونه درطول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. محتوای‌پرولین با استفاده ازمنحنی استاندارد پرولین برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌خشک گیاه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA)

برای اندازه‌گیری MDA از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده گردید. ۰/۲گرم از بافت تر گیاهی در ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد ساییده شد. هموژنات ها به مدت ۱۵ دقیقه با نیروی ۶۰۰۰ سانتریفوژ شدند. روی یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر از محلول TCA ۲۰ درصد و تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه درحمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند. نمونه‌ها درآب یخ سرد شده و

IrHC2019

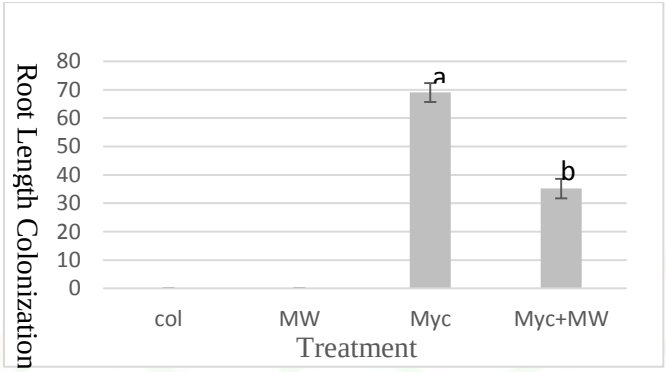
به مدت ۱۰ دقیقه با نیروی ۶۰۰۰ سانتریفوژ شدند. در نهایت جذب نمونه‌ها در دو طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. میزان MDA از ضریب خاموشی ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$MDA\ (\mu mol\ /\ g\ Fw) = [A_{532}-A_{600}/155] \times 1000$$

نتایج و بحث

درصد همزیستی میکوریزی

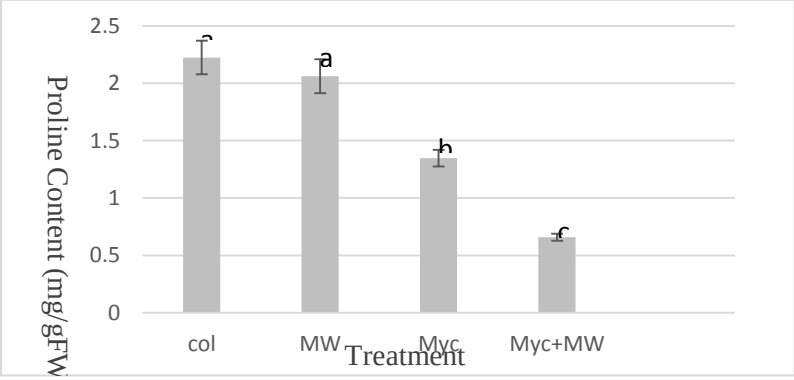
نتایج نشان می‌دهند قارچ به طور موفقیت‌آمیزی با گیاه آویشن همزیست شده است. بالاترین درصد همزیستی مربوط به تیمار قارچی بوده و اثر متقابل تیمار توام باعث کاهش درصد همزیستی شده است. از سوی دیگر، آب مغناطیسی موجب کاهش معنی‌دار درصد همزیستی گردید (شکل ۱).



شکل۱- درصد همزیستی میکوریزی گیاه آویشن درتیمار آب مغناطیسی و تلقیح میکوریزی. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نمایانگر معنی‌دار بودن میانگین‌هاست. (col = شاهد؛ MW = آب مغناطیسی؛ Myc = میکوریز؛ Myc+MW = تیمار توام)

میزان پرولین

نتایج بدست آمده از سنجش پرولین در این تحقیق نشان داد که میزان پرولین در گیاهان تحت تیمار با آب مغناطیسی تغییرات معنی‌داری با شاهد ندارد اما در تیمارهای میکوریزی و توام، کاهش معنی‌داری دیده شد (شکل ۲).

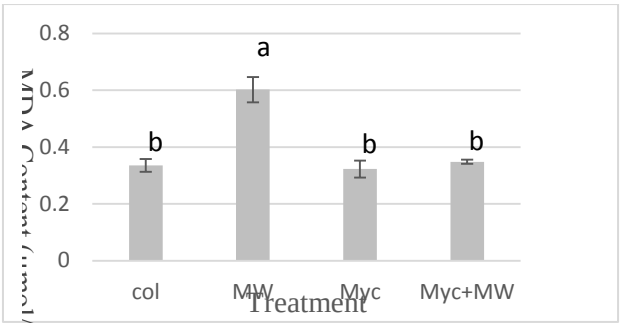


شکل ۲ - محتوای پرولین در گیاهان آویشن تیمار شده با آب مغناطیسی، قارچ میکوریز و تیمار توام. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نمایانگر معنی‌دار بودن میانگین‌هاست. (col = شاهد؛ MW = آب مغناطیسی؛ Myc = میکوریز؛ Myc+MW = تیمار توام)

محتوای مالون دی‌آلدئید

با توجه به نمودار شکل ۳ مشخص شد تیمار آب مغناطیسی سبب افزایش معنی‌دار محتوای مالون دی‌آلدئید شده است. همچنین، هیچ تغییر معنی‌داری در تیمار میکوریز و تیمار توام مشاهده نشد.

IrHC2019



شکل ۳ - محتوای مالون دی‌آلدئید در گیاهان آویشن تیمار شده با آب مغناطیسی، قارچ میکوریز و تیمار توام. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نمایانگر معنی‌دار بودن میانگین‌هاست (col = شاهد؛ MW = آب مغناطیسی؛ Myc = میکوریز؛ Myc+MW = تیمار توام)

در نتیجه تخریب فسفولیپیدهای غشایی مواد متنوعی شامل MDA آزاد می‌شوند و به طور رایج از تعیین سطح این ماده برای پی بردن به درجه آسیب‌های غشایی در حضور تنش‌های مختلف استفاده می‌شود. از این رو، عواملی که بتوانند منجر به کاهش محتوای آن شوند به بازیابی سلامتی و بهبود فیزیولوژی گیاه کمک می‌کنند. گزارش شده است که در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز در شرایط تنش، شدت آسیب اکسیداتیو چربی‌های غشا کاهش می‌یابد (Porcel and Lozano, 2004; Rahmaty and Khara, 2011). مطالعات نشان می‌دهند تحت همزیستی با قارچ‌های میکوریز، ممکن است محتوای پرولین گیاه در شرایط تنش، کاهش (Muller *et al.*, 1991) یا افزایش پیدا کند. در آزمایش اسماعیل پور و همکاران (۱۳۹۲)، میکوریز میزان پرولین گیاه دارویی مرزه را کاهش داده است. به نظر می‌رسد گیاه دارویی آویشن نیز مانند مرزه از پرولین در جهت تخفیف تنش استفاده نمی‌کند. احتمال دارد مکانیسم‌های دیگری از قبیل افزایش ساخت سایر اسمولیت‌ها (مثلا گلیسین بتائین) موثرتر باشند. پیرامون تاثیر میدان‌های مغناطیسی بر گیاهان اطلاعات متفاوت و بعضاً متناقضی در دست است. بیشتر گزارش‌ها حاکی از آن است که میدان‌های مغناطیسی جریان رشد را کاهش می‌دهند و بر روی تقسیم سلولی، حساسیت نسبت به عوامل تنش‌زا، تغییرات در سطح سلولی و زیرسلولی، بالا بردن میزان جذب یون کلسیم، فعالیت آنزیم‌ها و جریان‌های متابولیکی تاثیر دارند (Belyavskaya, 2004). در بررسی‌های انجام شده مشخص گردیده که اگرچه افزایش تقسیمات سلولی در مناطق مریستمی مشاهده می‌شود اما کاهش رشد طولی کل گیاه (Yano *et al.*, 2001) و تخریب اندامک‌های سلولی مانند میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها (Belyavskaya, 2004) نیز مشاهده شده است. تاثیرات مختلف ایجاد شده توسط میدان‌های مغناطیسی بر روی گیاهان را می‌توان به تاثیرات متفاوت در ارتباط با شدت و نوع میدان، طول مدت تیماردهی و زمان‌های مختلف اعمال میدان از لحاظ سن گیاه (فاز رویشی یا زایشی) نسبت داد. همچنین، این اختلافات می‌تواند ناشی از تفاوت‌های فیزیولوژیکی در گونه‌های مختلف یک جنس و یا تفاوت ژنوم بین جنس‌های مختلف باشد. لذا نتایج متناقض مشاهده شده در مدارک در دسترس ممکن است به این گونه اختلافات مربوط باشد.

به طور کلی از پژوهش حاضر چنین برمی‌آید که در گیاه دارویی آویشن، تیمار با آب مغناطیسی به عنوان تنش عمل می‌نماید؛ گرچه مکانیسم و جزئیات آن چندان معلوم نیست. بنابراین، در کشت این گیاه استفاده از آن توصیه نمی‌شود. از سوی دیگر، همزیستی میکوریزی با قارچ *Glomus etunicatum* به بهبود فیزیولوژی آن کمک کرده و حتی به نظر می‌رسد توانسته باشد تا حدودی اثرات زیانبار ناشی از آب مغناطیسی را خنثی کند.

منابع

اسماعیل پور، ب.، جلیلوند، پ. و هادیان، ج. ۱۳۹۲. اثر تنش خشکی و میکوریزا بر برخی صفات مورفولوژیک و عملکرد مرزه (*Satureaja hortensis* L.). بوم‌شناسی کشاورزی. جلد۵، ش ۲، ص ۱۷۷-۱۶۹.

Ahmadi, M., Khashie Siuki, A. and Shahidi A. 2014. Effect of magnetic water and natural clinoptilolite zeolite on growth of green bean (*Phaseolus vulgaris* L). Iranian Journal of irrigation and Drainage 8(1): 216-224 (In Persian).

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.

IrHC2019

Belyavskaya N.A., 2004. Biological effects due to weak magnetic field of plants. Advances in Space Research, 34: 1566-1574.

Blaise D and Singh JV. 2005. Effects of farmyard manure and fertilizers on yield, fiber quality and nutrient balance of rainfed cotton. Bioresource Technology. 96: 345-349.

Dehghani F., Abargouei, N.S. and Qyasvand, A. 2009. Effect of magnetic irrigation water on operation of greenhouse cucumber in Yazd. In: Proceeding of the Eleventh Congress of Iran Soil Science:1538-536 (In Persian)

Duarte Diaz, C.E., Riquenes, J.A., Sotolongo, B., Portuondo, M.A., Quintana, E.O. and Perez, R. 1997. Effects of magnetic treatment of irrigation water on the tomato crop. Horticultural Science Abstracts. 69: 494.

Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolate chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics.125: 850-857.

Malik, A.A., Suryapani, S. and Ahmad, J. 2011. Chemical vs organic cultivation of medicinal and aromatic plants: the choice is clear. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 1(1): 5-13.

Muller, I., and Hofner, W. 1991 .Influence of the VA-mycorrhiza on P uptake and recovery potential of corn (*Zea mays* L.) under water stress conditions. Zeitschrift für Pflanzenernahrung und Bodenkunde. 154(5): 321-323.

Phillips, J.M. and Hayman, D.S. 1970 .Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society. 55: 157-161.

Porcel, R. and Ruiz-Lozano, M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. Journal of Experimental Botany. 55: 1743-1750.

Rahmaty, R. and Khara, J. 2011. Effects of vesicular arbuscular mycorrhiza *Glomus intraradices* on photosynthetic pigments, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and chromium accumulation in maize plants treated with chromium. Turkish Journal of Biology. 35: 51-58.

Smith, S.E. and Read, D.J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Ed. 3rd. Elsevier, Academic Press. London.

Yano, A., Hidaka, E., Fujiwara K. and Iimoto M. 2001. Induction of primary root curvature in radish seedlings in a static magnetic field. Bioelectromagnetics. 22(3):194-199.

Growth and physiology of *Thymus vulgaris* under influence of magnetic water and mycorrhizal inoculation

Sahar Majdi and Jalil Khara
Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran
Corresponding Author: saharmajdy8@gmail.com

Abstract
A greenhouse completely randomized design experiment with 3 replicates was carried out to evaluate the effects of arbuscular mycorrhizal colonization by *Glomus etunicatum* and irrigation with magnetic water on garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) seedlings. Pots include control and inoculated plants and also irrigated plants by magnetic water and double treatment. Results showed that double treatment had led to reduced mycorrhizal colonization percentage. This represents negative impact of magnetic water on mycorrhizal symbiosis in garden thyme. Also, magnetic water had no significant effect on proline content, but mycorrizal inoculation and double treatment decreased its content. On the other hand, magnetic water treatment caused a dramatic and significant rise in the content of Malone dialdehyde (MDA), although inoculated plants and double treated ones had no significant difference with the control. MDA is an indicator of membrane damage especially under stress conditions. It seems that magnetic water acts as a stress in contrast with some previous findings and mycorrhizal symbiosis tends to ameliorate this stress, somehow. Chemical fertilizers are not recommended in medicinal plants production to protect their essence quality. So, arbuscular mycorrhizal inoculation is suggested for garden thyme culture rather than magnetic water according to our results.

Keywords: Garden thyme, *Glomus etunicatum*, Malone dialdehyde, Proline, Symbiosis

IrHC2019