مقاله پژوهشی

تأثیر سلنیم بر رشد، فتوسنتز و فعالیت اسید فسفاتاز در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) تحت شرایط کمبود فسفر و همزیستی میکوریزایی

معصومه حامدفر[۱]، رقیه حاجی‌بلند[۱*] و ناصر علی اصغرزاد[۲]

[۱] گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[۲] گروه بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۵/۱۱)

چکیده

سیر (*Allium sativum* L.) گیاهی حساس به کمبود فسفر است و به‌دلیل سیستم ریشه‌ای کم انشعاب وابستگی زیادی به همزیستی میکوریزایی دارد. سلنیم به‌عنوان یک عنصر مفید برای گیاهان، عامل افزایش کیفیت تغذیه‌ای این گیاه خوراکی و دارویی است. در این پژوهش تاثیر سلنیم (به‌صورت سدیم سلنات) در سه سطح (بدون و با ۲۰ یا ۸۰ میکروگرم سلنیم در لیتر بستر)، در دو شرایط تغذیه کافی (۲ میلی‌مولار) و کمبود فسفر (بدون عرضه فسفر به محیط به مدت شش هفته)، و در غیاب یا حضور قارچ میکوریزی آربوسکول‌دار دیورسیسپورا ورسی فورمیس (*Diversispora versiformis*) در گیاه سیر رشد یافته در بستر پرلیت آبیاری شده با محلول غذایی هوگلند بررسی شد. نتایج نشان داد کمبود فسفر موجب کاهش رشد گیاه و فتوسنتز برگ شد ولی تشکیل میکوریزا موجب افزایش رشد، فتوسنتز و غلظت قندها گردید. هر دو سطح سلنیم موجب تقویت تاثیر همزیستی میکوریزایی شد به نحوی‌که بیشترین وزن خشک، فتوسنتز و غلظت قندها در هر دو سطح فسفر، در ترکیب دو تیمار ثبت گردید. فعالیت ریشه‌ای اسید فسفاتاز تحت تاثیر کمبود فسفر و همزیستی (به‌عنوان تیمارهای منفرد) قرار نگرفت، لیکن سلنیم به‌تنهایی و نیز در ترکیب با کمبود فسفر و همزیستی، موجب افزایش معنی‌دار این شاخص شد. غلظت بهینه سلنیم در افزایش وزن خشک، درصد کلنی‌دار شدگی ریشه، فتوسنتز، قندها و فعالیت اسید فسفاتاز، ۸۰ میکروگرم در لیتر بستر بود. این پژوهش اولین گزارش در مورد تاثیر هم‌افزای میکوریزا و سلنیم در پاسخ‌های سازشی گیاهان به کمبود فسفر است.

کلمات کلیدی: اسید فسفاتاز، سدیم سلنات، سیر (*Allium sativum*)، فتوسنتز، قندهای محلول، کلنی‌دار شدگی ریشه

مقدمه

سلنیم یک عنصر ضروری برای انسان و جانوران می‌باشد ولی ضرورت آن برای گیاهان عالی هنوز اثبات نشده است (Broadley *et al*., 2012). با این حال اثرات مفید سلنیم در گیاهان شامل مقابله با تنش‌های اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و مقابله با تنش‌های خشکی، شوری، سمیت عناصر فلزی سنگین، پرتوی ماوراء بنفش، سرما و دمای بالا اثبات شده است (Hajiboland, 2012; Feng *et al*., 2013). به‌دلیل فاصله اندک بین غلظت‌های بهینه برای رشد و غلظت‌های مسموم‌کننده این عنصر برای گیاهان (Terry *et al*., 2000)، سطح غلظت سلنیم در خاک اهمیت زیادی دارد و مطالعات در

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ehsan@tabrizu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

مورد تاثیر سلنیم، بیشتر بر روی سمیت این عنصر در گیاهان متمرکز شده است (Hasanuzzaman *et al*., 2020; Yang *et al*., 2022). همچنین تاثیر انباشت آن در گیاه با هدف افزایش کیفیت تغذیه‌ای گیاه برای مصرف انسان یا دام (غنی‌سازی زیستی) نیز مطالعات زیادی را به خود اختصاص داده است (D'Amato *et al*., 2020).

فسفر بعد از نیتروژن مهم‌ترین عنصر غذایی پرمصرف مورد نیاز گیاه به حساب می‌آید (حاجی بلند، ۱۳۹۵). فسفر به‌عنوان یک عنصر کلیدی در ساختار اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپیدها و چندین آنزیم نقش دارد و در متابولیسم انرژی، فعال‌سازی متابولیکی و تنظیم آنزیم‌ها درگیر است (Hawkesford *et al*., 2012). در شرایط کمبود فسفر، رشد اندام هوایی کند یا متوقف می‌شود، برگ‌ها کوچک، باریک و نازک شده و شاخه-های جانبی به‌ندرت ظاهر می‌شوند و عملکرد دانه و میوه کاهش می‌یابد. کاهش سطح برگ در شرایط کمبود فسفر به-دلیل کاهش هدایت هیدرولیک ریشه و ساقه و درنتیجه اختلال در انتقال آب به‌عنوان مهم‌ترین عامل تورم و گسترش سلول-های برگ است (Hawkesford *et al*., 2012). در بسیاری از گونه‌های گیاهی، افزایش رشد و گسترش انشعابات ریشه در شرایط کمبود فسفر رایج است. این پاسخ همراه با اسیدی شدگی ریزوسفر و افزایش سنتز و رهاسازی اسیدهای آلی و آنزیم اسید فسفاتاز، موجب انحلال اشکال نامحلول آلی و ناآلی فسفر در خاک شده و آن را به ارتوفسفات ($H_2PO_4^-$) تجزیه می‌کند که در دسترس ریشه‌ها قرار گرفته و جذب ریشه‌ای این عنصر افزایش می‌یابد (حاجی بلند، ۱۳۹۵).

قارچ‌های میکوریز آربوسکول‌دار (AM) یکی از مهم‌ترین گروه‌های قارچی در خاک هستند که با گیاهان همزیستی برقرار می‌کنند. اغلب تیره‌های گیاهی قادر به تشکیل همزیستی با AM ها می‌باشند و گونه‌های متعدد گیاهان باغی اعم از سبزی-ها و صیفی‌ها، درختان میوه و گیاهان زینتی این نوع همزیستی را تشکیل می‌دهند (Smith and Read, 2008). همزیستی میکوریزایی نقش مهمی در جذب عناصر از خاک داشته و در چرخه عناصر غذایی در اکوسیستم‌ها و حفاظت گیاهان در مقابل تنش‌های زیستی و محیطی مهم می‌باشد. به‌دلیل داشتن ناقلین فسفات با کارآیی و تمایل بالا، قارچ‌های AM قدرت جذب بالاتری نسبت به فسفر در مقایسه با ریشه‌های گیاهان داشته و در تامین نیاز فسفر گیاه نقش مهمی دارند (Smith and Read, 2008). علاوه‌براین، به‌دلیل نقش این همزیستی در تقویت مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزیستی و زیستی، قارچ های AM به‌عنوان کودهای زیستی می‌توانند باعث بهینه کردن مصرف آب، کاهش چشمگیر مصرف کودها، حشره کش‌ها و قارچ‌کش‌ها شوند که از جنبه‌های کلیدی تولید در سیستم‌های کشاورزی پایدار است (Begum *et al*., 2019).

اهمیت میکوریزا در رشد و جذب عناصر در گیاهان مختلف متفاوت است. یکی از عوامل تعیین‌کننده وابستگی گیاه به همزیستی میکوریزی، وضعیت انشعابات ریشه‌ای است. گیاهانی با سیستم ریشه‌ای ظریف و پرانشعاب (مثل گندمیان) وابستگی کمتر به قارچ‌های میکوریزی برای رشد طبیعی داشته ولی گیاهان با ریشه‌های بدون انشعاب وابستگی بیشتری دارند (Smith and Read, 2008). به‌علاوه تاثیر همزیستی AM در شرایط متفاوت تغذیه‌ای از تاثیر آن در شرایط بهینه تغذیه‌ای متفاوت است و بیشترین وابستگی میکوریزایی در شرایط کمبود فسفر دیده می‌شود (حاجی بلند، ۱۳۹۵). عوامل دیگری نیز می‌توانند بر کارآیی همزیستی در افزایش رشد، جذب عناصر و تحمل تنش‌ها موثر باشند از جمله دما، pH خاک، غلظت‌های سمی عناصر فلزی سنگین و شبه‌فلزاتی مانند آرسنیک (Begum *et al*., 2019; Smith and Read, 2008).

بررسی‌ها در مورد تاثیر متقابل بین میکوریزا و سلنیم بر روی اثر این همزیستی بر جذب و انباشت سلنیم متمرکز شده است (Durán *et al*., 2013; Conversa *et al*., 2019; Li *et al*., 2020; Sun *et al*., 2021; Li *et al*., 2022)، لیکن تاثیر سلنیم در شرایط متفاوت تغذیه‌ای فسفر بر روی پاسخ‌های نشان‌ویژه گیاه به کمبود این عنصر از جمله تغییرات در ریزوسفر تاکنون مطالعه‌ای را به خود اختصاص نداده است.

سیر (*Allium sativum*) گیاهی علفی، دائمی، دو و چندساله از تیره لاله (Liliaceae) می‌باشد. سطح زیر کشت آن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

در ایران حدود ۹۵۸۰ هکتار و عملکرد آن ۹/۶ تن در هکتار است. سیر بعد از پیاز دومین و پرمصرف‌ترین گیاه در این خانواده است (Baghalian *et al*., 2005) . به‌دلیل ویژگی‌های درمانی و دارویی از جمله کاهش فشار و کلسترول خون، کاهش تجمع ضد پلاکت‌ها، فعالیت‌های ضد التهابی و ضد قارچی، میکروبی و ویروسی، نقش آنتی‌اکسیدان و ضدسرطان، این گیاه در سطح جهان شناخته شده است (Cerella et al., 2011). سیر یکی از گیاهان جذب‌کننده و انباشته کننده سلنیم است و این عنصر از مولفه‌های تاثیر مثبت مصرف سیر در سلامتی انسان می‌باشد (El-Bayoumy *et al*., 2006).

این پژوهش با هدف بررسی تاثیر سلنیم بر روی رشد و دیگر شاخص‌های فیزیولوژیک در گیاه سیر در شرایط همزیستی میکوریزی و تحت وضعیت تغذیه‌ای متفاوت فسفر انجام شد. فرضیه کاری ما این بود که سلنیم باعث بهبود رشد گیاهان و تقویت تاثیر قارچ میکوریزا در رشد و پاسخ به کمبود فسفر در این گیاه می‌شود.

مواد و روش ها

کشت گیاهان و تیمارها: به‌منظور آماده‌سازی گلدان‌ها برای کشت، آنها ابتدا با هیپوکلریت سدیم سپس به‌ترتیب با آب شهر و آب مقطر شسته شده و سرانجام با پنبه و الکل ضدعفونی شدند. در هر گلدان، پرلیت شسته و اتوکلاو شده (با قطر ذرات ۱-۲ میلی‌متر) ریخته شد و پنجاه میلی‌لیتر مایه تلقیح قارچی به‌صورت یک لایه نازک در عمق ۴-۵ سانتی‌متری از سطح پرلیت قرار گرفت. مایه تلقیح قارچ دیورسیسپورا ورسی فورمیس (*Diversispora versiformis*) که از تکثیر این قارچ بر روی گیاه ذرت به‌عنوان میزبان به‌دست آمده بود، از آزمایشگاه بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه تبریز تهیه شد. این مایه تلقیح شامل اسپور، هیف و قطعات ریشه کلنی‌دار شده در بستر رشد گیاه میزبان بود. به‌منظور حفظ یکنواختی در مایه تلقیح، قطعات ریشه به اندازه ۳-۲ میلی‌متری بریده شدند. بر اساس شمارش به‌روش MPN (Guadarrama *et al*., 2008) حدود ۷۰ اندام قارچی در ۵۰ میلی‌لیتر مایه تلقیح وجود داشت. برای تیمارهای AMF– از مایه تلقیح اتوکلاو شده به همان مقدار استفاده شد.

گیاه سیر از بازار تره‌بار تبریز تهیه شد، سپس سیرچه‌های هم اندازه از آنها جدا شده و پس از ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم تجاری رقیق (۱:۷) برای جوانه‌زنی در گلدان‌های پلاستیکی ۲/۵ لیتری قرار گرفتند. در هر گلدان ۱۵ سیرچه قرار داده شد که پس از جوانه‌زنی، تنک شده و پنج گیاه در هر گلدان باقی ماند.

سه تیمار شامل تغذیه فسفر با دو سطح: کفایت فسفر (+P) و کمبود فسفر (بدون عرضه فسفر به محیط به‌مدت شش هفته، (–P)، تلقیح با قارچ میکوریزی با دو سطح: تلقیح نشده (AMF–) و تلقیح شده (AMF+)، و سلنیم (به‌صورت سدیم سلنات) با سه سطح: بدون سلنیم (Se–)، تیمار با ۲۰ میکروگرم سلینم در هر لیتر بستر (Se+) و ۸۰ میکروگرم سلنیم در هر لیتر بستر (Se++) بر روی گیاهان اعمال شد. تیمار تلقیح با قارچ میکوریزی از زمان انتقال سیرچه‌ها به گلدان و تیمار فسفر یک هفته پس از آن آغاز شد. تیمار سلنیم به‌صورت تدریجی و به مدت سه‌هفته همراه با محلول غذایی اعمال شد. گیاهان با محلول غذایی هوگلند (۱۰۰ درصد) در حد ظرفیت مزرعه‌ای و یا آب (پس از توزین روزانه) آبیاری شدند. حجم محلول غذایی مورد استفاده در ابتدای آزمایش۱۰۰ میلی‌لیتر در هر هفته به ازای گلدان بود که به تدریج افزایش یافت و در هفته پایانی به ۳۰۰ میلی لیتر به ازای گلدان رسید. گیاهان در شرایط گلخانه‌ای رشد داده شده و ۶ هفته پس از آغاز تیمارها (۷ هفته پس از کشت سیرچه‌ها) برداشت شدند.

برداشت گیاهان: ابتدا شاخص‌های فلوئورسانس کلروفیل و تبادل گاز اندازه‌گیری شد، سپس گیاهان برداشت و وزن تر آن‌ها تعیین گردید. برای انجام آنالیزهای بیوشیمیایی شامل رنگیزه‌های برگ و قندها، به تعداد مورد لزوم نمونه‌های تر برداشت شده و در فریزر (منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد) تا زمان سنجش نگهداری شدند. برای اندازه گیری وزن خشک،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در آون به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

تعیین درصد کلنی‌دار شدگی ریشه: مقدار حدود یک گرم وزن تر، از ریشه‌های ریز انتهایی جدا و ابتدا با آب شهر و سپس با آب مقطر شسته شده و به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شدند. نمونه‌ها در هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد به مدت یک‌ساعت رنگ‌زدایی و سپس در اسید کلریدریک ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه اسیدی شده و با تریپان بلو (۰/۰۵ درصد) در اسید لاکتیک، رنگ آمیزی شدند (McGonigle *et al.*, 1990). جهت تعیین کلنی‌دارشدگی ریشه‌ها، از روش تلاقی خطوط شبکه استفاده شد (Giovanetti and Mosse, 1980).

اندازه‌گیری شاخص‌های تبادل گاز: برای تعیین فلوئورسانس کلروفیل، از دستگاه فلوئورسانس سنج (OPTI-SCIENCES, ADC, UK) استفاده شد و کارآیی بیشینه فتوسیستم II (*Fv/Fm*) تعیین شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های مختلف تبادل گاز فتوسنتزی از دستگاه تبادل گاز (LCA_4, ADC, UK) استفاده شد و شدت فتوسنتز(*A*) بر حسب میکرومول بر مترمربع بر ثانیه ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$)، تعرق (*E*) بر حسب میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه ($mmol\ H_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$) و هدایت روزنه‌ای ($g_s$) حسب مول بر مترمربع بر ثانیه ($mol\ H_2O\ m^{-2}s^{-1}$) اندازه‌گیری شد.

تعیین غلظت رنگیزه های برگ: برگ‌ها با آب دوبار تقطیر شستشو شده و بر روی کاغذ صافی خشک شدند. استخراج رنگیزه‌ها با استفاده از استون ۱۰۰ درصد بر روی یخ و با هاون چینی انجام شد. سپس نمونه‌ها در لوله‌های آزمایش درب‌دار در تاریکی قرار گرفتند و ۲۴ ساعت بعد سانتریفوژ شده و جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین شد. مجموع غلظت کلروفیل a+b بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($mg\ g^{-1}\ FW$) گزارش شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983).

سنجش قندهای محلول: برای استخراج عصاره گیاهی به‌منظور سنجش کربوهیدرات‌ها، ۰/۱ گرم ماده تر گیاهی در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) همگن شده، سپس سانتریفوژ شد و محلول روشناور (عصاره) برای سنجش قند محلول کل مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور، معرف آنترون- سولفوریک و عصاره به نسبت ۱:۵ در داخل لوله‌های آزمایش شیشه‌ای ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در درون حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از سرد شدن، جذب در ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۲۰ میلی‌گرم گلوکز استفاده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($mg\ g^{-1}\ FW$) بیان شد (Yemm and Willis, 1954).

تعیین pH بستر: پس از برداشت اندام هوایی، محتویات هر گلدان داخل یک تشت خالی شد و برای تفکیک بخش ریزوسفر از بخش توده در بستر پرلیت، ریشه‌ها به آرامی تکان داده شدند و پرلیت جدا شده در این شرایط به‌عنوان ریزوسفر در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری pH با تهیه نسبت ۱:۵ پرلیت به آب بعد از نیم ساعت (برای رسیدن به تعادل) صورت گرفت و برای هر گلدان دو تکرار در نظر گرفته شد (Hajiboland *et al.*, 2018).

تعیین فعالیت اسید فسفاتاز ریشه: ریشه‌های گیاه از بخش دو سانتی‌متری راس بریده شده پس از شستشو در آب دو بار تقطیر، در محیط واکنش شامل بافر استات سدیم ۲۰۰ میلی مولار (pH = ۵/۲) و معرف پارا نیتروفنیل فسفات سدیم (p-nitrophenyl phosphate) به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. سپس ۵ میلی‌لیتر از محیط واکنش با ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار (برای توقف واکنش) مخلوط و جذب فرآورده بی فسفر شده (p-nitrophenol, PNP) در طول موج ۴۰۵ نانومتر تعیین شد. با در نظر گرفتن ضریب خاموشی PNP ($۱۸/۵\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) فعالیت اسید فسفاتاز براساس نانومول PNP بر گرم وزن تر ریشه بر دقیقه محاسبه گردید (Wang *et al.*, 2015).

طرح آزمایشی و تجزیه آماری داده ها: این آزمایش در طرح بلوک های کامل تصادفی با سه عامل شامل تلقیح با قارچ (در دو سطح)، تیمار فسفر (در دو سطح) و تیمار سلنیم (در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

سه سطح) با چهار تکرار مستقل به‌صورت چهار گلدان مجزا اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار سیگما استات (نسخه ۳/۵) با استفاده از تست دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل (Excel, 2010) انجام شد.

نتایج و بحث

رشد گیاهان و کلنی‌دار شدگی ریشه‌ها تحت تاثیر کمبود فسفر، همزیستی میکوریزی و سلنیم: کمبود فسفر در غیاب تیمار قارچی و سلنیم، موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی تا ۱۴ درصد شد (شکل ۱). تفاوت معنی‌دار بین گیاهان P+ و P– در گیاهان غیرمیکوریزی (AMF–) تحت هر دو تیمار سلنیم نیز مشاهده شد، ولی در گیاهان میکوریزی (AMF+) این تفاوت تنها در تیمار Se++ معنی‌دار بود. وزن خشک ریشه تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار فسفر در غیاب دو تیمار قارچی و سلنیم نشان نداد و تنها کاهش معنی‌دار تحت تاثیر کمبود فسفر در گیاهان میکوریزی (AMF+) بدون تیمار سلنیم مشاهده شد (شکل ۱). در شرایط تغذیه کافی فسفر، تلقیح با قارچ میکوریزی تاثیری بر رشد اندام هوایی یا ریشه نداشت ولی در کمبود فسفر، رشد اندام هوایی (در غیاب سلنیم) با تلقیح میکوریزی ۱۲ درصد افزایش ولی رشد ریشه در این شرایط تا ۱۸ درصد کاهش یافت (شکل ۱). تیمار سلنیم موجب افزایش وزن خشک هر دو اندام هوایی و ریشه شد که در اغلب موارد معنی‌دار بود. بااین‌حال تفاوت بین دو سطح تیمار سلنیم از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۱).

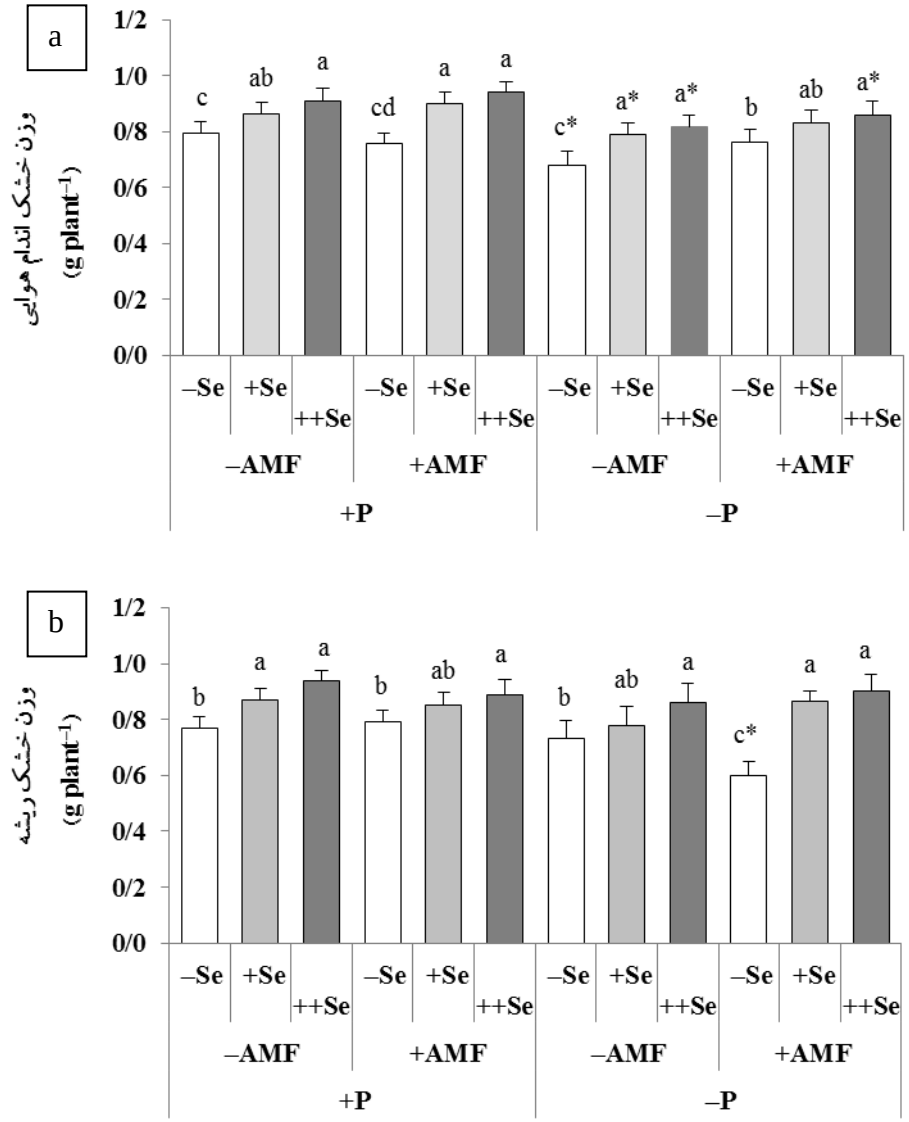
کلنی‌دار شدگی ریشه در غیاب تیمار سلنیم به‌صورت معنی‌داری تحت تاثیر کمبود فسفر قرار نگرفت (شکل ۲). همچنین تیمار سلنیم در شرایط تغذیه کافی فسفر تاثیر معنی‌داری روی کلنی‌دار شدگی ریشه نگذاشت ولی در شرایط کمبود فسفر، موجب افزایش آن تا ۱۷ درصد شد. بالاترین همزیستی میکوریزی (۷۰ درصد) در گیاهان رشد یافته در کمبود فسفر و تیمار شده با بالاترین مقدار سلنیم (Se++) مشاهده شد (شکل ۲).

کاهش رشد اندام‌هوایی، کوچک ماندن سطح برگ‌ها و ارتفاع گیاه از علائم کمبود فسفر است که در کنار دیگر عوارض مانند انباشت آنتوسیانین‌ها جزء روش‌های تشخیص این کمبود در شرایط مزرعه‌ای و آزمایشگاهی است (Hawkesford *et al*., 2012). سیر گیاهی پرمصرف است و تولید آن بشدت به کوددهی کافی وابسته است (Pączka *et al*., 2021). کاهش قابل توجه رشد و ارتفاع گیاهان پس از شش هفته رشد در شرایط کمبود فسفر، نشان‌دهنده حساسیت گیاه سیر به کمبود فسفر است. حساسیت بالاتر به کمبود فسفر، به‌ویژه گیاهان با سیستم ریشه‌ای کم انشعاب است (Vance *et al*., 2003). گیاه پیاز نیز به‌دلیل داشتن ریشه‌های راست و کم انشعاب، به کمبود فسفر حساس است (Galván *et al*., 2009).

در شرایط کمبود ملایم فسفر، بسیاری از گونه‌ها با تخصیص قند بیشتر به ریشه، موجب افزایش رشد انشعابات و تشکیل ریشه‌هایی با قطر کمتر و تارهای کشنده بیشتر شده و درنتیجه قدرت جذب فسفر را از ذخایر خاک افزایش می‌دهند (Hawkesford *et al*., 2012). البته در کمبود شدید فسفر به‌دلیل محدودیت منابع ناشی از کاهش شدید فتوسنتز، رشد ریشه مشابه اندام‌هوایی کاهش می‌یابد (Giehl and von Wirén, 2014). در بررسی حاضر پاسخ ریشه حاکی از شرایط آستانه‌ای از نظر شدت کمبود فسفر است، به نحوی که شدت کمبود برای افزایش رشد ریشه کافی نبوده لیکن در حد ممانعت از رشد آن نیز نبوده است.

گیاهان میکوریزی در شرایط کمبود فسفر (و نه در تغذیه کافی آن) دارای وزن اندام هوایی بالاتری بودند که احتمالا مربوط به بهبود برخی شاخص‌های بیوشیمیایی در گیاهان تلقیح شده از جمله فتوسنتز بود که در پایین به آن اشاره خواهد شد. سایر شاخص‌هایی که در این پژوهش سنجش نشده نیز، می‌تواند در این تحریک رشد موثر باشد از جمله سنتز هورمون‌های رشد مانند اکسین (Pons et al., 2020). باید توجه داشت که نقش میکوریزا در افزایش جذب فسفر در این پژوهش (به‌عنوان مکانیسم تحریک رشد اندام‌هوایی در شرایط کمبود فسفر) منتفی است، زیرا مکانیسم افزایش انحلال فسفر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

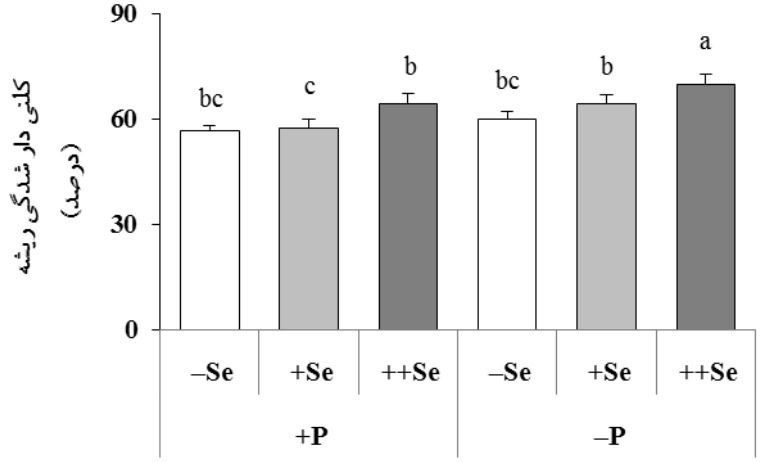


شکل ۱- وزن خشک اندام هوایی (a) و ریشه (b) در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) که در دو سطح فسفر شامل کفایت (+P, 2 mM) و کمبود (–P) فسفر، بدون (–AMF) یا با تلقیح با قارچ میکوریز آربوسکول‌دار (+AMF) و در حضور سه سطح سلنیم شامل بدون سلنیم (–Se) یا با ۲۰ میکروگرم به ازای لیتر (+Se) و ۸۰ میکروگرم به ازای لیتر (++Se) سلنیم به مدت شش هفته رشد کرده است. تفاوت بین داده‌های درون هر تیمار فسفر که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون دانکن، P<0.05). تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار فسفر درون هر تیمار میکوریزی و سلنیم با ستاره (*) نشان داده شده است (t-test, P<0.05).

نامحلول (به‌عنوان مهم‌ترین مکانیسم برای افزایش جذب فسفر) نمی‌توانست عمل نماید و برای مشاهده این تاثیر می‌بایست از فسفر نامحلول در بستر رشد گیاه استفاده می‌شد. درهرحال، تحریک رشد در غیاب هرنوع افزایش جذب فسفر، نشان‌دهنده اثر مثبت همزیستی میکوریزایی مستقل از نقش آن در تغذیه فسفر است که توسط مطالعات دیگر نیز اثبات شده است (Smith and Read, 2008).

برخلاف رشد اندام‌هوایی، رشد ریشه در شرایط کمبود فسفر در گیاه میکوریزی کمتر از گیاه غیرمیکوریزی بود و نسبت ریشه به اندام هوایی از ۰/۸۴ به ۰/۶۳ با تلقیح میکوریزایی کاهش یافت. مطالعات زیادی در مورد تاثیر همزیستی میکوریزی بر روی تغییر در معماری سیستم ریشه انجام شده است و برخی داده‌ها حاکی از افزایش انشعابات و افزایش نسبت ریشه به اندام‌هوایی در شرایط میکوریزی است

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]



شکل ۲- کلنی دارشدگی ریشه در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) که در دو سطح فسفر شامل کفایت (+P, 2 mM) و کمبود (–P) فسفر و در حضور سه سطح سلنیم شامل بدون سلنیم (Se–) یا با ۲۰ میکروگرم به ازای لیتر (Se+) و ۸۰ میکروگرم به ازای لیتر (Se++) سلنیم به مدت شش هفته رشد کرده است. تفاوت بین داده‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون دانکن، $P<0.05$).

(Gutjahr and Paszkowski, 2013) ولی بررسی های دیگری نیز در مقابل وجود دارد که نشان داده‌اند رشد ریشه و نسبت ریشه به اندام‌هوایی در اثر کلنی‌دارشدگی کاهش می‌یابد (Cruz et al., 2004). هرچند افزایش انشعابات ریشه در گیاهان میکوریزی می‌تواند نقش میکوریزا را در افزایش سطح جذبی ریشه تقویت کند، لیکن کاهش رشد ریشه در گیاهان میکوریزی شده نیز می‌تواند یک استراتژی برای صرفه‌جویی در منابع باشد، زیرا در حضور هیف قارچ‌های میکوریزی، افزایش رشد ریشه سود بیشتری برای گیاه ندارد.

سلنیم تاثیر بسیار قاطعی بر روی رشد هر دو ریشه و اندام-هوایی داشت، و این تاثیر در هر دو شرایط تغذیه‌ای فسفر و میکوریزی‌شدگی بدون تفاوت خاصی مشاهده شد. تحریک رشد در غلظت‌های پایین سلنیم به عوامل مختلفی نسبت داده شده است از جمله تحریک متابولیسم کربن و ازت (Hajiboland and Sadeghzade, 2014) و افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیداتیو و حفاظت غشاها در برابر آسیب-های اکسیداتیو (Hasanuzzaman *et al.*, 2010). نه تنها رشد، بلکه کلنی‌دار شدگی ریشه‌ها نیز در تیمار سلنیم افزایش یافت. افزایش کلنی‌دار شدگی تحت تاثیر سلنیم می‌تواند با افزایش عرضه کربن به قارچ مرتبط باشد که به دنبال افزایش فتوسنتز تحت تیمار سلنیم مشاهده شد. هرعاملی که موجب افزایش تثبیت کربن و یا افزایش تخصیص قندها به ریشه گردد، می-تواند موجب افزایش کلنی‌دار شدگی آن شود که از این میان می‌توان به افزایش شدت نور و نیز کمبود فسفر اشاره کرد (Smith and Read, 2008; Begum *et al.*, 2019; Olsson *et al.*, 2010). در تائید عامل اخیر و در مطالعه حاضر نیز بالاترین کلنی‌دار شدگی ریشه در گیاهان تحت تیمار سلنیم توام با کمبود فسفر مشاهده شد (شکل ۲).

شاخص های مرتبط با فتوسنتز تحت تاثیر کمبود فسفر، همزیستی میکوریزی و سلنیم: غلظت کلروفیل برگ در غیاب دو تیمار دیگر (تلقیح میکوریزی و سلنیم) تحت تاثیر کمبود فسفر قرار نگرفت (جدول ۱). همچنین تلقیح میکوریزی در غیاب تیمار سلنیم در هیچ‌کدام از شرایط تغذیه‌ای فسفر بر غلظت کلروفیل تاثیر نداشت. در گیاهان تیمار شده با سلنیم، بااین‌حال، غلظت کلروفیل با کمبود فسفر کاهش و با تلقیح میکوریزی افزایش یافت هرچند در برخی موارد این تغییر معنی‌دار نبود. تیمار سلنیم موجب افزایش کلروفیل برگ در هر دو گروه AMF– و AMF+ تحت شرایط تغذیه کافی فسفر و در گیاهان AMF+ در کمبود فسفر شد، هرچند گاهی تاثیر دو سطح تیمار سلنیم یکسان نبود (جدول ۱). شاخص بیشینه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

جدول ۱- غلظت کلروفیل برگ (Chl (a+b)) (میلی‌گرم در گرم وزن تر) و بیشینه کارآیی فتوسیستم II (*Fv/Fm*) در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) که در دو سطح فسفر شامل کفایت (+P, 2 mM) و کمبود (–P) فسفر و در حضور سه سطح سلنیم شامل بدون سلنیم (–Se) یا با ۲۰ میکروگرم به ازای لیتر (+Se) و ۸۰ میکروگرم به ازای لیتر (++Se) سلنیم به مدت شش هفته رشد کرده است.

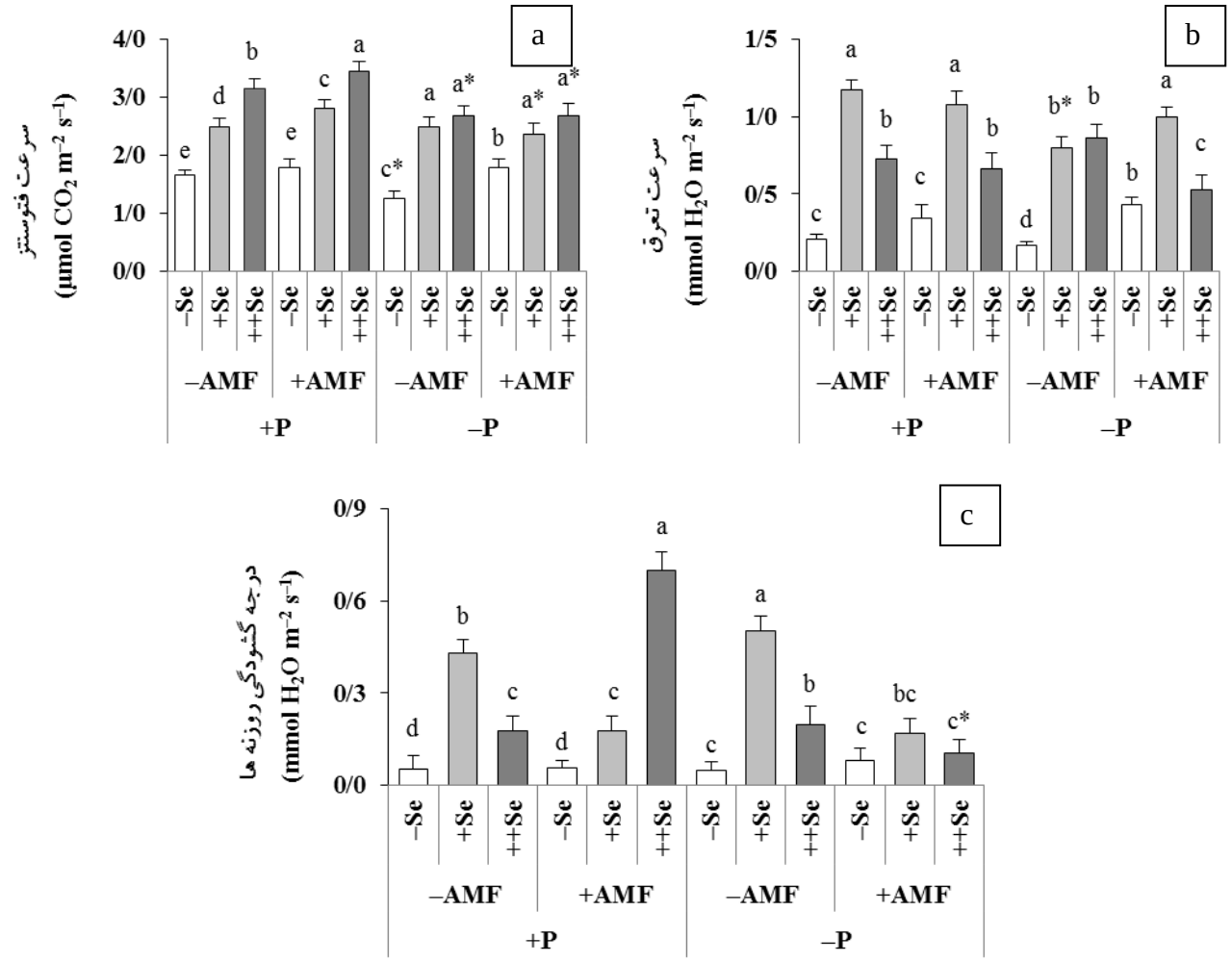
تیمارها			Chl (a+b)	*Fv/Fm*
+P	−AMF	–Se	۱/۴۵±۰/۲۹ c	۰/۷۸±۰/۰۱ a
		+Se	۲/۰۲±۰/۵۲ b	۰/۷۴±۰/۰۴ a
		++Se	۱/۰۵±۰/۲۹ c	۰/۷۴±۰/۰۲ a
	+AMF	–Se	۱/۲۹±۰/۲۴ c	۰/۷۶±۰/۰۲ a
		+Se	۲/۸۳±۰/۴۱ a	۰/۷۶±۰/۰۳ a
		++Se	۲/۳۷±۰/۳۰ ab	۰/۷۶±۰/۰۱ a
–P	−AMF	–Se	۱/۲۸±۰/۱۷ b	۰/۷۵±۰/۰۱ a*
		+Se	۱/۱۵±۰/۲۰ b*	۰/۷۶±۰/۰۱ a
		++Se	۰/۹۵±۰/۵۵ b	۰/۷۵±۰/۰۱ a
	+AMF	–Se	۱/۲۸±۰/۱۷ b	۰/۷۴±۰/۰۱ a
		+Se	۱/۳۵±۰/۳۹ b*	۰/۷۴±۰/۰۲ a
		++Se	۱/۸۷±۰/۲۵ a*	۰/۷۶±۰/۰۲ a

تفاوت بین داده‌های درون هر تیمار فسفر که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون دانکن، P<0.05).
تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار فسفر درون هر تیمار میکوریزی و سلنیم با ستاره (*) نشان داده شده است (t-test, P<0.05).

کارآیی کوآنتومی فتوسیستم II تحت تاثیر هیچ‌کدام از دو تیمار قارچی و سلنیم قرار نگرفت. بااین‌حال، کمبود فسفر در غیاب تیمارهای قارچی و سلنیم موجب کاهش معنی‌دار این شاخص شد، ولی در حضور این دو تیمار تفاوت معنی‌داری بین گیاهان +P و –P وجود نداشت (جدول ۱). در غیاب تیمار قارچی و سلنیم، کمبود فسفر موجب کاهش معنی‌دار فتوسنتز شد (شکل ۳). در شرایط تغذیه کافی فسفر، تیمار تلقیح قارچ میکوریزی موجب افزایش فتوسنتز در گیاهان تیمار شده با سلنیم شد ولی در شرایط کمبود فسفر این تاثیر در غیاب تیمار سلنیم مشاهده گردید. تیمار سلنیم در هر دو سطح موجب افزایش فتوسنتز در مقایسه با Se– گردید، ولی تفاوت بین دو سطح سلنیم تنها در شرایط تغذیه کافی فسفر معنی‌دار بود (شکل ۳). برخلاف فتوسنتز، کمبود فسفر در غیاب دو تیمار دیگر تاثیری روی سرعت تعرق و هدایت روزنه‌ای نداشت. همچنین سرعت تعرق (به‌جز در گیاهان –P–AMF) در غلظت بالاتر سلنیم (++Se) کمتر از آن نسبت به غلظت پائین (+Se) بود (شکل ۳). تغییرات در گشودگی روزنه‌ها تحت تاثیر سلنیم بسیار قابل‌توجه بود ولی دو سطح سلنیم بسته به تیمار تلقیح قارچی تاثیر متفاوتی نشان دادند به‌طوری‌که در غیاب تلقیح قارچی بیشترین تاثیر در افزایش گشودگی روزنه‌ها (در هر دو شرایط +P و–P) در تیمار +Se مشاهده شد ولی در تیمار قارچی (البته صرفاً در گیاهان +P) تاثیر تیمار بالاتر سلنیم (++Se) بیشتر بود (شکل ۳).

غلظت قندهای محلول در برگ با کمبود فسفر، نه تنها در غیاب دو تیمار دیگر بلکه در حضور آنها نیز، کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۴). تیمار تلقیح میکوریزی به‌صورت معنی‌داری موجب افزایش غلظت قندهای محلول در هر دو تیمار فسفر شد و سلنیم نیز این افزایش را تقویت نمود به‌نحوی که بیشترین مقدار قندهای محلول برگ در ترکیب تیمار قارچی با سلنیم مشاهده شد و تاثیر غلظت بالاتر سلنیم (++Se) بیش از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]



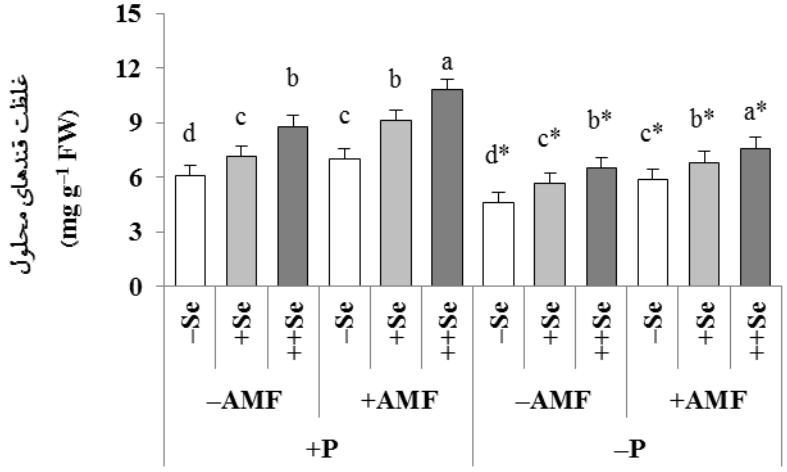
شکل ۳- سرعت فتوسنتز (a)، تعرق (b) و درجه گشودگی روزنه‌ها (c) در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) که در دو سطح فسفر شامل کفایت (+P, 2 mM) و کمبود (–P) فسفر، بدون (–AMF) یا با تلقیح با قارچ میکوریز آربوسکول‌دار (+AMF) و در حضور سه سطح سلنیم شامل بدون سلنیم (–Se) یا با ۲۰ میکروگرم به ازای لیتر (+Se) و ۸۰ میکروگرم به ازای لیتر (++Se) سلنیم به مدت شش هفته رشد کرده است. تفاوت بین داده‌های درون هر تیمار فسفر که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون دانکن، P<0.05). تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار فسفر درون هر تیمار میکوریزی و سلنیم با ستاره (*) نشان داده شده است (t-test, P<0.05).

غلظت پایین‌تر آن (Se+) بود (شکل ۴).

در شرایط کمبود فسفر، کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش فعالیت آنزیم‌های واکنش‌های تاریکی و کاهش کارآیی فتوسیستم II در انتقال الکترون موجب کاهش فتوسنتز می‌شود (Hawkesford *et al.*, 2012). از سوی دیگر ممانعت از رشد در شرایط کمبود فسفر، موجب کاهش رشد مخازن و افت تقاضا برای فرآورده‌های فتوسنتزی می‌شود که به‌نوبه خود موجب مهار هر دو واکنش‌های روشنایی و تاریکی می‌گردد (حاجی بلند، ۱۳۹۵). در این پژوهش کاهش تثبیت CO_2 و کاهش کارآیی فتوسیستم II و کلروفیل به‌صورت هماهنگ عامل افت فتوسنتز بود که در غلظت کمتر قندهای برگ نیز به‌خوبی منعکس شد. بااین‌حال هدایت روزنه‌ای در کمبود فسفر کاهش نیافت که نشان می‌دهد کاهش دسترسی برگ‌ها به CO_2 عامل کاهش تثبیت نبوده است. کمبود فسفر موجب کاهش بازیافت ATP و NADPH می شود که به‌نوبه خود بر واکنش‌های روشنایی با سازوکار بازخوردی اثر کرده و موجب کاهش انتقال الکترون می‌شود (Carstensen *et al.*, 2018).

تلقیح میکوریزی موجب افزایش فتوسنتز برگ در شرایط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]



شکل ۴- غلظت قندهای محلول برگ در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) که در دو سطح فسفر شامل کفایت (+P, 2 mM) و کمبود (–P) فسفر و در حضور سه سطح سلنیم شامل بدون سلنیم (Se–) یا با ۲۰ میکروگرم به ازای لیتر (Se+) و ۸۰ میکروگرم به ازای لیتر (Se++) سلنیم به مدت شش هفته رشد کرده است. تفاوت بین داده‌های درون هر تیمار فسفر که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون دانکن، P<0.05). تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار فسفر درون هر تیمار میکوریزی و سلنیم با ستاره (*) نشان داده شده است (t-test, P<0.05).

کمبود فسفر شد که با انباشت قندها در برگ نیز همراه بود. بااین‌حال، این افزایش برخلاف گزارش‌های قبل (Augé, 2000) همراه با افزایش گشودگی روزنه‌ها نبود و نیز واکنش‌های فتوشیمیایی (*Fv/Fm*) و یا کلروفیل نیز تحت تاثیر قرار نگرفت. افزایش فتوسنتز، تعرق وگشودگی روزنه و نیز واکنش‌های فتوشیمیایی تحت تاثیر تلقیح میکوریزایی در بسیاری از پژوهش‌ها از جمله در گیاه ذرت (Sheng *et al.*, 2008) و گوجه فرنگی (Hajiboland *et al.*, 2010) نیز مشاهده شده است. سلنیم موثرترین تیمار در تحریک فتوسنتز گیاه سیر بود که بدون توجه به تیمار فسفر و قارچ موجب تحریک تثبیت CO_2 شد و در برخی ترکیب‌های تیماری همراه با افزایش مقدار کلروفیل و شاخص کارآیی فتوسیستم II بود. نقش سلنیم در فتوسنتز از طریق افزایش بیان و فعالیت آنزیم‌هایی مانند فروکتوز ۱و۶ بیس فسفاتاز (Owusu-Sekyere *et al.*, 2013)، روبیسکو و پروتئین‌های مراکز واکنشی (Ning *et al.*, 2013) اثبات شده است.

شاخص‌های مرتبط با ریزوسفر تحت تاثیر کمبود فسفر، همزیستی میکوریزی و سلنیم: فعالیت اسید فسفاتاز ریشه در گیاهان غیر میکوریزی و در غیاب تیمار سلنیم تحت تاثیر کمبود فسفر قرار نگرفت (شکل ۵). همچنین تلقیح میکوریزی در غیاب تیمار سلنیم روی فعالیت این آنزیم چه در شرایط تغذیه کافی و چه کمبود فسفر تاثیری نداشت. در حضور تیمار سلنیم، بااین‌حال، فعالیت فسفاتار ریشه به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت که به‌ویژه در غلظت بالاتر سلنیم (Se++) قابل-توجه بود (شکل ۵).

pH ریزوسفر تحت تاثیر هیچکدام از تیمارهای اعمال شده قرار نگرفت هرچند تمایلی به سمت قلیایی شدگی ریزوسفر تحت تاثیر کمبود فسفر مشاهده شد (جدول ۲).

افزایش قدرت اسیدی شدگی ریزوسفر و رهایی اسیدهای آلی از ریشه از پاسخ‌های سازشی گیاهان به کمبود فسفر است که موجب انحلال فسفر نامحلول خاک و افزایش جذب آن می‌شود (Vance *et al.*, 2003). در گیاه سیر مطالعه شده در این پژوهش، اسیدی شدگی ریزوسفر قابل مشاهده نبود. عدم اسیدی شدگی ریشه و فقدان رهایی اسیدهای آلی در کمبود فسفر در برخی گیاهان مانند کلزا و جوی دوسر نیز مشاهده شده است (Wang *et al.*, 2016). مشابه اسیدی شدگی، فعالیت اسید فسفاتاز نیز تحت تاثیر کمبود فسفر افزایش نیافت.

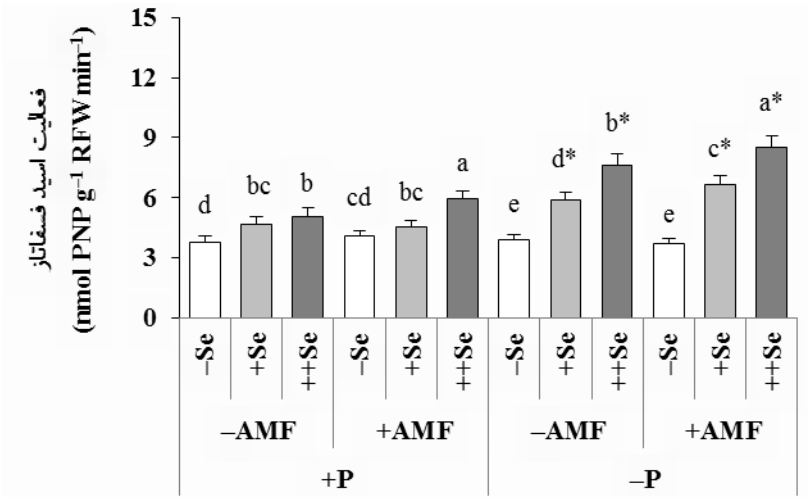
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

جدول ۲- تغییرات pH ریزوسفر در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) که در دو سطح فسفر شامل کفایت (+P, 2 mM) و کمبود (–P) فسفر و در حضور سه سطح سلنیم شامل بدون سلنیم (–Se) یا با ۲۰ میکروگرم به ازای لیتر (+Se) و ۸۰ میکروگرم به ازای لیتر (++Se) سلنیم به مدت شش هفته رشد کرده است.

تیمارها			pH ریزوسفر
+P	−AMF	–Se	۶/۸۹±۰/۱۲ a
		+Se	۶/۹۶±۰/۴۶ a
		++Se	۷/۱۷±۰/۴۹ a
	+AMF	–Se	۷/۰۶±۰/۳۱ a
		+Se	۷/۱۲±۰/۴۷ a
		++Se	۷/۴۷±۰/۱۷ a
–P	−AMF	–Se	۷/۰۴±۰/۱۰ a
		+Se	۷/۱۶±۰/۵۲ a
		++Se	۷/۴۸±۰/۹۶ a
	+AMF	–Se	۷/۳۴±۰/۲۴ a
		+Se	۷/۴۰±۰/۳۸ a
		++Se	۷/۸۷±۰/۱۵ a

تفاوت بین داده‌های درون هر تیمار فسفر که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون دانکن، P<0.05). تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار فسفر درون هر تیمار میکوریزی و سلنیم با ستاره (*) نشان داده شده است (t-test, P<0.05).



شکل ۵- فعالیت ریشه‌ای آنزیم اسید فسفاتاز در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) که در دو سطح فسفر شامل کفایت (+P, 2 mM) و کمبود (–P) فسفر و در حضور سه سطح سلنیم شامل بدون سلنیم (–Se) یا با ۲۰ میکروگرم به ازای لیتر (+Se) و ۸۰ میکروگرم به ازای لیتر (++Se) سلنیم به مدت شش هفته رشد کرده است. تفاوت بین داده‌های درون هر تیمار فسفر که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون دانکن، P<0.05). تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار فسفر درون هر تیمار میکوریزی و سلنیم با ستاره (*) نشان داده شده است (t-test, P<0.05).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

جدول ۳- نتایج تجزیه پراش سه طرفه شامل اثر فسفر (P) تلقیح با قارچ میکوریزی (AMF) و سلنیم (Se) و اثر متقابل آنها بر روی شاخص‌های مختلف در گیاه سیر (*Allium sativum* L.).

	P	AMF	Se	P×AMF	P×Se	AMF×Se	P×AMF×Se
Shoot DW	۰/۰۴۶ *	۰/۴۳۳ ns	۰/۰۴۷ *	۰/۶۸۶ ns	۰/۸۰۱ ns	۰/۳۷۳ ns	۰/۵۴۹ ns
Root DW	۰/۰۸۲ ns	۰/۷۵۴ ns	۰/۰۳۹ *	۰/۲۱۰ ns	۰/۲۵۶ ns	۰/۵۱۷ ns	۰/۶۸۳ ns
Colonization	۰/۰۹۲ ns	---	۰/۰۵۲ ns	---	۰/۵۲۳ ns	---	---
Chl (a+b)	۰/۰۵۵ ns	۰/۰۵۱ ns	۰/۰۲۳*	۰/۵۸۹ ns	۰/۶۱۲ ns	۰/۸۱۱ ns	۰/۵۷۴ ns
Fv/Fm	۰/۷۲۸ ns	۰/۹۲۵ ns	۰/۸۱۳ ns	۰/۹۵۲ ns	۰/۹۵۲ ns	۰/۸۷۱ ns	۰/۶۵۲ ns
A	۰/۰۳۹ *	۰/۰۴۷ *	۰/۰۰۱***	۰/۱۷۸ ns	۰/۰۳۳ ns	۰/۱۵۱ ns	۰/۳۶۵ ns
E	۰/۰۴۷ *	۰/۰۴۳ *	۰/۰۰۱***	۰/۲۰۶ ns	۰/۷۶۷ ns	۰/۵۷۷ ns	۰/۵۵۶ ns
gs	۰/۰۴۳ *	۰/۰۲۴ *	۰/۰۰۱***	۰/۱۳۳ ns	۰/۰۲۰ *	۰/۰۳۳ *	۰/۰۴۲ *
Leaf sugars	۰/۰۰۱***	۰/۰۴۵*	۰/۰۰۱***	۰/۶۳۳ ns	۰/۲۳۹ ns	۰/۲۸۸ ns	۰/۴۶۸ ns
APase activity	۰/۲۳۰ n.s	۰/۳۱۰ n.s	۰/۰۲۲*	۰/۷۱۷ ns	۰/۹۲۸ ns	۰/۴۰۸ ns	۰/۷۶۰ ns
Rhizosphere pH	۰/۰۷۴۹ n.s	۰/۹۴۰ n.s	۰/۶۴۸ n.s	۰/۶۳۳ ns	۰/۱۴۸ ns	۰/۵۵۶ ns	۰/۱۳۹ ns

تأثیرات معنی‌دار (براساس آزمون دانکن) با ستاره (*) مشخص شده است (* در سطح ۰/۰۰۱، ** در سطح ۰/۰۱، * در سطح ۰/۰۵، n.s تغییر غیر معنی‌دار). برای شاخص کلنی‌دار شدگی ریشه تجزیه پراش دو طرفه انجام شد.**

بااین‌حال، فعالیت اسید فسفاتاز به‌صورت قابل‌توجهی تحت تاثیر همزیستی با قارچ میکوریزی و بیش از آن توسط تیمار سلنیم تحریک شد. البته تاثیر قارچ میکوریزی در تحریک فعالیت اسید فسفاتاز تنها در شرایط کمبود فسفر ظاهر شد، ولی سلنیم در هر دو شرایط تغذیه‌ای و حتی در غیاب قارچ میکوریزی موثر بود. تاکنون مطالعه ای در مورد تاثیر سلنیم بر روی پاسخ‌های سازشی گیاهان به کمبود فسفر منتشر نشده است و سازوکار تاثیر سلنیم بر روی فعالیت فسفاتار نیز که در این مطالعه برای اولین بار گزارش می‌شود، معلوم نیست. تغییر در فعالیت اسید فسفاتاز تحت کمبود فسفر و همزیستی میکوریزایی هم به عوامل درونی گیاه (از جمله فراهمی فسفات ناآلی، $H_2PO_4^-$) و هم به عوامل و علامت‌های مشتق از قارچ مربوط است (Dakora and Phillips, 2002; Sato *et al.*, 2015). سلنیم ممکن است با تقویت علامت‌های مربوط به گیاه یا قارچ از طریق تحریک نسخه‌برداری و یا افزایش رهاسازی این آنزیم به آپوپلاسم ریشه و یا هر دو، تاثیر خود را اعمال نماید. مطالعات بیشتری برای نشان دادن عمومیت تاثیر سلنیم روی فعالیت اسید فسفاتاز در گونه‌های دیگر و نیز کشف سازوکار این تاثیر ضروری است.

نتایج تجزیه پراش در مورد شاخص‌های بررسی شده در این پژوهش نشان داد که علاوه بر رشد، شاخص‌های تبادل گاز و غلظت قندها بیشترین پاسخ را به تیمارهای مختلف نشان دادند. اثر متقابل بین تیمارهای سه گانه فسفر، تلقیح میکوریزی و سلنیم (به‌جز در مورد گشودگی روزنه‌ها) معنی‌دار نبود. این موضوع نشان داد که تاثیر هر تیمار بر روی این شاخص‌های فیزیولوژیک، در تمام سطوح دو تیمار دیگر یکنواخت بود (جدول ۳).

تفاوت بین دو سطح سلنیم در تاثیر آن روی گیاه سیر: غلظت‌های تحریک کننده رشد و سمی در مورد سلنیم تفاوت بسیار کمی دارند (Terry *et al.*, 2000) که اهمیت انتخاب مناسب‌ترین غلظت بدون انباشت آن تا حد سمیت در خاک و گیاه را نشان میدهد. مقدار سلنیم خاک در مناطق مختلف دنیا متغیر بوده و مقدار متوسط آن حدود ۴۰۰ میکروگرم در کیلوگرم خاک است (حاجی بلند، ۱۳۹۵). غلظت سلنیم کمتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

از ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم خاک به‌عنوان خاک با کمبود این عنصر تلقی می شود (Mora *et al*., 2015). پژوهش در مورد خاک‌های مناطق مختلف ایران نشان داده است که غلظت سلنیم در بازه ۴۱۰-۱۵۰ میکروگرم در کیلوکرم خاک قرار دارد (Nazemi *et al*., 2012). در این پژوهش دو غلظت بکار رفته بر اساس بررسی‌های قبلی ما در شرایط کشت در بستر پرلیت در مورد گیاهانی مانند کلزا (Ebrahimi *et al*., 2015)، یونجه (Hajiboland *et al*., 2015a) و گندم (Hajiboland *et al*., 2015b) انتخاب شد. نتایج بررسی حاضر نشان داد تاثیر غلظت بالاتر سلنیم (۸۰ میکروگرم در لیتر بستر) بر روی تعداد زیادی از شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری با غلظت پائین‌تر آن (۲۰ میکروگرم در لیتر بستر) نداشت. از سوی دیگر، چون پاسخ تعرق و گشودگی روزنه‌ها به دو غلظت متفاوت سلنیم، متغیر بود و از آنجا که سیر گیاهی حساس به خشکی می‌باشد (Pączka *et al*., 2021)، تنظیم سطح مناسب سلنیم از اهمیت برخوردار است. با توجه به این نتایج و نیز برای جلوگیری از تاثیر منفی انباشت این عنصر در خاک، غلظت ۲۰ میکروگرم در لیتر بستر به‌عنوان مناسب‌ترین غلظت برای گیاه سیر پیشنهاد می‌شود. این مقدار (با احتساب ۱۵ سانتی‌متر عمق خاک) معادل ۳/۱ میلی‌گرم سلنیم در مترمربع در شرایط مزرعه‌ای است.

گیاه سیر می‌تواند یکی از اهداف کاربرد سلنیم با هدف غنی‌سازی زیستی باشد، چنانچه در کشورهای دیگر انجام شده است (Ip and Lisk, 1994; Patharajan and Raaman, 2012). با این‌حال، به‌دلیل عدم سنجش سلنیم در این بررسی، از انباشت آن در گیاهان سیر این پژوهش اطلاعی در دست نیست، ولی در مطالعه دیگری روی این گیاه که در معرض کودهای سلنیم (با هدف غنی‌سازی) به مقدار ۳۵۰ میکروگرم در کیلوگرم خاک رشد کرده است، انباشت سلنیم در بخش خوارکی (حبه‌های سیر) در بازه ۲۱-۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک بود که در مقایسه با آن در بخش خوراکی گیاه پیاز با ۱۳-۹ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک به مراتب بیشتر است (Golubkina *et al*., 2020).

نتیجه‌گیری

گیاه سیر اهمیت غذایی و دارویی زیادی دارد و تولید آن از نظر اقتصادی حایز اهمیت است. در این پژوهش نه تنها تاثیر کاربرد غلظت مناسب سلنیم بر تحریک رشد، فتوسنتز و تشکیل قندها نشان داده شد، بلکه مشاهده گردید که سلنیم موجب تقویت تاثیر قارچ‌های میکوریزی آربوسکول‌دار در تحریک فعالیت‌های ریشه‌ای در این گیاه برای استفاده از منابع نامحلول فسفر در خاک می‌شود. با توجه به حساسیت بالای این گیاه به کمبود فسفر و نیز تاثیر سطح مناسب سلنیم در افزایش کیفیت تغذیه‌ای این گیاه، مناسب‌ترین سطح کاربرد سلنیم برای استفاده در کشت این گیاه در این پژوهش معرفی شده است.

منابع

حاجی بلند، ر. (۱۳۹۵) نقش عناصر معدنی در گیاهان: جذب و تحلیل، جابجایی‌ها و کارکردهای فیزیولوژیک. انتشارات شایسته، تبریز.

Augé, R. M. (2000) Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. In: Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function (eds Kapulnik, Y. and Douds D. D.) Pp 201-237. Springer, Dordrecht.

Baghalian, K., Ziai, S. A., Naghavi, M. R., Badi, H. N. and Khalighi, A. (2005) Evaluation of allicin content and botanical traits in Iranian garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes. Scientia Horticulturae 103: 155-166.

Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N. and Zhang, L. (2019) Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. Frontiers in Plant Science 2019: 1068.

Broadley, M., Brown, P., Çakmak, I., Ma, J. F., Rengel, Z., Zhao, F. (2012) Beneficial elements. In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (ed. Marschner P.) Pp. 249-269. Academic Press, London.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

Carstensen, A., Herdean, A., Schmidt, S. B., Sharma, A., Spetea, C., Pribil, M. and Husted, S. (2018) The impacts of phosphorus deficiency on the photosynthetic electron transport chain. Plant Physiology 177: 271-284.

Cerella, C., Dicato, M., Jacob, C. and Diederich, M. (2011) Chemical properties and mechanisms determining the anti-cancer action of garlic-derived organic sulfur compounds. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry 11: 267-271.

Conversa, G., Lazzizera, C., Chiaravalle, A. E., Miedico, O., Bonasia, A., La Rotonda, P. and Elia, A. (2019) Selenium fern application and arbuscular mycorrhizal fungi soil inoculation enhance Se content and antioxidant properties of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) spears. Scientia Horticulturae 252: 176-191.

Cruz, C., Green, J. J., Watson, C. A., Wilson, F. and Martins-Loução, M. A. (2004) Functional aspects of root architecture and mycorrhizal inoculation with respect to nutrient uptake capacity. Mycorrhiza 14: 177-184.

D'Amato, R., Regni, L., Falcinelli, B., Mattioli, S., Benincasa, P., Dal Bosco, A., Pacheco, P., Proietti, P., Troni, E., Santi, C. and Businelli, D. (2020) Current knowledge on selenium biofortification to improve the nutraceutical profile of food: A comprehensive review. Journal of Agricultural and Food Chemistry 68: 4075-4097.

Dakora, F. D. and Phillips, D. A. (2002) Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. In: Food Security in Nutrient-Stressed Environments: Exploiting Plants' Genetic Capabilities. Developments in Plant and Soil Sciences, Vol 95 (ed. Adu-Gyamfi, J. J.) Pp. 201-213. Springer, Dordrecht.

Durán, P., Acuña, J. J., Jorquera, M. A., Azcón, R., Borie, F., Cornejo, P. and Mora, M. L. (2013) Enhanced selenium content in wheat grain by co-inoculation of selenobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi: A preliminary study as a potential Se biofortification strategy. Journal of Cereal Science 57: 275-280.

Ebrahimi, N., Hartikainen, H., Simojoki, A., Hajiboland, R. and Seppanen, M. (2015) Dynamics of dry matter and selenium accumulation in oilseed rape (*Brassica napus* L.) in response to organic and inorganic selenium treatments. Agricultural and Food Science 24: 104-117.

El-Bayoumy, K., Sinha, R., Pinto, J. T. and Rivlin, R. S. (2006) Cancer chemoprevention by garlic and garlic-containing sulfur and selenium compounds. The Journal of Nutrition 136: 864S-869S.

Feng, R., Wei, C. and Tu, S. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. Environmental and Experimental Botany 87: 58-68.

Galván, G. A., Parádi, I., Burger, K., Baar, J., Kuyper, T. W., Scholten, O. E. and Kik, C. (2009) Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in onion roots from organic and conventional farming systems in the Netherlands. Mycorrhiza 19: 317-328.

Giehl, R. F. and von Wirén, N. (2014) Root nutrient foraging. Plant Physiology 166: 509-517.

Giovanetti, M. and Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular–arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.

Golubkina, N., Amagova, Z., Matsadze, V., Zamana, S., Tallarita, A. and Caruso, G. (2020) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on yield, biochemical characteristics, and elemental composition of garlic and onion under selenium supply. Plants 9: 84.

Guadarrama, P., Castillo-Argüero, S., Ramos-Zapata, J. A., Camargo-Ricalde, S. L. and Álvarez-Sánchez, J. (2008) Propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in a secondary dry forest of Oaxaca, Mexico. Revista de Biología Tropical 56: 269-277.

Gutjahr, C. and Paszkowski, U. (2013) Multiple control levels of root system remodeling in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Frontiers in Plant Science 4: 204.

Hajiboland, R. (2012) Effect of micronutrient deficiencies on plants stress responses. In: Abiotic Stress Responses in Plants (eds. Ahmad, P. and Prasad, M.) Pp. 283-329. Springer, New York.

Hajiboland, R. and Sadeghzade, N. (2014) Effect of selenium on CO_2 and NO_3^- assimilation under low and adequate nitrogen supply in wheat (*Triticum aestivum* L.). Photosynthetica 52: 501-510.

Hajiboland, R., Aliasgharzadeh, N., Laiegh, S. F. and Poschenrieder, C. (2010) Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. Plant and Soil 331: 313-327.

Hajiboland, R., Rahmat, S., Aliasgharzad, N. and Hartikainen, H. (2015a) Selenium-induced enhancement in carbohydrate metabolism in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) as related to the glutathione redox state. Soil Science and Plant Nutrition. 61: 676-687.

Hajiboland, R., Sadeghzadeh, N. and Sadeghzadeh, B. (2015b) Effect of Se application on photosynthesis, osmolytes and water relations in two durum wheat (*Triticum durum* L.) genotypes under drought stress. Acta Agriculturae Slovenica. 103: 167-179.

Hajiboland, R., Shekari, S., Sadeghzadeh, N. and Poschenrieder, C. (2018) Sugar beet profits from intercropping with wheat both under optimum and deficient phosphorus supply. Acta Agriculturae Slovenica 111: 85-100.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Nahar, K. and Fujita, M. (2020) Selenium toxicity in plants and environment: Biogeochemistry and remediation possibilities. Plants 9: 1711.

Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A. and Fujita, M. (2010) Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. Journal of Plant Sciences 5: 354-375.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I. S., White, P. (2012) Functions of macronutrients. In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (ed. Marschner, P.) Pp. 135-189. Academic Press, London.

Ip, C. and Lisk, D. J. (1994) Enrichment of selenium in allium vegetables for cancer prevention. Carcinogenesis 15: 1881-1885.

Li, J., Awasthi, M. K., Xing, W., Liu, R., Bao, H., Wang, X., Wang, J. and Wu, F. (2020) Arbuscular mycorrhizal fungi increase the bioavailability and wheat (*Triticum aestivum* L.) uptake of selenium in soil. Industrial Crops and Products 150: 112383.

Li, J., Liu, R., Zhang, C., Yang, J., Lyu, L., Shi, Z., Man, Y.B., Wu, F. (2022) Selenium uptake and accumulation in winter wheat as affected by level of phosphate application and arbuscular mycorrhizal fungi. Journal of Hazardous Materials 433: 128762.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. Biological Society Transactions11: 591-592.

McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L. and Swan, J. A. (1990) A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist 115: 495-501.

Mora, M. L., Durán, P., Acuña, J., Cartes, P., Demanet, R. and Gianfreda, L. (2015) Improving selenium status in plant nutrition and quality. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 15: 486-503.

Nazemi, L., Nazmara, S., Eshraghyan, M. R., Nasseri, S., Djafarian, K., Yunesian, M., Sereshti, H., Moameni, A. and Shahtaheri, S. J. (2012) Selenium status in soil, water and essential crops of Iran. Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering 9: 1-8.

Ning, C. J., Ding, N., Wu, G. L., Meng, H. J., Wang, Y. N. and Wang, Q. H. (2013) Proteomics research on the effects of applying selenium to apple leaves on photosynthesis. Plant Physiology and Biochemistry 70: 1-6.

Olsson, P. A., Rahm, J. and Aliasgharzad, N. (2010) Carbon dynamics in mycorrhizal symbioses is linked to carbon costs and phosphorus benefits. FEMS Microbiology Ecology 72: 125-131.

Owusu-Sekyere, A., Kontturi, J., Hajiboland, R., Rahmat, S., Aliasgharzad, N., Hartikainen, H. and Seppänen, M. M. (2013) Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant and Soil 373: 541-552.

Pączka, G., Mazur-Pączka, A., Garczyńska, M., Kostecka, J. and Butt, K. R. (2021) Garlic (*Allium sativum* L.) cultivation using vermicompost-amended soil as an aspect of sustainable plant production. Sustainability 13: 13557.

Patharajan, S. and Raaman, N. (2012) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and selenium uptake by garlic plants. Archives of Phytopathology and Plant Protection 45: 138-151.

Pons, S., Fournier, S., Chervin, C., Bécard, G., Rochange, S., Frei, Dit Frey, N. and Puech Pagès, V. (2020) Phytohormone production by the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. PLoS One 15: e0240886.

Sato, T., Ezawa, T., Cheng, W. and Tawaraya, K. (2015). Release of acid phosphatase from extraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus*. Soil Science and Plant Nutrition 61: 269-274.

Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F. and Huang, Y. (2008) Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. Mycorrhiza 18: 287-296.

Smith, S. E. and Read, D. J. (2008) Mycorrhizal Symbiosis. 3rd Edition. Academic Press, Cambridge.

Sun, C., Yang, Y., Zeeshan, M., Qin, S., Ma, J., Liu, L., Yang, J., Zhou, X., Huang, J. (2021) Arbuscular mycorrhizal fungi reverse selenium stress in *Zea mays* seedlings by improving plant and soil characteristics. Ecotoxicology and Environmental Safety 228: 113000.

Terry, N., Zayed, A. M., De Souza, M. P. and Tarun, A. S. (2000) Selenium in higher plants. Annual Review of Plant Biology 51: 401-432.

Vance, C. P., Uhde-Stone, C. and Allan, D. L. (2003) Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. New Phytologist 157: 423-447.

Wang, Y., Krogstad, T., Clarke, J. L., Hallama, M., Øgaard, A. F., Eich-Greatorex, S., Kandeler, E. and Clarke, N. (2016) Rhizosphere organic anions play a minor role in improving crop species' ability to take up residual phosphorus (P) in agricultural soils low in P availability. Frontiers in Plant Science 7: 1664.

Wang, Z., Shen, J., Ludewig, U. and Neumann, G. (2015) A re-assessment of sucrose signaling involved in cluster-root formation and function in phosphatedeficient white lupin (*Lupinus albus*). Physiologia Plantarum 154: 407-419.

Yang, H., Yang, X., Ning, Z., Kwon, S. Y., Li, M. L., Tack, F. M., Kwon, E. E., Rinklebe, J., Yin, R. (2022) The beneficial and hazardous effects of selenium on the health of the soil-plant-human system: An overview. Journal of Hazardous Materials 422: 126876.

Yemm, E. W. and Willis. A. J. (1954) The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. Biochemistry Journal 57: 508-514.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]

The effect of selenium on growth, photosynthesis and activity of acid phosphatase in garlic (*Allium sativum* L.) plants under phosphorus deficiency and mycorrhizal colonization

Masoumeh Hamed-Far [1], Roghieh Hajiboland [1*] and Nasser Aliasgharzad [2]

[1] Department of Plant Science, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] Department of Soil biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received: 20/05/2022, Accepted: 02/08/2022)

Abstract

Garlic (*Allium sativum* L.) is susceptible to phosphorus (P) deficiency and because of coarse root system with low branching rate, this species is highly dependent on mycorrhizal symbiosis. As a beneficial element for plants, selenium (Se) improves nutritional and pharmaceutical quality of this species. In this research, the effect of Se (at 0, 20 and 80 µg L^{-1} of substrate as Na_2SeO_4) was investigated in garlic plants grown under adequate (2 mM) and low P (without P supply for six weeks) in the absence or presence of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), *Diversispora versiformis* in perlite as substrate and irrigated with Hoagland nutrient solution for six weeks. Results showed that, P deficiency caused reduction of shoot growth as well as leaf photosynthesis while AMF inoculation culminated in the improvement of growth, photosynthesis and sugars content. Selenium augmented the effect of AMF inoculation leading to the highest dry biomass, photosynthesis and sugars content under the combination of both treatments irrespective the P supply level. The root activity of acid phosphatase (APase) was not affected by low P or +AMF as single treatments, whereas Se alone or in combination with low P and +AMF significantly increased the APase activity. The optimum Se concentration on the biomass, root colonization rate, photosynthesis and APase activity was 80 µg L^{-1}. This is the first report on the synergistic effect of Se on AMF symbiosis on the adaptive response of plants to P deficiency.

Keywords: Acid phosphatase (APase), Garlic (*Allium sativum* L.), Photosynthesis, Root colonization, Sodium selenate, soluble sugars

Corresponding author, Email: ehsan@tabrizu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.11.9]