زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال پنجم، شماره هفدهم، پاییز ۱۳۹۲، صفحه ۷۵-۸۸
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۱۴
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۱/۰۶/۲۷
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۱/۰۹/۰۶
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۰۹/۱۳

# تأثیر همزمان دو قارچ مایکوریز آربوسکولار بر تولید گلیسیریزین، ترکیبات فنولیک کل و فلاونوئید در ریشه‌های شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

یونس اروجی [۱]، لیلا شبانی [۲]*، مجید شریفی تهرانی [۲]، فاطمه آقابابایی [۲] و شکوفه انتشاری [۱]
[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

**چکیده**

طی برقراری همزیستی آربوسکولار مایکوریز، برخی از شاخص‌های شیمیایی و زیستی گیاه از جمله الگوی تجمع ترکیبات ثانویه در گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. از آنجا که ترکیبات ثانویه گیاهان از جهات مختلف مانند کاربرد در صنایع غذایی، دارویی و دفاع گیاه اهمیت دارند، مطالعات گوناگونی در خصوص میزان تأثیر آلودگی قارچی در شاخص‌های مختلف رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان انجام می‌شود. در این پژوهش، با تلقیح همزمان بذرهای گیاه شیرین‌بیان توسط دو گونه از قارچ آربوسکولار مایکوریز *Glomus mosseae* و *G. intraradices* آثار تلقیح بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه نمونه‌ها پس از شش ماه رشد در شرایط تلقیح بررسی شد. درصد کلونیزاسیون، شاخص‌های رشد، میزان فسفر و روی، مقدار گلیسیریزین، ترکیبات فنولیک کل و فلاونوئیدها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که ارتفاع ریشه، طول ساقه، تعداد برگچه و وزن تر و خشک در گیاهچه‌هایی که با تلقیح همزمان بذرها با قارچ‌های آربوسکولار مایکوریز رشد نموده‌اند پس از شش ماه رشد، نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش داشته است. همچنین، میزان عناصر فسفر و روی در گیاهچه‌هایی که با هر دو قارچ تلقیح شده‌اند در مقایسه با نمونه‌های شاهد بیشتر بوده است. ترکیبات ثانویه مهم گیاه (ترکیبات فنولیک، فلاونوئید کل و گلیسیریزین) نیز در ریشه‌های گیاهان تیمار شده پس از شش ماه رشد افزایش درخور توجهی نسبت به نمونه‌های شاهد داشتند. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که تلقیح همزمان بذرهای گیاه شیرین‌بیان با دو گونه از قارچ آربوسکولار مایکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* نقش مؤثری در افزایش کمّی شاخص‌های رشد گیاه و بهبود ویژگی‌های کیفی گیاه دارویی شیرین‌بیان دارد.

**واژه‌های کلیدی:** ترکیبات فنولیک، شیرین‌بیان، گلوموس (*Glomus*)، گلیسیریزین، مایکوریز

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: shabani-l@sci.sku.ac.ir، شماره تماس: ۰۳۸۱۴۴۲۴۴۰۵

**مقدمه**

شیرین‌بیان گیاهی چندساله و از تیره Fabaceae است که بومی نواحی مدیترانه، جنوب روسیه و آسیا بوده، ولی در حال حاضر در سراسر اروپا، خاورمیانه و آسیا کشت می‌شود. قسمت مورد استفاده این گیاه ریشه آن است که به صورت تجاری از گیاهان خودرو و نیمه‌خودرو برداشت می‌شود. عمده‌ترین کشورهای تولید کننده این گیاه ترکیه، ایران، یونان، چین، هند، پاکستان، افغانستان، سوریه، ایتالیا و اسپانیا هستند. ریشه‌های این گیاه حاوی ماده‌ای به نام گلیسیریزین هستند که حدود پنجاه برابر از شکر شیرین‌تر است. به همین علت عصاره حاصل از این گیاه برای شیرین کردن و طعم دادن به بسیاری از فرآورده‌ها استفاده می‌شود. علاوه بر استفاده از شیرین‌بیان به عنوان شیرین‌کننده و طعم‌دهنده، ریشه این گیاه سال‌های متمادی است که در نقاط مختلف جهان برای درمان اختلالات ریوی، گوارشی، کبدی، صفراوی و ادراری استفاده می‌شود. اخیراً بررسی‌های گسترده‌ای روی سایر خواص این گیاه انجام شده است. بررسی‌ها نشان داده‌اند که این گیاه در اختلالات کبدی حاد، هپاتیت B و C مزمن، هپاتیت عفونی، هموفیلی و اختلالات سیستم ایمنی مؤثر بوده، مانع همانندسازی ویروس HIV در بیماران مبتلا به ایدز می‌شود. تأثیر استروژنی، ضد میکروبی، ضد هلیکو باکتر پیلوری و آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز اثبات شده است (Fujisawa and Tandon, 1994؛ Jurgen, 1999؛ Cinatl *et al.*, 2003). ریشه گیاه حاوی ترکیبات متعددی از خانواده‌های تری‌ترپن ساپونین، فلاونوئید، ایزوفلاونوئید، هیدروکسی کومارین، استرول و به مقدار جزیی اسانس است که مهم‌ترین ترکیب مؤثر آن ماده‌ای به نام گلیسیریزین (نمک سدیم و پتاسیم گلیسیریزیک اسید) است (Wang *et al.*, 1995). اثبات شده است که آثار محافظتی گیاه در اختلالات کبدی، بیماری‌های آلرژیک، التهاب و زخم‌های معده تا حد زیادی وابسته به این ماده است (Arase *et al.*, 1997). همچنین، بررسی‌های آزمایشگاهی آثار ضد توموری این ماده را نیز نشان داده‌اند (Kozai, 2005).

معمولاً کیفیت گیاهان دارویی از طریق ویژگی‌های ژنتیکی برتر، بیوماس بالا، غلظت بالا و ثابت متابولیت‌های ثانویه آنها تعیین می‌شود. کیفیت بالای گیاهان دارویی تنها در شرایط کاملاً کنترل شده حاصل می‌شود. محیط کنترل شده، محیطی است که تمام عوامل فیزیکی مانند آب و هوا، غلظت دی اکسید کربن، رطوبت نسبی، دما، نور و عوامل غذایی مانند کاربرد تقویت‌کننده‌ها و ترکیب محیط غذایی کاملاً تنظیم شود. در این محیط می‌توان گیاهان دارویی فاقد آلودگی زیستی و غیر زیستی در زمان و مکان محدود با کمترین آلودگی محیطی را تولید کرد (Zobayed *et al.*, 2005). تکنولوژی محیط کنترل شده امکان کاربرد تنش‌های محیطی کنترل شده ویژه را فراهم می‌کند که در نتیجه تولید ترکیبات متابولیسم ثانویه و اجزا آن را از طریق القا تغییرات بیوشیمیایی طبیعی در گیاهان بهینه می‌کند (Schüßler *et al.*, 2001).

قارچ‌های آربوسکولار مایکوریز (AM) به شاخه Glomeromycota متعلق هستند (Barea and Jeffries, 1995) که همزیستی متقابل با بیشتر گیاهان پیشرفته برقرار می‌کنند (Jeffries and Barea, 2001) و گیاهان

از طریق افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی، به دست آوردن مواد غذایی و بهبود کیفیت خاک سود می‌برند (Khalil *et al.*, 1994). تلقیح قارچ آربوسکولار مایکوریز در مزارع سویا، ارزن، مرکبات سه برگی، برنج و ۱۷ لگوم خاص نواحی گرمسیری با بهبود تأثیر اقتصادی بر کشاورزی و باغبانی (Jeffries, 1987؛ Duponnois *et al.*, 2001) از طریق افزایش رشد و محصول این گیاهان نشان داده شده است (Morandi, 1996). طی برقراری همزیستی آربوسکولار مایکوریز، طیفی از شاخص‌های شیمیایی و زیستی در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌گیرد که از جمله می‌توان به الگوی ترکیبات ثانویه گیاه اشاره کرد. تجمع فلاونوئیدها (Maier, 1995؛ Vierheilig, 1998)، مشتقات سیکلوهگزان و آپوکارتنوئیدها (Maier *et al.*, 1995؛ Yao *et al.*, 2003)، فیتوآلکسین‌ها (Devi and Reddy, 2002)، ترکیبات فنولیک (Akiyama and Hayashi, 2002)، تری ترپنوئیدها (Vierheilig *et al.*, 2000a) و گلوکوزینولات‌ها (Smith and Read, 1997) در گیاهان تلقیح شده با قارچ آربوسکولار مایکوریز گزارش شده است.

در این پژوهش، بررسی ترکیب دو گونه از قارچ آربوسکولار مایکوریز *Glomus mosseae* و *G. intraradices* برای تعیین آثار تلقیح بر تولید گلیسیریزین، ترکیبات فنولیک کل و فلاونوئیدها در ریشه‌های شیرین‌بیان انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور جوانه‌زنی بذرهای شیرین‌بیان (جمعیت اصفهان) که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شدند، ابتدا بذرها به مدت ۳۰ دقیقه در سولفوریک اسید ۹۵ درصد قرار داده شدند، سپس، بذرها شستشو و روی کاغذ صافی مرطوبی که درون ظرف پتری را پوشانده بود، قرار داده شدند. همزمان حدود یک گرم خاک حاوی اسپور قارچ (تهیه شده از شرکت زیست فناور توران، سمنان) به محیط کشت بذرها اضافه شد، این کار باعث می‌شود آلودگی گیاه با قارچ در ابتدایی‌ترین زمان تشکیل جوانه انجام شود. پس از ۲۴ ساعت بذرها کم کم جوانه زده، ریشه‌چه از بذرهای شیرین‌بیان خارج شد، درصد جوانه‌زنی بذرهای استفاده شده بیشتر از ۹۰ درصد بود. زمانی که تقریباً تمام بذرها جوانه‌هایی حدود ۲/۵ سانتی‌متر پیدا کردند، برای تلقیح و انتقال به خاک آماده شدند. خاک استفاده شده در این تحقیق از روستای چلوان واقع در ۳۴ کیلومتری شهرکرد تهیه شد که از مناطق حاشیه رودخانه زاینده‌رود است و به دلیل آن که در یکی از تراس‌های رودخانه زاینده‌رود قرار گرفته است، خاک آن دارای بافت لومی-شنی است. این نوع بافت خاک در مقایسه با خاک‌های ریزبافت به دلیل فقر غذایی برای مطالعه اثرگذاری قارچ مایکوریز مناسب‌تر است. برای حذف همه اسپورها و یا پروپاگول‌های قارچی در خاک مورد آزمایش و همچنین، حذف پاتوژن‌های احتمالی و سایر عوامل تلقیح کننده گیاه، ابتدا خاک در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۲۰ اتمسفر توسط بخار آب به مدت یک ساعت استریل و پس از آن در نایلون ریخته و درب آن محکم بسته شد تا از آلوده شدن خاک‌ها توسط ریز جانداران هوا جلوگیری شود.

به منظور انجام آغشتگی مایکوریزی مقدار ۲۰ گرم از مایه تلقیح قارچ‌های حاوی ریسه، اسپور و پروپاگول قارچی، در عمق ۳ تا ۵ سانتی‌متری از سطح هر گلدان سه کیلویی ریخته شد و تعداد ۲۰ عدد از جوانه‌هایی که ارتفاع آنها تقریباً به ۲ سانتی‌متر رسیده بود، حدوداً در عمق ۳ تا ۵ سانتی‌متری در هر گلدان کاشته شد. پس از استقرار گیاهچه‌ها، روی آنها خاک ریخته شد و گلدان‌ها با آب آبیاری شدند. همچنین، هر ماه یک‌بار تحت تیمار ۲۵ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند (۱/۲ فسفر) قرار داده شدند. گلدان‌ها در گلخانه با شرایط تنظیم شده (دما: ۲۵ درجه سانتیگراد، شدت روشنایی: ۳۵۰۰ لوکس، ۱۶ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی حدود ۵۰ درصد) به مدت شش ماه نگهداری شدند. سپس از خاک خارج شدند. برای اندازه گیری درصد آغشتگی قارچی از نمونه‌های تازه ریشه‌ها استفاده شد. برای تهیه نمونه‌های خشک، ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

تعیین درصد آغشتگی مایکوریزی ریشه‌ها با روش تقاطع شبکه‌ای انجام شد. بدین صورت که ۰/۲ گرم از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده با تری پن بلو روی پتری‌دیش‌هایی که زیر آن کاغذ میلی‌متری ثابت شده بود به طور تصادفی پخش شدند و در زیر میکروسکوپ تشریحی نیز تعداد نقاط برخوردی که واجد آغشتگی مایکوریزی بودند و تعداد نقاط برخورد ریشه با خطوط اصلی کاغذ شمارش شد و این نسبت به صورت کسری به دست آمد. چنان چه این کسر در ۱۰۰ ضرب شود درصد کلونیزاسیون مربوط به هر نمونه به دست می‌آید (Giovannetti and Mosse, 1980).

**تعیین میزان عناصر غذایی**

پس از هضم نمونه‌های گیاهی به روش سوزاندن خشک و عصاره‌گیری با روش کلریدریک اسید (Waling *et al.*, 1989)، مقدار عنصر غذایی کم مصرف روی (Zn) با استفاده از دستگاه جذب اتمی تعیین شد. برای اندازه‌گیری میزان فسفر در عصاره‌ها از روش آسکوربیک اسید استفاده شد و مقدار فسفر عصاره‌ها به کمک رنگ‌سنجی و با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد (Olsen and Sommers, 1982).

**تعیین میزان متابولیت‌های ثانویه ریشه**

در این تحقیق، برای اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولیک کل و فلاونوئیدها پس از تهیه عصاره متانولی ریشه‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای سنجش میزان گلیسیریزین نمونه‌ها از روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) استفاده شد. عصاره‌گیری از ریشه‌ها به این ترتیب انجام شد که ابتدا ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه خشک شده پس از ساییدن در هاون اضافه شد و سپس به مدت ۶ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و در نهایت، محلول حاصل صاف شد.

**اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک کل**

میزان ترکیبات فنولیک کل ریشه‌ها با روش Singleton و Rossi (۱۹۹۵) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت فنولیک کل موجود در عصاره‌های تهیه شده، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی نمونه‌ها با ۱/۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم و ۱/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو (folin-ciocalteu) ترکیب کرده، در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. مقدار ترکیبات فنولیک کل در ریشه‌ها با

منحنی استاندارد گالیک اسید (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به دست آمد.

**اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئید کل**

محتوای فلاونوئید کل با روش Guan و همکاران (۱۹۹۵) اندازه‌گیری شد. به ۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی نمونه‌ها، ۴/۴ میلی‌لیتر آب اضافه شد. سپس، مقدار ۳۰۰ میکرولیتر $NaNO_2$ ۱۰ درصد به آن اضافه و پس از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر به آن $AlCl_3$ غلظت ۵ درصد اضافه شد. پس از ۵ دقیقه ۴ میلی‌لیتر NaOH یک نرمال به آن اضافه شد. سپس، جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار ترکیبات فلاونوئید کل در ریشه‌ها با رسم منحنی استاندارد کاتکین به دست آمد.

**اندازه‌گیری گلیسیریزین**

برای اندازه‌گیری غلظت گلیسیریزین از روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) استفاده شد. اندازه‌گیری گلیسیریزین در بافت ریشه انجام شد و برای این منظور از عصاره گیاهی استفاده شد. مشخصات دستگاه HPLC (Knaur) استفاده شده شامل ستون C18 (4.6 × 250mm) و آشکارساز استفاده شده UV در طول موج ۲۵۴ با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه بوده، دمای انجام آزمایش، دمای اتاق و سیستم ایزوکراتیک (غیر گرادیانت) استفاده شد. فاز متحرک، سرعت جریان حلال و حجم تزریق در این روش به ترتیب استیک اسید (رقیق شده با آب به نسبت ۱۵ : ۱): استونیتریل به نسبت ۲ : ۳، ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه و ۲۰ میکرولیتر بود. میزان گلیسیریزین در هر نمونه با استفاده از سطح زیر منحنی هر کروماتوگرام و منحنی کالیبراسیون گلیسریزیک اسید محاسبه شد. پیک مربوط به گلیسریزیک اسید در زمان بازداری حدود ۶/۳۴ دقیقه در کروماتوگرام نمونه‌ها دیده شد.

**تحلیل داده‌ها**

آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. تحلیل آماری داده‌ها با آزمون Students t و نرم‌افزار SAS نسخه ۸ و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. تفاوت‌های آماری با $P \leq 0.05$ معنی‌دار تلقی شده است.

## نتایج

پس از استخراج، شستشو، قطعه قطعه کردن و رنگ‌آمیزی ریشه‌ها و همچنین، اطمینان از آلودگی ریشه‌ها توسط دو گونه قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices*، درصد کلونیزاسیون گیاهچه‌های شش ماهه به روش تقاطع شبکه‌ای در نمونه‌های شاهد و تلقیح شده تعیین شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول ۱ آمده است. تفاوت معنی‌داری در میزان کلونیزاسیون بین گیاهچه‌های آغشته با دو گونه *Glomus* و گیاهچه‌های شاهد مشاهده شد. طول ریشه کلونیزه شده در گیاهان تلقیح شده یکی دیگر از شاخص‌هایی است که برای مقایسه اثر گونه‌های متفاوت قارچ مایکوریز بر گیاهان مختلف میزبان به کار می‌رود. همان طور که مشاهده می‌شود (جدول ۱) طول ریشه کلونیزه شده میان گیاهچه‌های آلوده با هر دو گونه قارچ مایکوریز و گیاهچه‌های شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد نشان می‌دهد.

افزایش وزن خشک اندام هوایی در اثر تلقیح مایکوریزی در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار است. همزیستی باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی در گیاهچه‌های تیمار شده با هر دو گونه *Glomus* به میزان

دو برابر در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد شده است. وزن خشک ریشه گیاه مانند طول ریشه به طور درخور توجهی تحت تأثیر مایکوریز قرار گرفت (جدول ۲)، چرا که این ویژگی‌ها به یکدیگر وابسته هستند، به طوری که در اثر همزیستی مایکوریزی وزن خشک ریشه گیاه شیرین‌بیان بیش از دو برابر افزایش نشان داد. در گیاهچه‌های شش ماهه نسبت R/S (وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه) در مورد هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداده است (جدول ۲). به نظر می‌رسد که تلقیح توسط دو گونه قارچ میکوریز به همان نسبت که باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه شده، باعث افزایش وزن خشک اندام زیرزمینی گیاه شیرین‌بیان نیز شده است. اثر تلقیح مایکوریزی بر افزایش تعداد برگچه‌ها در گیاهچه‌های شش ماهه نیز معنی‌دار بود (جدول ۲).

جذب عناصر غذایی گوناگون توسط گیاهان مختلف و حتی ژنوتیپ‌های متفاوت یک گونه متغیر است و به ویژگی‌های ژنتیکی گیاه و ریخت‌شناسی ریشه آن و شرایط خاک بستگی دارد. به طور کلی، در جذب عناصر غذایی غیر متحرک در خاک مانند فسفر، روی و مس، ویژگی‌های ریشه گیاه مانند سرعت رشد طولی ریشه، سرعت جذب عنصر توسط ریشه، طول کل ریشه و سطح جذب ریشه مؤثر هستند. در این پژوهش، میزان عناصر فسفر و روی در اندام‌های زیرزمینی گیاه شیرین‌بیان اندازه‌گیری و اثر عامل همزیستی مایکوریزی بر جذب این عناصر در گیاه بررسی شد، قاعدتاً به علت بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه در اثر تلقیح میکوریزی، غلظت این عناصر در گیاه همزیست باید افزایش پیدا کند. با توجه به نتایج جدول ۳ در مورد غلظت فسفر ریشه‌ها تفاوت معنی‌داری در بین گیاهان آغشته به قارچ و شاهد مشاهده می‌شود. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد که افزایش غلظت روی در اثر تلقیح میکوریزی در اندام زیرزمینی شیرین‌بیان در گیاهچه‌های شش ماهه نسبت به نمونه‌های شاهد به طور درخور توجهی بیشتر شده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین تلقیح قارچی بر درصد کلونیزاسیون و طول ریشه کلونیزه شده در گیاهچه‌های شش ماهه شیرین‌بیان. Con: شاهد، G.m + G.i: تلقیح همزمان با دو گونه قارچ *Glomus*. * اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

| تیمار | درصد کلونیزاسیون | طول ریشه کلون شده (mm) |
|---|---|---|
| Con | ۰ | ۰ |
| G.m + G.i | ۵۲ ± ۳/۵۱ * | ۴۵۰۲ ± ۴/۹۵ * |

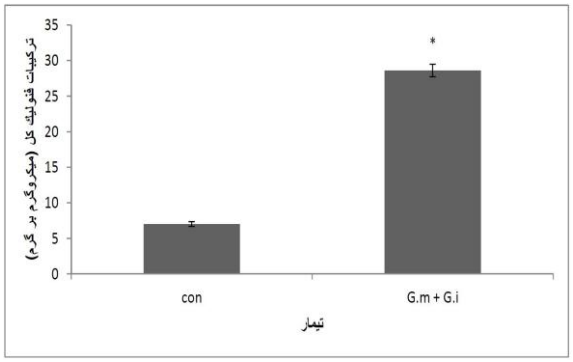
جدول ۲- مقایسه میانگین تلقیح قارچی بر برخی شاخص‌های رشد در گیاهچه‌های شش ماهه شیرین‌بیان. Con: شاهد، G.m + G.i: تلقیح همزمان با دو گونه قارچ *Glomus*. * اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

| تیمار | وزن خشک ساقه (g) | ارتفاع ساقه (cm) | تعداد برگچه | وزن خشک ریشه (g) | نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه |
|---|---|---|---|---|---|
| Con | ۰/۳۷ ± ۰/۰۶ | ۳۲±۲/۶۴ | ۳۹±۲/۵۱ | ۰/۱۵ ± ۰/۰۴ | ۰/۴±۰/۱۳ |
| G.m + G.i | ۰/۶۷ ± ۰/۰۵ * | ۶۰±۲/۶۴ * | ۷۸±۶/۲۴ * | ۰/۳۲ ± ۰/۰۲ * | ۰/۴۹±۰/۰۷ |

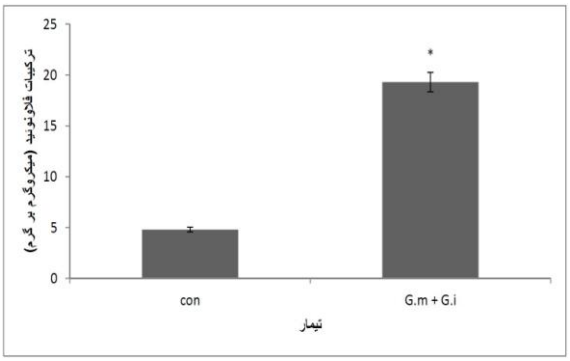
جدول ۳- مقایسه میانگین تلقیح قارچی بر غلظت روی و فسفر در ریشه گیاهچه‌های شش ماهه شیرین‌بیان. Con: شاهد، G.m + G.i: تلقیح همزمان با دو گونه قارچ *Glomus*. * اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.

| تیمار | غلظت فسفر (mg/kg) | غلظت روی (mg/kg) |
|---|---|---|
| Con | ۱/۸۶±۰/۱ | ۰/۳۱±۰/۰۰۵ |
| G.m + G.i | *۵±۰/۲ | *۱/۱۸±۰/۰۵ |

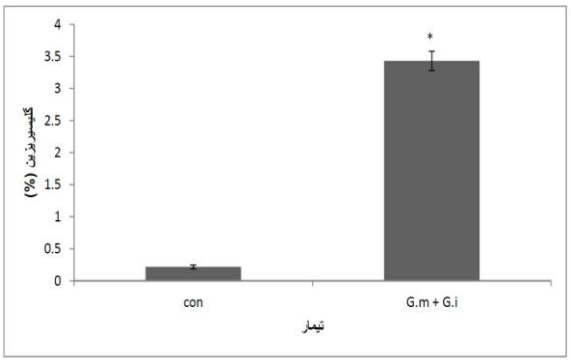
تفاوت آشکاری میان گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ مایکوریز و شاهد در میزان ترکیبات فنولیک کل ریشه ها مشاهده شد (شکل ۱). تلقیح با قارچ مایکوریز باعث افزایش غلظت این ترکیبات تا بیش از چهار برابر شد. این نتایج با نتایج مربوط به میزان ترکیبات فلاونوئیدی ریشه‌ها مشابه بود (شکل ۲). نتایج حاصل از اندازه‌گیری غلظت گلیسیریزین (شکل‌های ۳ و ۴) در گیاهچه‌های شش ماهه شیرین‌بیان نیز تفاوت معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد بین گیاهچه‌های شاهد و نمونه‌های تلقیح شده با قارچ مایکوریز نشان می‌دهد. گیاهچه‌های تلقیح شده توسط هر دو گونه قارچ میکوریز نسبت به انواع شاهد تا نزدیک به ۱۶ برابر افزایش در میزان گلیسیریزین ریشه‌ها را نشان می‌دهند.



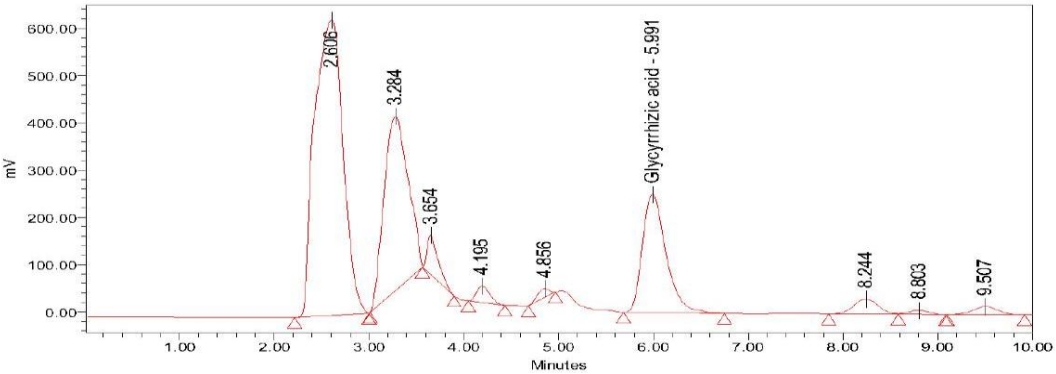

شکل ۱- تأثیر تیمار قارچی بر مقدار ترکیبات فنولیک کل در ریشه‌های شش ماهه شیرین‌بیان. Con: شاهد، G.m + G.i: تلقیح همزمان با دو گونه قارچ *Glomus*. مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SE است. * اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.




شکل ۲- تأثیر تیمار قارچی بر مقدار ترکیبات فلاونوئید در ریشه‌های شش ماهه شیرین‌بیان. Con: شاهد، G.m + G.i: تلقیح همزمان با دو گونه قارچ *Glomus*. مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SE است. * اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.




شکل ۳- تأثیر تیمار قارچی بر میزان گلیسیریزین در ریشه‌های شش ماهه شیرین‌بیان. Con: شاهد، G.m + G.i: تلقیح همزمان با دو گونه قارچ *Glomus*. مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SE است. * اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.




شکل ۴- کروماتوگرام HPLC اسید گلیسیریزیک

## بحث

اجتماعات مایکوریزی مهم‌ترین و شایع‌ترین نوع همزیستی متقابل در گیاهان است که دارای سه اثر متقابل با گیاه میزبان، قارچ و عوامل خاک هستند. Gavito و Miller (۱۹۹۸) و Al-karaki و Clark (۱۹۹۸) اظهار داشتند که یکی از شاخص‌های مهم فعالیت قارچ‌های مایکوریز، میزان کلونیزاسیون سیستم ریشه‌ای توسط این قارچ‌ها است که توسط عوامل مختلفی از جمله ویژگی‌های ظاهری و ساختمانی سیستم ریشه‌ای، مقدار و کیفیت ترشحات ریشه‌ای، مصرف کودهای شیمیایی فسفره و غلظت‌های بالای عناصر سنگین تحت تأثیر قرار می‌گیرد. Bao و Yan (۲۰۰۴) گزارش کردند که میزان کلونیزاسیون قارچ‌های وزیکولار آربوسکولار در شیرین‌بیان‌های خودرو تنها ۳۰ درصد است، در حالی که در بررسی حاضر این میزان تا بیش از ۵۲ درصد نیز مشاهده شد. Ortus و Harris (۱۹۹۶) اظهار داشتند که استفاده از قارچ مایکوریز سرعت رشد گیاه را افزایش داده، بر تخصیص و انتقال عناصر غذایی بین ریشه و ساقه تأثیر داشته است، به طوری که با افزایش جذب عناصر غذایی و انتقال آنها، وزن خشک اندام‌های هوایی افزایش می‌یابد. Abdel-fattah و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که با تلقیح گیاه *Vicia faba* با قارچ مایکوریز، کلونیزاسیون ریشه، تولید ماده خشک و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش می‌یابد (افزایش کلونیزاسیون ریشه و تولید ماده خشک) که این دقیقاً مشابه نتایجی است که در این تحقیق حاصل شد. Martin و Stutz (۲۰۰۴) نشان داد که تلقیح گیاه فلفل توسط دو گونه از قارچ مایکوریز باعث تأثیر منفی روی شاخص‌های رشد گیاه می‌شود، در حالی که در این مطالعه مشاهده شد که تأثیر تلقیح توسط هر دو گونه قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices* باعث افزایش شاخص‌های رشد گیاه از جمله وزن خشک ساقه و ریشه شیرین‌بیان می‌شود. بهبود جذب عناصر معدنی در گیاهان میزبان اغلب به پاسخ‌های رشدی مثبت در این گیاهان منجر می‌شود که عمدتاً در سطح اندام هوایی گیاه آشکار است. گزارش‌های متعددی وجود دارد که تلقیح گیاهان با قارچ‌های مایکوریزی رشد و مقدار جذب مواد غذایی را در گیاه افزایش می‌دهد و پس از آن مقاومت به تنش‌های محیطی، بیماری‌ها و همچنین، عملکرد آنها افزایش یافته است (Porras-Soriano and Soriano-

(Martín, 2009). نتایج این تحقیق همچنین نشان می‌دهد که کاربرد قارچ‌های مایکوریز در سطح ۹۵ درصد بر غلظت فسفر و روی در ریشه گیاهچه‌های شش ماهه شیرین‌بیان تأثیر معنی‌داری داشته است.

در طول مدت همزیستی با قارچ‌های مایکوریز در متابولیت‌های ثانویه گیاهان تغییراتی ایجاد می‌شود. قارچ‌های اندومایکوریز با افزایش فعالیت‌های آنزیمی متفاوت باعث تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان و متابولیت‌های ثانویه آنها می‌شوند (Mathur and Vyas, 1995). در چند سال گذشته، مطالعاتی در زمینه سنتز متابولیت‌های ثانویه به واسطه تلقیح قارچ‌های مایکوریز در گیاهان انجام شده است. برخی از این تحقیقات به متابولیسم ترپنوئیدها در گیاهان مایکوریزی اختصاص یافته است، از جمله می‌توان به افزایش تولید روغن‌های فرار در گشنیز و شوید کلونیزه شده با *G. fasiculatum* (Kapoor and Mukerji, 2002) و نعنا کلونیزه شده با *G. fasiculatum* (Freitas *et al.*, 2004) اشاره کرد. پژوهشگران نشان دادند که وزن ریشه‌ها، ساقه‌ها و تولید ترپنوئید در *Euphorbia pekinensis* پس از آلوده شدن با قارچ‌های مایکوریز افزایش می‌یابد. همچنین، بررسی سیتوپلاسمی نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم‌های PAL (فنیل آلانین آمونیالیاز) و DXR (۱-داکسی دی گزیلوز ۵- فسفات رداکتو ایزومراز) در بافت گیاهی در حضور قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار افزایش می‌یابد (Yuan and Chen., 2010). در همین حال، از برخی قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار الیسیتورهایی جداسازی شده‌اند که باعث افزایش بیوماس و القا ترپنوئیدها می‌شوند. به نظر می‌رسد آلوده‌سازی گیاهان با قارچ مایکوریز و اندوفیت‌ها افزایش شارش متابولیکی مسیر MEP (methylerythritol phosphate) را به دنبال دارد (Wang *et al.*, 2006). مطالعات Peipp و همکاران (۱۹۹۷) نشان داد که تلقیح قارچ‌های *G. intraradices* در جو می‌تواند تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند آمیدها و مشتقات سزکوئی‌ترپنوئید سیکلوهگزانون را در ریشه‌ها القا کند. مشابه همین نتایج در این تحقیق نیز مشاهده شده است. تلقیح گیاهچه‌های شیرین‌بیان با قارچ مایکوریز آربوسکولار به افزایش میزان گلیسیریزین در ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت به انواع شاهد منجر شده است. در مطالعه‌ای Vierheilig و همکاران (b ۲۰۰۰) نشان دادند که کلونیزاسیون ریشه‌های گندم، جو و ذرت با قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار مختلف به تجمع مشتقات سیکلوهگزان منجر شده است. سیگنال‌های متعدد و مسیرهای سیگنالی فراوانی در طول ایجاد همزیستی مایکوریزی، بیان ژن‌های کد کننده متابولیت‌های ثانویه را کنترل می‌کنند (Hause and Fester, 2005؛ Harrison, 2005). قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار انباشتگی میکورادیسین را از مسیری غیر از مسیر موالونات یعنی در مسیر MEP القا می‌کنند. در این مسیر دیده شده است که القا شدیدی در سطح رونویسی cDNA دو آنزیم مهم کد کننده ۱-داکسی دی گزیلوز ۵-فسفات رداکتو ایزومراز (DXS) و ۱-داکسی دی گزیلوز ۵-فسفات رداکتو ایزومراز (DXR) در گیاهان مایکوریزی اتفاق می‌افتد (Walter *et al.*, 2000). مهم‌ترین ماده مؤثر گیاه دارویی شیرین‌بیان گلیسیریزین است که یک ساپونین تری‌ترپنوئید محسوب شده و بیش از ۲۴ درصد وزن خشک ریشه‌های شیرین‌بیان را به خود اختصاص می‌دهد. در بررسی میزان گلیسیریزین

مشخص شد که مقدار این ترکیب در ریشه گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافته است که فرضیه مربوط به نقش این دسته از قارچ‌ها در افزایش این ماده در شیرین‌بیان را تقویت می‌کند. همچنین، همان طور که Paiva (۲۰۰۰) نشان داد ترپنوئیدها نقش مهمی در برهمکنش‌های گیاه-میکروب ایفا می‌کنند، احتمالاً یکی از علت‌های افزایش گلیسیریزین در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ مایکوریز تحریک سیستم دفاعی گیاه در برابر قارچ و افزایش سنتز گلیسیریزین است.

تاکنون پژوهش‌های معدودی در زمینه تأثیر قارچ‌های مایکوریز بر تولید ترکیبات فنیل پروپانوئید که برای بشر قابل استفاده هستند، صورت گرفته است. از جمله می‌توان به تأثیر قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار بر تولید ترکیبات فنولیک در ریشه‌ها (Larose *et al.*, 2002) و افزایش تولید ترکیبات فنولیک (رزمارینیک اسید و کافئیک اسید) در ریشه‌ها و ساقه‌های گیاه ریحان کلونیزه شده با قارچ‌های آربوسکولار (Toussaint *et al.*, 2007) اشاره کرد. در مطالعه‌ای دیگر که Mathur و Vyas (۱۹۹۵) روی برگ و ریشه گیاه *Ziziphus xylopyrus* تیمار شده با شش گونه قارچ مایکوریز انجام دادند، علاوه بر افزایش معنی‌دار ترکیبات فنولی در همه تیمارهای قارچی، همبستگی مثبتی میان انباشتگی فنولیک کل و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در این گونه گیاهی مشاهده شد، بنابراین گزارش دادند که افزایش انباشتگی ترکیبات فنلی در گیاهان تیمار شده با قارچ می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز باشد و افزایش فعالیت آنزیم گیاهی پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز می‌تواند در ارتباط با افزایش محتوای فنولیک کل در نمونه‌های تلقیح شده با قارچ باشد (Devi and Reddy, 2002). نتایج این بررسی نشان می‌دهد که کاربرد قارچ‌های مایکوریز بر میزان ترکیبات فنولیک کل در گیاهچه‌های شش ماهه شیرین‌بیان تأثیر معنی‌داری داشته است و این ترکیبات را تا چهار برابر افزایش داده است. مکانیسم احتمالی که ترکیب دو قارچ غلظت ترکیبات فنولیک کل و فلاونوئیدها را در شیرین‌بیان افزایش می‌دهد، می‌تواند بهبود تغذیه نیتروژن باشد. تایروزین و فنیل آلانین پیش‌سازهای مهم تولید ترکیبات فنولیک هستند. بنابراین، احتمال تثبیت بالای نیتروژن در گیاهان کلونیزه شده در تولید این اسیدهای آمینه و سپس تولید بالای یکی از آنزیم‌های مهم درگیر در تولید ترکیبات فنولیک (آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز) وجود دارد. این آنزیم نخستین مرحله از بیوسنتز فنیل پروپانوئید که نقطه انشعابی میان متابولیسم اولیه و ثانویه است را کاتالیز می‌کند، همچنین، نقش مهمی در بیوسنتز فلاونوئیدها، لیگنین‌ها و بسیاری از ترکیبات دیگر ایفا می‌کند (Toussaint *et al.*, 2004). مکانیسم احتمالی دیگر برای افزایش ترکیبات فنولیک، پتانسیل قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار برای القا تغییرات در میزان فیتوهورمون‌های گیاه میزبان مانند سیتوکینین‌ها و جیبرلین است (Allen *et al.*, 1982).

شاخص‌های مختلف رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه شیرین‌بیان تحت تأثیر همزیستی با قارچ‌های *G. mosseae* و *G. intraradices* تغییرات معنی‌داری را در آزمایش‌های پیشین نگارندگان نشان داده‌اند (Orujei *et al.*, 2013). مطالعه اخیر تأثیر

همزمان این دو قارچ همزیست را که بیشترین اثر را در میان قارچ‌های مختلف بر شاخص‌های یاد شده نشان داده‌اند، بررسی نموده است. به طور کلی، نتایج به دست آمده در این بررسی، فرضیات ابتدایی یعنی برقراری همزیستی و تأثیر همزمان قارچ‌ها بر جذب عناصر غذایی و شاخص‌های رشد و فیزیولوژی این گیاه و افزایش گلیسیریزین به عنوان مهم‌ترین ماده مؤثر شیرین‌بیان به عنوان گیاه دارویی سودمند را تأیید می‌نماید. انجام بررسی‌های بیشتر برای ارزیابی تأثیر کلونیزاسیون ریشه‌های گیاهان دارویی با قارچ‌های همزیست و سایر میکروب‌های ریزوسفر بر متابولیسم ثانویه توصیه می‌شود.

## سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه انجام شد که بدین وسیله قدردانی می‌نماییم.

## منابع

Bao, Y. Y. and Yan, W. (2004) Arbuscular mycorrhizae and their structural types on common plants in grasslands of mid-western inner mongolia. Biodiversity Science 12: 501-508.

Barea, J. M. and Jeffries, P. (1995) Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. In: Mycorrhiza structure, function, molecular biology and biotechnology (EDS. Varma, A. and Hock, B.) 521-559. Springer-Verlag, Berlin.

Cinatl, J., Morgenstern, B., Bauer, G., Chandra, P., Rabenau, H. and Doerr, H. W. (2003) Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. Lancet 361: 2045-2046.

Devi, M. C. and Reddy, M. N. (2002) Phenolic acid metabolism of ground nut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and rhizobium. Plant Growth Regulation 37: 151-156.

Duponnois, R., Plenchette, C. and Ba, A. M. (2001) Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. European Journal of Soil Biology 37: 181-186.

Freitas, M. S. M., Martins, M. A. and Vieira, E. (2004) Yield and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to

Abdel-fattah, G. M., Migaher, F. F. and Ibrahim, A. H. (2002) Interactive effects of endomycorryhizal fungus *Glomus etunicatum* and phosphorus fertilization on growth and metabolic activities of broad bean plants under drought stress conditions. Pakistan Journal of Biological Sciences 5: 835-841.

Akiyama, K. and Hayashi, H. (2002) Arbuscular mycorrhizal fungus promoted accumulation of two new triterpenoids in cucumber roots. Bioscience Biotechnology Biochemistry 66: 762-769.

Al-Karaki, G. N. and Clark, R. B. (1998) Growth, mineral acquisition and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. Journal of Plant Nutrition 21: 263-276.

Allen, M. F., Moore, T. S. and Christensen, M. (1982) Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II. altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant. Canadian Journal of Botany 60: 468-471.

Arase, Y., Ikeda, K., Murashima, N., Chayama, K., Tsubota, A., Koida, I., Suzuki, Y., Saitoh, S., Kobayashi, M. and Kumada, H. (1997) The long term efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitis C patients. Cancer 79: 1494-1500.

inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Pesquisa Agropecuária Brasileira 39: 887-894.

Fujisawa, K. and Tandon, B. N. (1994) Therapeutic approach to the chronic active liver disease: summary of a satellite symposium. In: Viral hepatitis and liver disease (EDS. Nishioka, K., Suzuki, H., Mishiro, S. and Oda, T.) 662-665. Springer-Verlag, Tokyo.

Gavito, M. E. and Miller, M. H. (1998) Changes in mycorrhiza development, dry matter partitioning and yield of maize. Plant and Soil 199: 177-186.

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

Guan, J. Y., Wang, W. W., Ma, M. T., Zhang, S. Y. and Xing, Y. (1995) Investigation of technological preparation on soak of *Saussurea involucrate*. Journal of Shenyang Pharmacology University 12: 209-211.

Harrison, M. J. (2005) Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annual Review of Microbiology 59: 19-42.

Hause, B. and Fester, T. (2005) Molecular and cell biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis. Planta 221: 184-196.

Jeffries, P. (1987) Use of mycorrhiza in agriculture. Critical Reviews in Biotechnology 5: 319-357.

Jeffries, P. and Barea, J. M. (2001) Arbuscular mycorrhiza-a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: Fungal associations (Ed. Hock, B.) 95-113. Springer-Verlag, Berlin.

Jurgen, R. (1999) Plant-microbe interactions and secondary metabolites with antiviral, antibacterial and antifungal properties. In: Functions of plant aecondary metabolites and their exploitation in biotechnology (Ed. Wink, M.) 187-273. Sheffield Academic Press Ltd., Sheffield.

Kapoor. R., Giri, B. and Mukerji, K. G. (2002) Effect of the vesicular arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fascilucatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology 81: 77-79.

Khalil, S., Loynachan, T. E. and Tabatabai, M. A. (1994) Mycorrhizal dependency and nutrient uptake by improved and unimproved corn and soybean cultivars. Agronomy Journal 86: 949-958.

Kozai, T. (2005) Introduction. In: Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new propagation and transplant production system (Eds. Kozai, T., Afreen, F. S. and Zobayed, M. A.) 1-5. Springer Academic Publisher, Netherlands.

Larose, G. Chenevert, R., Moutoglis, P., Gagne, S., Piche, Y., Vierheilig, H. (2002) Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. Journal of Plant Physiology 159: 1329-1339.

Maier, W., Peipp, H., Schmidt, J., Wray, V. and Strack, D. (1995) Levels of a terpenoid glycoside (blumenin) and cell wall-bound phenolics in some cereal mycorrhizas. Plant Physiology 109: 465-470.

Martin, C. A. and Stutz, J. C. (2004) Interactive effects of temperature and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P uptake and root respiration of *Capsicum annuum* L.. Mycorrhiza 4: 241-244.

Mathur, N. and Vyas, A. (1995) Changes in isozyme patterns of peroxidase and polyphenol oxidase by VAM fungi in roots of *Ziziphus* species. Plant Physiology 4: 498-500.

Morandi, D. (1996) Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions and their potential role in biological control. Plant Soil 185: 241-251.

Olsen, S. R. and sommers, L. E. (1982) Phosphorus. In: Methods of soil analysis. part 2: chemical and microbiological

properties. (Eds. Page, A. L., Miller, R. H. and Keeney, D. R.) 403-427. Madison, Wisconsin.

Orujei, Y., Shabani, L., Sharifi-Tehrani, M. (2013) Induction of glycyrrhizin and total phenolic compound production in licorice by using arbuscular mycorrhizal fungi. Russian Journal of Plant Physiology 60: 855-860.

Ortus, I. and Harris, P. J. (1996) Enhancement uptake of phosphorus by mycorrhizal *sorghum* plant as influenced by forms of nitrogen. Plant and Soil 184: 225-264.

Paiva, N. L. (2000) An introduction to the biosynthesis of chemicals used in plant microbe interactions. Journal of Plant Growth Regulation 19: 131-143.

Peipp, H., Maier, W., Schmidt. J., Wray, V. and Strack, D. (1997) Arbuscular mycorrhizal fungus-induced changes in the accumulation of secondary compounds in barley roots. Phytochemistry 44: 581-587.

Porras-Soriano, A. and Soriano-Martín, M. L. (2009) Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. Journal of Plant Physiology 166: 1350-1359.

Schüßler, A., Schwarzott, D. and Walker, C. (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research 105: 1413-1421.

Singleton, V. L. and Rossi I. A. (1995) Colorimetry of total Phenolics with phosphor- molybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-58.

Smith, S. E. and Read, D. J. (1997) Genetic, cellular and molecular interactions in the establishment of VA mycorrhizas. In: Mycorrhizal symbiosis (Eds. Smith, S. E. and Read, D. J.) 9-33. Academic, New York.

Toussaint, J. P, Smith, F. A. and Smith, S. E. (2007) Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. Mycorrhiza 17: 291-297.

Toussaint, J. P., St-Arnaud, M. and Charest, C. (2004) Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith and Ri T-DNA roots of *Daucus carota* L. in an *in vitro* compartmented system. Canadian Journal of Microbiology 50: 251-260.

Vierheilig, H., Bago, B., Albrecht, C., Poulin, M. J. and Piche, Y. (1998) Flavonoids and arbuscular mycorrhizal fungi. In: Flavonoids in the living system (Eds. Manthey, J. and Buslig, B.) 9-33. Plenum, New York.

Vierheilig, H., Bennett, R., Kiddle, G., Kaldorf, M. and Ludwig-Müller, J. (2000a) Differences in glucosinolate patterns and arbuscular mycorrhizal status of glucosinolate-containing plant species. New Phytologist 146: 343-352.

Vierheilig, H., Gagnon, H., Strack, D. and Maier, W. (2000b) Accumulation of cyclohexenone derivatives in barley, wheat and maize roots in response to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. Mycorrhiza 9: 291-293.

Walter, M. H., Fester, T. and Strack, D. (2000) Arbuscular mycorrhizal fungi induce the non-mevalonate methylerythritol phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis correlated with accumulation of the ‘yellow pigment’ and other apocarotenoids. Plant 21: 571-578.

Waling, I., Vanvak, W., Houba, V. G. J. and Vanderlee, J. J. (1989) Soil and plant analysis, a series of syllabi. Plant analysis procedures, part 7. Wageningen Agricultural University, The Netherlands.

Wang, J. W., Zheng, L. P. and Tan, R. X. (2006) The Preparation of an elicitor from a fungal endophyte to enhance artemisinin production in hairy root Cultures of *Artemisia annua* L.. Chinese Journal of Biotechnology 22: 829-834.

Wang, Zh., Nishioka, M., Kurosaki, Y., Nakayama, T. and Kimura, T. (1995) Gastrointestinal absorption characteristics of glycyrrhizin from *Glycyrrhiza* extract. Biological and Pharmaceutical Bulletin 18: 1238-1241.

Yao, M. K., Desilets, H., Charles, M. T. and Boulanger, R. (2003) Effect of mycorrhization on the accumulation of rishitin and solavetivone in potato plantlets challenged with *Rhizoctonia solani*. Mycorrhiza 13: 333-336.

Yuan, Z. L., Dai, C. and Chen, L. (2010) Regulation and accumulation of secondary metabolites in plant-fungus symbiotic system. African Journal of Biotechnology 6: 1266-1271.

Zobayed, S. M. A., Afreen, F. and Kozai, T. (2005) Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's wort. Plant Physiology and Biochemistry 43: 977-984.

# Dual effects of two mycorrhizal fungi on production of glycyrrhizin total phenolic and total flavonoids compounds in roots of *Glycyrrhiza glabra* L.

**Yuness Orujei [1], Leila Shabani [2]*, Majid Sharifi Tehrani [2], Fatemeh Aghababaei [2] and Shekoofeh Enteshari [1]**

[1] Biology Department, Payame Noor University, 19395-3697 Tehran, I. R. of Iran
[2] Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

## Abstract

Certain chemical and biological parameters of the plants including secondary metabolite accumulation are affected during the establishment of arbuscular mycorrhizal symbiosis. Since, secondary metabolites are important from many aspects like food and pharmaceutical industries and also plant defense system, many studies are focused on the effects of fungal inoculation on different growth parameters and secondary production in plants. In this study, after simultaneous inoculation of licorice seeds with two fungal species *Glomus mosseae* and *G. intraradices* effects of inoculation on growth parameters and secondary production in 6-mounths old samples were assessed. Percentage of colonization, plant growth parameters, phosphorus and zinc, amount of glycyrrhizin, the total phenolic compounds and total flavonoids were measured. Results showed that length of roots and stems were increased as well as the number of leaflets, fresh and dry weights of seedlings, as compared to the control plants. Amount of phosphorus and zinc were also increased in inoculated samples compared to the controls. Significant increases were also observed in secondary compounds of roots of the 6-mounths old plants (phenolic compounds, total flavonoids and glycyrrhizin) compared to the control samples. Results showed that simultaneous inoculation of licorice seeds with mycorrhizal arbuscular fungi *G. mosseae* and *G. intraradices* played an important role in increasing quantitative plant growth parameters and improving qualitative characteristics of medicinal plant licorice.

**Key words:** Phenolics, *Glycyrrhiza glabra*, *Glomus*, Glycyrrhizin, Mycorrhiza

* Corresponding Author: shabani-l@sci.sku.ac.ir