تاثیر قارچ میکوریز آربسکولار و *Pseudomonas fluorescens* بر عملکرد و میزان تغییرات کلروفیل (SPAD) در مراحل مختلف رشد ذرت تحت شرایط تنش کم آبی

مهدی قورچیانی*[1]، غلامعباس اکبری[2]، حسینعلی علیخانی[3]، مهدی زارعی[4]، ایرج اله دادی[5]

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، [2،5]دانشیاران گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، [3] دانشیار گروه مهندسی علوم خاک و آب پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج دانشگاه تهران،[4]استادیار بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز.

Email:mghorchiani@ymail.com

چکیده

به منظور بررسی اثرمایه‌زنی بذر با قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری ***Pseudomonas fluorescens*** روی عملکرد دانه و میزان تغییرات شاخص کلروفیل (SPAD) در طول مراحل مختلف رشد رویشی و زایشی ذرت در شرایط تنش کم آبی آزمایشی به صورت کرت های دو بار خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارها عبارت از آبیاری، ترکیبات سطوح مختلف مایه‌زنی بذر با قارچ میکوریز آربسکولار و ***Pseudomonas fluorescens*** و تیمار کود شیمیایی فسفره بودند. نتایج بدست آمده نشان داد که اثر آبیاری، سطوح مختلف مایه‌زنی بذر با قارچ میکوریز آربسکولار و ***Pseudomonas fluorescens*** و کود شیمیایی فسفر روی میزان کلروفیل در تمام مراحل رشد و عملکرد دانه ذرت معنی دار است. تیمار تنش ملایم نسبت به تیمار آبیاری مطلوب باعث کاهش معنی دار عملکرد دانه و میزان کلروفیل در تمام مراحل رشد گیاه گشت. نتایج نشان دادند که مایه زنی توام با میکوریز آربسکولار و باکتری ***Pseudomonas fluorescens*** نسبت به مایه زنی جداگانه با هر یک از این ریزموجودات دارای یک اثر هم افزایی مثبت در افزایش صفات مورد بررسی است.

کلمات کلیدی: باکتری *Pseudomonas fluorescens*، ذرت، قارچ میکوریز آربسکولار، کلروفیل، Spad

مقدمه

ذرت یکی از مهمترین گیاهان زراعی است که برای تولید غذا، علوفه و محصولات صنعتی مورد استفاده قرار می گیرد (حمیدی و همکاران، 1386). مقادیر بالائی از نهاده های شیمیایی برای افزایش عملکرد ذرت مصرف می شود. استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی فسفر نه تنها بار مالی زیادی را به کشاورز تحمیل می کند، بلکه باعث آلودگی محیط نیز می گردد (بورگارد و همکاران 2008). هرچند ذرت یکی از میزبانان موثر میکوریز آربسکولار در شرایط کمبود آب و عناصر غذایی می باشد، ولی بررسی های اندکی روی ذرت در زمینه برآورد امکان همزیستی میکوریز آربسکولار در افزایش تحمل به خشکی و شرایط کمبود عناصر غذایی انجام گرفته است (بومسما و وین 2008). قارچ میکوریز آربسکولار می تواند توانایی گیاهان را در سازگار شدن در مواجهه با تنش های غیر زنده ایجاد شده توسط کمبود عناصر غذایی، تنش های زیان آور شوری و خشکی افزایش دهد. باکتری های حل کننده فسفات، نیز به نوبه خود به دلیل فعالیت های چند گانه شان در بهبود وضعیت تغذیه ای خاک و ترشح مواد تنظیم کننده رشد گیاه به عنوان مهم ترین کودهای زیستی شناخته می شوند (ویاز و گولاتی 2009). استفاده از این باکتری های حل کننده فسفات به عنوان زاد مایه زیستی می تواند به استفاده حداقل از کودهای شیمیایی فسفره کمک کند.

عملکرد دانه ذرت با پیری زودرس برگ در مرحله پر شدن دانه رابطه مستقیم دارد. برخی از محققان اظهار داشتند که می توان میزان کلروفیل را به عنوان شاخصی برای اندازه گیری میزان دوام سبزینه برگ (تاخیر پیری برگ) مورد استفاده قرار داد (بتران و همکاران 2003). ایوانز و همکاران (2003) برای بررسی شدت پیری برگ، میزان کلروفیل

برگ را اندازه گیری نمودند و به این نتیجه رسیدند که هرچه مقدار کلروفیل بیشتری از برگ در طول زمان کاهش یابد نشان دهنده پیری بیشتر برگ و کاهش عملکرد گیاه است.

مواد و روشها

این تحقیق در سال زراعی 1388، به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، در سه تکرار به اجرا درآمد. فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش عبارت از: آبیاری در دو سطح، آبیاری پس از60 (آبیاری نرمال) و 120 (کم آبیاری) میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاسA؛ ترکیب ریزموجودات حل کننده فسفات-های نامحلول در چهار سطح شامل: کاربرد توام باکتری حل کننده فسفات-قارچ میکوریز آربسکولار، کاربرد قارچ میکوریز آربسکولار، کاربرد باکتری حل کننده فسفات و عدم کاربرد قارچ- باکتری (شاهد) و تیمار کود شیمیایی فسفره در سه سطح شامل: عدم مصرف کود شیمیایی فسفره (شاهد) مصرف 50% کود سوپر فسفات تریپل مورد نیاز براساس نتایج آزمون خاک (به میزان 37/5 کیلوگرم در هکتار) و مصرف خاک فسفات (به میزان44/5 کیلوگرم در هکتار) براساس کمیت فسفر مصرفی از منبع سوپر فسفات تریپل بود. قبل از کاشت ذرت نمونه برداری از عمق 30-0 سانتی متر برای آزمون خاک جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه به عمل آمد و مشخص گردید که خاک محل آزمایش دارای بافت لوم رسی، pH= 8/3، قابلیت هدایت الکتریکی 1/62 دسی زیمنس بر متر، ماده آلی 0/73 درصد و فسفر (السن) 13/5میلی گرم بر کیلوگرم بوده است. عملیات کاشت در خرداد ماه صورت گرفت و بذور به صورت کپه‌ای و با قرار دادن 2 الی3 بذر سالم در روی پشته های 75 سانتی متری و به فاصله 20 سانتی متر در روی ردیف کشت، کاشته و در مرحله 4-3 برگی تنک شدند. در این آزمایش از بذر ذرت رقم تری وی کراس 524 استفاده گردید. باکتری حل کننده فسفات از جدایه ***Pseudomonas fluorescens*** بود که از بانک ژن گروه مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج تهیه شد، بذور پس از قرار گرفتن در سوسپانسیون باکتری با جمعیت 1×10^8 باکتری زنده و فعال در هر میلی لیتر ($CFU\ ml^{-1}$) پس از 48 ساعت در مزرعه کشت شدند. قارچ میکوریزی مورد استفاده در این تحقیق ازگونه ***Glomus mosseae*** بود که از آزمایشگاه بیولوژی خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج تهیه شد. زاد مایه میکوریزی به صورت مخلوطی از اسپور، هیف، ریشه-های کلنیزه شده گیاه سورگوم و ماسه بادی با مقدار کلنیزاسیون 70 درصد و میانگین اسپور 12 عدد در هر گرم بستره بود، قبل از کاشت حدود پنج تا شش گرم از زاد مایه میکوریزی به ازای هر بذر در حفره کاشت بذور در عمق سه تا چهار سانتی متری قرار داده شد. برای اندازه گیری عملکرد پس از فرا رسیدن مرحله رسیدگی فیزیولوژیک دانه، با رعایت حاشیه از هر کرت فرعی فرعی 10 بوته انتخاب و عملکرد دانه اندازه گیری گردید. از عدد SPAD که توسط دستگاه (SPAD 502, Minolta, Japan) اندازه گیری شد، به عنوان شاخصی برای میزان کلروفیل برگ در مراحل شش برگی، نه برگی، آغاز گل دهی، پایان گل دهی، شیری شدن دانه، خمیری دانه استفاده گردید. نحوه اندازه گیری به این صورت بود که 10 بوته از هر کرت فرعی فرعی به صورت تصادفی انتخاب و میزان کلروفیل در برگ سوم از بالای گیاه و در سه نقطه از برگ (نوک، وسط و قاعده برگ) تعیین و میانگین آن برای هر کرت ثبت شد. داده ها با نرم افزار SAS تجزیه شدند و مقایسه میانگین‌ها نیز با روش آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح احتمال 5 درصد توسط نرم افزار MSTAT-C محاسبه گردیدند.

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف آبیاری روی شاخص کلروفیل در مراحل مختلف رشد در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد نشان داد که بیشترین مقادیر این صفت در مراحل مختلف رشد مربوط به تیمار آبیاری مطلوب بود، بیشترین عدد کلروفیل متر 47/3 مربوط به مرحله پایان گلدهی و در تیمار آبیاری مطلوب و کمترین مقدار آن هم به میزان 32/0 نیز مربوط به

مرحله شش برگی و از تیمار تنش ملایم بدست آمد (جدول 2). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی توسط خزاعی و همکاران (1384) در گیاه آفتابگردان نیز گزارش شده است. میسرا و اسریکاستاواتا (2000) نشان دادند که تنش کم آبی باعث تخریب کلروپلاست ها و کاهش میزان کلروفیل می شود.

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس تاثیر قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر عملکرد دانه و شاخص کلروفیل در مراحل مختلف رشد گیاه ذرت

منابع تغییرات	درجه آزادی	مرحله 6 برگی	مرحله 9 برگی	آغاز تاسل دهی	پایان گل دهی	مرحله شیری شدن دانه	مرحله خمیری شدن دانه	عملکرد دانه
بلوک	2	35/6ns	125/6ns	91/8ns	78/8ns	98/1ns	170/2ns	0/5ns
آبیاری (I)	1	514/1*	519/6*	575/1*	446/4*	396/2*	764/6*	48/7**
ریز موجودات حل کننده فسفات (FB)	3	156/1**	145/0**	241/7**	221/6**	177/9**	300/9**	14/5**
FB×I	3	8/2ns	2/6ns	8/7ns	9/5ns	24/7ns	12/4ns	1/9*
کودشیمیایی فسفره (P)	2	96/8**	55/5**	56/5**	44/2**	44/4**	92/1**	22/3**
I×P	2	56/2*	0/5ns	13/3*	9/8ns	3/6ns	8/7ns	1/8*
FB×P	6	30/9*	3/4ns	6/7ns	5/4ns	4/5ns	6/6ns	0/4ns
FB×I×P	6	14/5ns	7/0ns	4/3ns	2/7ns	4/6ns	21/0*	0/7ns
خطا	32	10/6	4/3	3/7	3/6	6/9	7/4	0/5
ضریب تغییرات%	-	9/4	5/0	4/5	4/3	6/0	7/1	9/4

**، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 1% و 5% و غیرمعنی دار.

جدول 2- مقایسه میانگین عملکرد دانه و شاخص کلروفیل در مراحل مختلف رشد گیاه ذرت تحت تاثیر سطوح مختلف آبیاری، مایه زنی با قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری *Pseudomonas fluorescens* و کود شیمیایی فسفر

تیمار	مرحله 6 برگی	مرحله 9 برگی	آغاز تاسل دهی	پایان گل دهی	مرحله شیری شدن دانه	مرحله خمیری شدن دانه	عملکرد دانه
آبیاری							
آبیاری نرمال	37/4a	44/0a	45/6a	47/3a	46/3a	41/7a	8/5a
کم آبیاری	32/0b	38/6b	40/0b	42/3b	41/6b	35/2b	6/9b
ریزموجودات حل کننده فسفات‌های نامحلول							
شاهد	30/6b	37/6c	37/8c	39/9c	39/7c	33/0c	6/7d
باکتری حل کننده فسفات	34/6a	40/7b	42/6b	44/7b	43/7b	38/5b	7/3c
قارچ میکوریز آربسکولار	36/6a	42/4ab	44/3ab	46/6ab	45/6ab	39/5b	8/0b
کاربرد توام باکتری وقارچ	37/0a	44/3a	46/4a	47/9a	46/9a	42/9a	8/8a
کود شیمیایی فسفره							
شاهد	33/4b	39/9c	41/5b	43/8b	42/8b	36/7b	6/8c
سوپرفسفات تریپل	37/0a	42/9a	44/5a	46/3a	45/5a	40/6a	8/7a
خاک فسفات	33/7b	41/1b	42/3b	44/3b	43/6b	38/1b	7/6b

در هرستون، میانگین های دارای حروف لاتین مشابه فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال 5% می باشند.

اثر مایه‌زنی بذر با قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر شاخص کلروفیل در تمام مراحل نمونه برداری در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. در این بررسی بیشترین شاخص کلروفیل از مایه‌زنی بذر با قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری *Pseudomonas fluorescens* حاصل شد، و پس از آن شاخص کلروفیل به

ترتیب در تیمار مایه‌زنی بذر با قارچ میکوریز آربسکولار و مایه‌زنی بذر با باکتری ***Pseudomonas fluorescens*** نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (جدول 2). کلنیزاسیون میکوریز آربسکولار با افزایش غلظت کربوهیدرات های محلول برگ و افزایش میزان کلروفیل از طریق بهبود محتوی کربوهیدرات‌ها، ظرفیت فتوسنتزی گیاه را نیز افزایش می دهد (بومسما و وین، 2008). سوبرامانیان و همکاران (1997) دریافتند که تنش خشکی اسیمیلاسیون قند را در ساقه های گیاهان میکوریزی نشده نسبت به ساقه های گیاهان میکوریزی شده در ارقام حساس و مقاوم به تنش خشکی کاهش می دهد. افزایش تولید قند نه تنها باعث افزایش بالقوه سطح برگ می شود بلکه باعث کاهش فتواکسیداسیون کلروفیل نیز می گردد. احتشامی و همکاران (1387) نیز بیان داشتند که استفاده از توام از باکتری ***Pseudomonas fluorescens*** و قارچ میکوریز آربسکولار منجر به افزایش عدد کلروفیل متر می گردد.

اثر کود شیمیایی فسفره برای عملکرد دانه و شاخص کلروفیل در تمام مراحل نمونه برداری در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول1). کود سوپر فسفات تریپل نسبت به کود خاک فسفات و تیمار شاهد، باعث افزایش معنی دار عملکرد دانه و شاخص کلروفیل گشت (جدول 2). از آنجایی که فسفر نقش مهمی در فعالیت های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان مانند فتوسنتز، تبدیل قند به نشاسته و انتقال خصوصیات ژنتیکی ایفا می کند، افزایش جذب فسفر و انتقال آن به سلول های گیاه، سبب بهبود رشد و افزایش فتوسنتز و تولید مواد فتوسنتزی گشته و در نتیجه در مرحله پر شدن دانه شیره پرورده کافی به بلال انتقال یافته و باعث افزایش عملکرد دانه ذرت می گردد. اویتونجی و آفولایان (2007) نشان دادند که مایه زنی سیب زمینی شیرین با قارچ میکوریز آربسکولار محتوی کلروفیل برگ را به ویژه در مراحل اولیه رشد افزایش داد البته میزان این افزایش هنگامی که میکوریز آربسکولار در ترکیب با کود NPK به کار رفت بیشتر بود.

منابع

احتشامی م، آقاعلیخانی م، چائی چی م و خاوازی ک، 1387. تاثیر کودهای زیستی فسفاته بر خواص کمی و کیفی ذرت دانه ای سینگل کراس 704 در شرایط تنش کم آبی. مجله علوم گیاهان زراعی، جلد40، شماره 1. صفحات 15-26.

حمیدی ا، اصغرزاده ا، چوگان ر، دهقان شعار م، قلاوند ا و ملکوتی م ج، 1386. بررسی کاربرد کودهای ریزوباکتریایی افزاینده رشد گیاه (PGPR) در زراعت ذرت با نهاده کافی. مجله علوم محیطی، جلد چهارم، شماره 4. صفحه های 1تا20.

خزاعی حر، محمد آبادی ع‌ا و برزوئی ا، 1384. بررسی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک انواع ارزن در رژیم های مختلف آبیاری. مجله پژوهشهای زراعی ایران، جلد 3، شماره 1. صفحه های 35تا44.

Beauregard MS, Hamel C and St-Arnaud M. 2008. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Communities in Major Intensive North American Grain Productions. Pp. 135-158. In: Siddiqui ZA, Akhtar MS and Futai K (eds.). Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry, Springer- Verlag..

Betran FJ, Beck D, Banziger M and Edmeades GO, 2003. Secondary traits in parental inbreeds and hybrids under stress and non-stress environments in tropical maize. Field Crops Res. 83: 51-65.

Boomsma CR and Vyn TJ, 2008. Maize drought tolerance: Potential improvements through arbuscular mycorrhizal symbiosis. Field Crops Res. 108: 14–31.

Earl HJ and Davis RF, 2003. Effect of drought stress on leaf and whole canopy radiation use efficiency and yield of maize. Agron. J. 95: 688-696.

Evanse EJ, Gemmill JM, Werner P, and Williams E, 2003. Physiological factors contributing to yield enhancement in winter apetalouse oilseed rape (*Brassica napus* L.). In proceeding of the 11th International rapeseed Congress, Copenhagen, Denmark.

Misra A, and Sricastatva NK, 2000. Influence of water stress on Japanese mint. J. Herbs. Spices Med. Plants. 7: 51-58.

Oyetunji, O.J., Afolayan, E.T. 2007. The relationships between relative water content, chlorophyll synthesis and yield performance of yam (*Dioscorea rotundata*) as affected by soil amendments and mycorrhizal inoculation. Archives of Agronomy and Soil Science. 53(3): 335–344.

Subramanian KS, Charest C, Dwyer LM, and Hamilton RI, 1997. Effects of arbuscular Mycorrhiza on leaf water potential, sugar content and P content during drought and recovery of maize. Can. J. Bot. 75: 1582–1591.