بررسی اثر سطوح مختلف فسفر و شوری خاک بر همزیستی قارچ میکوریز وزیکولار– آربوسکولار در گیاه شبدر

محمود قول لرعطا، فایز رئیسی و حبیب الله نادیان

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه شهرکرد، استادیار دانشگاه شهرکرد و استادیار مجتمع عالی کشاورزی ملاثانی دانشگاه شهید چمران اهواز

مقدمه

در کشاورزی پایدار همزیستی میکوریزی یکی از همزیستی های مفید گیاهان با میکروارگانیسم های خاک به شمار می آید. قارچ های میکوریز از جمله گروه‌های متنوع قارچی هستند که تقریباً در تمامی انواع خاکها، بویژه در محیط های شور، به رشد و نمو می پردازند (۲). قارچهای میکوریز آربوسکولار(AM) بخش مهمی از سیستم ریشهٔ اکثر گیاهان بوده و تشکیل دهندهٔ گروه مهمی از ارگانیسم ها در جامعهٔ میکروبی خاک هستند (۱۳).

فوائد همزیستی میکوریزها متعدد و مختلف است که مهم ترین آنها شامل افزایش جذب آب، کمک به کاهش تنش های محیطی مثل شوری (۵ و ۶) و غلظت زیاد فلزات سنگین (لیوال و همکاران۱۹۹۷) و بالاخره افزایش مقاومت گیاه به عوامل بیماریزای ریشه (۵ و ۹) هستند. علاوه بر این، قارچ های AM می توانند نقش کلیدی در چرخه عناصر غذائی، بویژه فسفر و انتقال آن از خاک به گیاه بازی کنند (۱۰ و ۱۲). مطالعات گذشته نشان می دهند که رشد هیف ها و بنا بر این جذب فسفر به وسیله بعضی از عوامل زنده و غیر زنده شامل باکتریهای خاک، کودهای شیمیائی و برخی عوامل دیگر مانند شوری تحت تأثیر قرار می گیرد (۱۳). فسفر اولیه خاک می تواند توسعهٔ همزیستی میکوریزی را تحت تاثیر قرار دهد به گونه ای که سطوح بالای فسفر مانع برقراری همزیستی میکوریزی و یا باعث پائین آمدن درصد اشغال ریشه توسط قارچهای میکوریز می گردد (۱۲). بر اساس بررسی های انجام شده مصرف کودهای فسفره، بخصوص در مقادیر بالا موجب کاهش فعالیت قارچهای میکوریز و درصد اشغال ریشه‌های گیاه می گردد (۱۱ و۱۴). عقیده بر این است که بالا بودن فسفر در خاک، رشد طولی هیف های خارجی قارچ میکوریز را کاهش می دهد (۸). در خاکهای شور، همزیستی میکوریزائی اثرات منفی املاح محلول خاک بر روی رشد گیاه را تا اندازه ای کاهش می دهد (۱۵). با بررسی و شناسائی عواملی که موجب کاهش یا افزایش فعالیت قارچ‌های میکوریز در خاک ها می شوند، می توان میزان بهره مندی گیاهان را از این همزیستی مفید افزایش داد بطوریکه در راستای نیل به کشاورزی پایدار و بسیار مهم و ضروری می باشد. در این تحقیق اثر مصرف فسفر بر درصد کلونیزاسیون فارچ های میکوریز وزیکولار– آربوسکولار در سطوح مختلف شوری در یک کشت گلدانی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حدود ۵۰۰ کیلوگرم نمونه خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی متری از مزرعه‌ای در جنوب شهرکرد تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد پس از هوا خشک شدن و عبور از غربال ۲ میلیمتری یک نمونه معرف برای تجزیه شیمیائی برداشته و مابقی آن به نسبت ۱/۵ به ۱ با ماسه بادی مخلوط گردید. بافت خاک اولیه رسی لوم (۳۰٪ = رس، ۴۶٪= سیلت و۲۴٪= شن) بود. مقادیر pH، EC، N٪، P، OM٪، $CaCO_3$٪

خاک اولیه به ترتیب ۸/۰۳ ، ۰/۱۲۳ ، ۰/۲۸ ، ۱۰ پی پی ام ، ۰/۰۳۹ و۴۱ بوده است. سپس مخلوط خاک- ماسه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵دقیقه در اتوکلاو استریل شد. چهار کیلوگرم از مخلوط فوق بداخل گلدانهای ۴/۵ کیلوئی توزین گردید و با استفاده از نمک KH_2PO_4 فسفر خاک نصف گلدانها در سطح ۳۰ پی پی ام تنظیم و سایر گلدان ها در سطح فسفر اولیه خاک (یعنی ۱۰ پی پی ام) حفظ گردیدند. جوانه های ۱/۵ سانتیمتری شبدر برسیم (L Trifolium alexandrinum) در عمق ۵ سانتی متری خاک کاشته شد و آبیاری گلدان ها به صورت وزنی و بر اساس ۵۰٪ تخلیهٔ آب قابل استفاده در طی دو هفته اول صورت گرفته است. تیمارهای میکوریزائی، به قطر یک سانتی متر از قارچ میکوریزا Glomus intrardices به صورت پودر به طور یکنواخت به سطح خاک اضافه و با یک سانتی متر خاک دفن شد. این آزمایش بر اساس طرح پایهٔ بلوکهای کامل تصادفی و به صورت فاکتوریل، با لحاظ کردن دو سطح میکوریزا (با تلقیح و بدون تلقیح) ، دو سطح فسفر(کمتر از حد بحرانی و بیشتر از حد بحرانی) و چهار سطح شوری (EC1<1 ،EC2=2، EC3=6 ،EC4=10 دسی زیمنس بر متر) ، جمعاً ۱۶ تیمار با ۴ تکرار، در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شهر کرد اجرا گردید. سطوح شوری به وسیلهٔ آبیاری با آب شور که از مخلوط نمک های کلرید سدیم، کلرید منیزیم، سولفات سدیم و سولفات منیزیم که به ترتیب با نسبت های ۲: ۱: ۱: ۱ تهیه شده است، اعمال گردیدند. در هنگام برداشت ، قسمت هوائی گیاهان از محل یقه قطع گردید و بعد از توزین آن ها در بسته های کاغذی در داخل آون به مدت ۴ روز در دمای ۷۰ درجه خشک گردید. سپس ریشه های موجود در گلدان ها با دقت جدا و شستشو داده شدند. حدود ۰/۲ گرم از ریشه ها به دقت وزن و به طول ۱ سانتی متری قطع گردید و در محلول KOH۱۰٪ به مدت یک هفته خوابانده شد. پس از شستشوی کامل در آب مقطر در محلول تریپن بلو به مدت ۳۰ الی ۳۵دقیقه برای ت رنگ آمیزی قرار داده شدند و مجدداً شستشوی کامل و دقیق با آب مقطر در محلول ۱:۱گلیسرین(آب:گلیسرین) انجام شد و سرانجام برای تعیین درصد کلونیزاسیون و طول کل ریشه و طول ریشه کلونیزه شده نگهداری گردید. مابقی ریشه ها با تعیین وزن تر آنها در آون مانند نمونه های قسمت هوائی خشک گردیدند. طول ریشه ها و در صد کلونیزاسیون آنها و طول ریشه کلونیزه شده با استفاده از روش تقاطع شبکه (۷) ، بر اساس فرمول زیر طول ریشه و سپس درصد کلونیزاسیون و طول ریشه کلونیز شده محاسبه گردید:

$$RL = n \times d \frac{11}{14}$$

که در آن:

RL: طول ریشه،

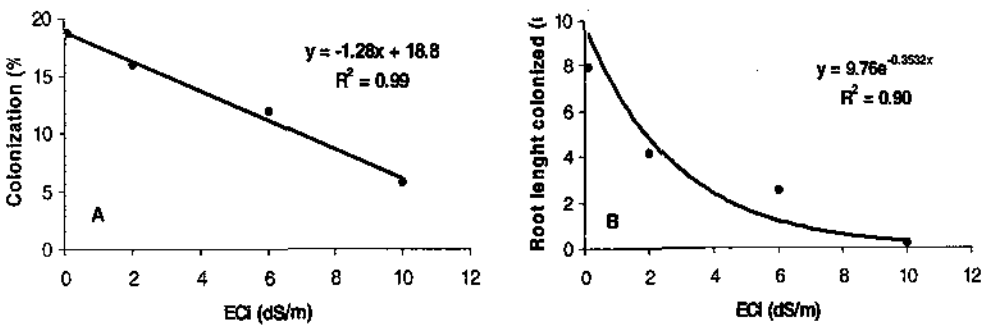
n: مجموع تعداد برخوردهای ریشه با خطوط افقی و عمودی شبکه،

d: طول ضلع مربع در شبکه.

نتایج و بحث

با توجه به جدول(۱)، با افزایش فسفر درصد کلونیزاسیون ریشه و همچنین طول ریشه کلونیز شده به طور معنی داری کاهش نشان میدهد.حاصل کار پاول و باگراراج (۱۲) ، ناگاهاشی و همکاران(۱۱) و تامسون وهمکاران (۱۱) نیز، نتیجهٔ فوق را تأیید می کنند(۱۱و۱۲و۱۴). علیرضا توسلی (۱) نیز به نتیجه مشابهی دست یافته طوری که در آزمایش وی در صد کلونی زائی در خاک با مصرف فسفر ۱۱/۹٪ و در خاک بدون مصرف فسفر ۵۴/۴۵٪ بوده است(۱). همچنین با افزایش مقدار شوری نیز درصد کلونیزاسیون ریشه و طول ریشه کلونیز شده به طور معنی داری کاهش می یابد به طوری که پائین ترین درصد کلونیزاسیون و کمترین طول کلونیز شده ریشه را در شوری بالا(۱۰دسی زیمنس برمتر) داریم. کاهش طول ریشه کلونیزشده ودرصد کلونیزاسیون ریشه با افزایش فسفر به خاک احتمالا به علت در دسترس قرار گرفتن فسفر محلول باشد. زیرا نقش میکوریزا بیشتر در جذب عناصر کم تحرک مثل فسفر می باشد که با در دسترس قرار گرفتن فسفر میکوریزا نقش خود را به خوبی انجام نمی دهد.

تأثیر منفی شوری در این مورد احتمالا به علت تاثیر شوری بر جمعیت میکروارگانیسم ها خصوصا خود قارچ VAM باشد. شکل (۱) نشان میدهند که درصد کلونیزاسیون ریشه به صورت خطی (R^2=۰/۹۹)و طول ریشه کلونیز شده به صورت تصاعدی (R^2=۰/۹۶)به طور معنی داری وبه صورت تصاعدی کاهش می یابد.



شکل(۱) رابطهٔ بین سطوح مختلف شوری خاک و کلونیزاسیون (A)و طول ریشه کلونیز شده(B) در شبدر تلقیح شده با قارچ Glomus intraradices

جدول (۱) اثر سطوح مختلف فسفر و شوری خاک بر کلونیزاسیون ریشه و طول ریشهٔ کلونیزه شده شبدر برسیم

تیمار	سطح تیمار	کلونیزاسیون (٪)	طول ریشهٔ کلونیزه شده (متر)
فسفر	ppm ۱۰	A ۱۶/۷۲	A ۴/۸۴
	ppm ۳۰	B ۹/۳۴	B ۲/۴۸
	$LSD_{0.05}$	۴/۷۷	۱/۷۶
شوری	EC1	A ۱۸/۷۷	A ۷/۹۰
	EC2	BC ۱۱/۸۱	B ۴/۱۱
	EC3	AB ۱۵/۹۲	BC ۲/۴۵
	EC4	C ۵/۷۱	C ۰/۱۹
	$LSD_{0.05}$	۶/۷۵	۲/۴۹
تغییرات منبع	فسفر	>۰/۰۱	>۰/۰۱
	شوری	>۰/۰۱	>۰/۰۰۰۱
	شوری * فسفر	<۰/۱	<۰/۱

منابع مورد استفاده

۱- توسلی، ع. ، ح. بشارتی، ف. رجالی، و ک. خاوازی. ۱۳۷۹. بررسی اثرات مصرف کودهای فسفاته ، گوگرد و مایه تلقیح باکتری های تیوباسیلوس بر در صد کلنی زائی قارچهای میکوریزدر ذرت. مجلهٔ خاک و آب، جلد۱۲، شماره۱۱، ص۱۹-۱۰.

۲- علوی، ا. و ع. آهون منش. ۱۳۷۶ . کنترل بیولوژیکی عوامل بیماریزای گیاهی خاکزاد (ترجمه). جلد دوم. انتشارات نشر آموزش کشاورزی کرج.

3. Al-Karaki, G. N. 1998. Benefit, cost and water use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. Mycorrhiza. 8: 41-45.

4. Azcon-aguilar, C. and J.M. Barea. 1996. Arbuscular mycorrhizaes and biological control of soil-born plant pathogens-an overview of the mechanisms involved. Mycorrhizae. 6: 457-464.

5. Azcon, R. and F. El-Atrash. 1997. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphorus fertilization on growth , nodulation and fixation (N^{15}) in Medicago sativa at four salinity levels. Biol. fertil. Soils, 24: 81-86.

6. Copeman, R. H., C. A. Martin and J. C. Stutz. 1996. Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or nonsaline soils. Hortscience, 31(3): 341-344.

7. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. Neww phytologist. 84: 489-500.

8. Kothari, S. K., H. Marschner and V. Romheld. 1991. Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zink by maize in a calcareus soil. Plant and Soil, 131: 177-185.

9. McAlliister, C. B., I. Garcia-romera, A. Godeas, A. and J. A. Ocampo. 1994. Intractions between Trichoderma koningii, Fusarium solani and Glomus mosseae: effects on plant growth arbuscular mycorrhizaes and the saprophyte inoculants. Soil Biology and Biochemistry, 26(10): 1363-1367.

10. Medina, O. A., D. M. Sylvia, and A. E. Kretschmer. 1988. Response of siratro vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: 1. selection of effective vesicular arbuscular fungi in amended soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 52: 416-419.

11. Nagahashi. G., D. D. Dounds. and G.D. Abney. 1996. Phosphorus amendment inhibits hyphal branching of the VAM fungus Gigaspora margarita directly and indirectly through its effect on root exudation. Mycorrhiza, 6: 403-408.

12. Powell, C. L. and D. J. Bagraraj. 1984. VA mycorrhiza. CRC.Press. Inc.

13. Ravnskov, S. and I. Jakobsen. 1999. Effects of pseudomonas fluoresences DF 57 on growth and P uptake of two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with cucumber. Mycorrhizae, 8: 329-334.

14. Thomson, B., A. D. Robson, and L. K. Abbort. 1986. Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizaes by Gigaspora and Glomus fasciculaum in relation to root carbohydrates. New Phytol. 103: 751-765.

15. Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress: New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza, 13:309–317.