اثر شوری و همزیستی میکوریزی بر فعالیت آنزیم های فسفاتاز قلیائی و اسیدی در ریزوسفر گیاه شبدر برسیم (Trifolium alexandrinum L)

محمود قول لرعطا، فایز رئیسی و حبیب اله نادیان

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

مقدمه

آنزیم ها بیوکاتالیزورهائی هستند که عامل اصلی تغییرات بیوشیمیائی در محیط محسوب می شوند. اغلب واکنش‌های بیولوژیک مؤثر در گردش عناصر غذائی خاک توسط آنزیم‌های خاک انجام می گیرد (۱) بنا براین فعالیت این آنزیم ها در خاک می تواند نقش قابل توجهی در رشد گیاه ایفا کند. عوامل متعدد و گوناگونی مانند دما، رطوبت، شوری و اسیدیته، ترکیب میکروارگانیسم‌های خاک، نوع گیاه و سیستم کشت فعالیت آنزیمم های خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند. لذا، مطالعه و بررسی عکس العمل آنزیم‌های خاک به تنش‌های مختلف میحطی در سیستم خاک- گیاه به درک بهتر نقش واکنش‌های بیولوژیک در رشد گیاه کمک خواهد کرد. فسفاتازهای خاک آنزیم‌هائی هستند که نقش مهمی در تغییر و تحول فسفر خاک، بویژه معدنی شدن فسفر آلی، ایفا می کنند. معدنی شدن فسفر آلی توسط آنزیم‌های برون سلولی در محیط غذائی یا سطح ریشه گیاه انجام می شود (۵). فسفاتازها گروه وسیعی از آنزیم‌ها هستند که هیدرولیز استرها و انیدریدهای اسید فسفریک غیر قابل جذب را کاتالیز می کنند. در بین این آنزیم‌ها، فسفو منو استرازها به دلیل نقش مؤثری که در معدنی کردن فسفر آلی خاک و تغذیهٔ گیاه دارند مورد توجه و مطالعهٔ بیشتری قرار گرفته اند (۸). فسفو منواسترازها شامل فسفاتازهای اسیدی و فسفاتازهای قلیائی می باشند که به ترتیب در خاک‌های اسیدی و قلیائی غالب هستند (۶).

میکروارگانیسم‌های خاک و ریشهٔ گیاهان منشا اصلی تولید فسفاتازها هستند. ریشه‌های کاملاً میکوریزی شده دارای مقادیر قابل توجهی از فسفاتاز قلیائی و اسیدی هستند. قارچ‌های میکوریز VAM از جمله تجزیه کنندگان فسفر آلی هستند که آزاد شدن فسفر از ترکیب های آلی توسط آنها، بستگی به نوع خاک، تراکم طولی هیف، فعالیت فسفاتاز و مقدار فسفر آلی موجود در سیستم دارد (۹). از طرف دیگر شوری خاک باعث کاهش فعالیت فسفاتاز ها می شود که در مناطق خشک و نیمه خشک ملموس تر به نظر می رسد. با توجه به وسعت زیاد خاک‌های شور در ایران، بهره برداری از این خاک‌ها با بکارگیری روش‌های بیولوژیک، امری مهم و ضروری در جهت رسیدن به توسعه پایدار کشاورزی است. لذا هدف از این تحقیق بررسی اثر توأم شوری و قارچ میکوریزا بر فعالیت آنزیمهای فسفاتاز قلیائی و اسیدی خاک است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش بر اساس طرح پایهٔ بلوک‌های کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل با دو تیمار میکوریزا (با تلقیح و بدون تلقیح) و ۴ سطح شوری (EC1<1، EC2=2، EC3=6 ، EC4=10 دسی زیمنس بر متر) و در ۴ تکرار در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شهر کرد اجرا گردید. مقدار ۵۰۰ کیلوگرم خاک با بافت رسی لوم (۳۰٪ = رس، ۴۶٪ = سیلت و ۲۴٪= شن) از عمق ۳۰-۰ سانتی متری از مزرعه ای در جنوب شهرکرد تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از هوا خشک کردن و عبور از غربال دو میلیمتری، به نسبت ۳ به ۲ (خاک به ماسه) با ماسه بادی مخلوط گردید و در اتوکلاو استریل شد. چهار کیلوگرم مخلوط خاک- ماسه به داخل گلدان‌های ۴/۵ کیلوئی ریخته، سپس گلدان‌ها به گلخانه انتقال داده شدند. جوانه‌های ۱/۵ سانتیمتری شبدر برسیم در گلدان‌ها کاشته و آبیاری به صورت وزنی و بر اساس ۵۰٪ تخلیهٔ آب قابل استفاده برای دو هفته صورت گرفته است. آنگاه تلقیح میکوریزا با قارچ Glomus intraradices انجام و تیمار های شوری با استفاده ازمخلوط نمک‌های کلرید سدیم، کلرید منیزیم، سولفات سدیم و سولفات منیزیم، به ترتیب با نسبت های ۲: ۱: ۱: ۱ در آب مقطر اعمال گردید. مدت کشت هفت هفته بود و در هنگام برداشت، مقداری از خاک اطراف سیستم ریشه ای برداشته شد و پس از گذراندن آن از الک ۲میلیمتری، یک گرم از آن برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های فسفاتاز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیائی پس از اضافه کردن یک میلی لیتر محلول پارا نیترو فنیل فسفات سدیم به عنوان سوبسترا در حضور تامپون MUB (pH=11 برای فسفاتاز قلیائی و pH=6.5 برای فسفاتاز اسیدی) با استفاده از روش طبا طبائی و عیوضی اندازه گیری شد (۳). تجزیهٔ آماری داده ها بااستفاده از نرم افزار آماری SAS صورت گرفت.

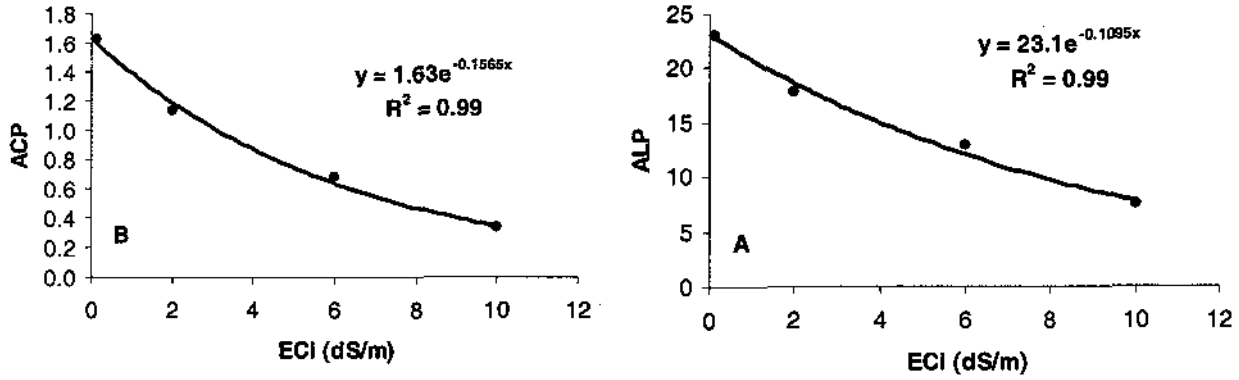
نتایج و بحث

نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیائی و اسیدی در ریزوسفر شبدر تلقیح شده با قارچ میکوریزا در مقایسه با گیاه بدون تلقیح با قارچ بطور معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) افزایش یافت (جدول ۱). افزایش سطح شوری خاک فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیائی ($p< ۰/۰۰۱$) و اسیدی ($p < ۰/۰۰۰۱$) را به طور معنی دار کاهش داد (جدول۱).

جدول (۱) اثر تلقیح قارچ میکوریزا و شوری خاک بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیائی بر حسب میکرو گرم (PNP) پارا نیتروفنول تولید شده در گرم خاک در یک ساعت

تیمار	سطح تیمار	فسفاتاز قلیائی	فسفاتاز اسیدی
میکوریزا	بدون میکوریزا	B ۱۱/۰۷	B ۰/۷۲
	با میکوریزا	A ۱۹/۵۰	A ۱/۱۶
	$LSD_{0.05}$	۴/۲۶	۰/۹
شوری	EC1	A۲۳/۰۴	A۱/۶۲
	EC2	AB۱۷/۶۹	B ۱/۱۳
	EC3	BC۱۲/۸۳	C ۰/۶۸
	EC4	C۷/۴۸	D ۰/۳۳
	$LSD_{0.05}$	۶/۰۳	۰/۲۷
α منبع تغییرات	میکوریزا	<۰/۰۵	<۰/۰۰۰۱
	شوری	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
	شوری * میکوریزا	>۰/۱	>۰/۱

به نظر می رسد که یکی از دلایل احتمالی کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در شوری های بالای خاک تغییر در نوع و ترکیب جمعیت میکروارگانیسم ها در ریزوسفر گیاه باشد. با این وجود، اثر همزمان افزایش شوری خاک و تلقیح ریشه گیاه با قارچ میکوریزا یا واکنش متقابل بین آنها بر فعالیت هر دو آنزیم قابل توجه نبود (جدول ۱). همچنین این مطالعه نشان می دهد که فعالیت آنزیم فسفاتاز های قلیائی و اسیدی به صورت تصاعدی (R^2 =۰/۹۹) با افزایش شوری خاک کاهش می یابد (شکل ۱). نتایج مشابهی توسط ساردین ها و همکاران (۲۰۰۳) و ریتز و هاینس (۲۰۰۳) گزارش شده است. این پژوهشگران نشان دادند که فعالیت اغلب آنزیم‌های خاک تحت تأثیر شوری‌های بالای خاک قرار می گیرد. اما پتاک و رآوو (۱۹۹۸) گزارش کردند که افزایش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم دی آمیناز می‌شود. به هر حال، شوری خاک یکی از تنش های محیطی مهم برای میکروارگانیسم های خاک و فعالیت آنها در مناطق خشک و نیمه خشک می باشد اگرچه پتاک و رآوو (۱۹۹۸) معتقد هستند که افزودن ماده آلی به خاک می تواند تا اندازه ای اثر افزایش شوری خاک را تعدیل کند.



شکل (۱) رابطه بین شوری خاک (دسی زیمنس بر متر) و فعالیت (میکرو گرم پارا نیتروفنول تولید شده در گرم خاک در یک ساعت) آنزیم‌های فسفاتاز قلیائی (A) و اسیدی (B) در ریزوسفر شبدر برسیم(ALPفسفاتاز قلیائی وACPفسفاتاز اسیدی)

منابع مورد استفاده

۱- حق پرست تنها، م. ر. ۱۳۶۹. آشنائی با بیوشیمی. چاپ اول. انتشارات هدایت رشت.

۲- ملکوتی، م. ج. و م. همایی، ۱۳۷۳. حاصلخیزی خاک‌های مناطق خشک، مشکلات و راه حل ها. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.

3. Alef, K. and P. Nannipieri. 1995. Methods in applied soil microbiology . Academic Press.

4. Anderson, G. 1975. Other organic phosphorus compounds. In: Soil components, J. E. Gieseking (Ed). 1: 333-341.

5. Bartlett, E M. and D. H. Lewis. 1973. Surface phosphatase activity of mycorrhizal roots of beech. Soil Biol. Biochem., 5: 249-257.

6. Eivazi, F. and M. A. Tabatabi. 1977. Phosphatases in soil. Soil Biol. Biochem. 9:167-172.

7. Hayman, D. S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Can. J. Bot., 61:944-963.

8. Tabatabai, M. A. 1982. Soil enzymes. In: Methods of Soil Analysis, Part2, ASA-SSSA. USA: 903-947.

9. Tarafdar, J. C. and H. Marschner. 1994. Efficiency of VAM hyphae in utilisation of organic phosphorus by wheat plants. Soil Sci. Plant Nutr., 40(4): 593-600.

10. Sardinha M, T. H. Müller, Schmeisky and R. G. Joergensen. 2003 Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. Applied Soil Ecology, 23: 237--244.

11. Pathak, H. and D. L. N. Rao. 1998. Carbon and nitrogen mineralization from added organic matter in saline and alkali soils. Soil Biology and Biochemistry, 30:695-702.

12. Rietz, D. N. and R. J. Haynes. 2003. Effects of irrigation-induced and sodicity on soil microbial activity. Soil Biology and Biochemistry, 35:845-854.