واکنش انتقال مجدد نیتروژن از ریشه به شاخساره در حال رشد یونجه به همزیستی مایکوریزایی در شرایط تنش شوری

امین نامداری[۱] و ابولفضل باغبانی[۲]
۱-عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات دیم–سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی- ایستگاه و پردیس تحقیقات کشاورزی گچساران و ۲- عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور

چکیده

به منظور بررسی تاثیر همزیستی مایکوریزایی بر ذخایر نیتروژن ریشه و انتقال مجدد این ذخایر به شاخساره یونجه بمی تحت شرایط تنش شوری، مطالعه‌ای گلخانه‌ای در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام پذیرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح از شوری شامل شاهد (۱/۴ دسی زیمنس بر متر)، ۷ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر، دو سطح از همزیستی مایکوریزایی شامل وجود یا عدم وجود قارچ مایکوریزا، می‌شدند. سه چین در مرحله ۱/۱۰ گلدهی انجام پذیرفت. تولید ماده خشک شاخساره همبستگی مثبت و معنی‌داری با میزان انتقال مجدد نیتروژن به شاخساره (۰/۹۲) نشان داد. انباشت نیتروژن در ریشه تحت تاثیر شوری کاهش یافت که این مساله با کاهش در قابلیت انتقال مجدد نیتروژن همراه بود. مقدار و درصد انتقال مجدد نیتروژن با افزایش مقدار شوری به طور قابل توجهی کاهش یافت اما میزان این کاهش در بوته‌های مایکوریزایی بطور معنی‌داری کمتر بود. میزان وابستگی تجمع نیتروژن در شاخساره در حال تجدید رشد گیاهان مایکوریزایی تحت تاثیر مقدار جذب/تثبیت بالاتر نیتروژن در مقایسه با گیاهان غیر مایکوریزایی، پایینتر بود. به طور خلاصه در پژوهش حاضر، همزیستی مایکوریزایی با کاهش محدودیت منبع در فرایند انتقال مجدد نیتروژن از ریشه به شاخساره همراه بود.

واژه‌های کلیدی: انتقال مجدد، شوری، مایکوریزا، نیتروژن، یونجه

مقدمه

شوری آب و خاک از جمله عمده‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی در گستره وسیعی از جهان میباشد به نحویکه حدود ۷٪ از خشکی‌های زمین تحت تاثیر شوری قرار دارند و این نسبت همچنان نیز رو به افزایش میباشد (Ruiz-Lozano et al., 2012). افزون بر این بدلیل استفاده از آب‌های شور جهت آبیاری محصولات کشاورزی، دامنه این مشکل گسترش نیز یافته است (Bothe, 2012). تنش اسمزی و سمیت یونی، دو جنبه اصلی آثار مخرب تنش شوری هستند که رشد و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار میدهند (Munns and Tester,2008). در میان گیاهان زراعی، یونجه به عنوان گیاهی نسبتا مقاوم به شوری در نظر گرفته شده است. در طی سال‌های گذشته پژوهش‌ها به خوبی روشن ساخته‌اند که انتقال مجدد ذخایر نیتروژن ریشه نقش کلیدی در تجدید رشد گیاهان علوفه ای چند ساله از جمله یونجه ایفا می‌کنند (Skinner et al., 1999). لگوم‌ها از جمله یونجه قادر به ایجاد همزیستی دوگانه با باکتری های ریزوبیوم و قارچ آربوسکولار مایکوریزا هستند و این همزیستی دوگانه در موضوع کشاورزی پایدار دارای اثرات مهم اکولوژیکی و زراعی است . افزون بر این گزارش-های متعددی از اثرات همزیستی مایکوریزایی در کاهش اثرات تنش‌های محیطی وجود دارد (Ruiz-Lozano et al., 2008, Miransari et al., 2008). یکی از اثرات مفید گزارش شده در رابطه با همزیستی مایکوریزایی، افزایش جذب عناصر غذایی از خاک است که از رشد هیف‌های قارچ در سطح و عمق گسترده‌تری از خاک ناشی می‌شود (Bothe, 2012). از آنجایی که مهمترین فاکتور موثر در قابلیت تجدید رشد یونجه، انتقال مجدد نیتروژن از ریشه به شاخساره گزارش شده است لذا احتمالا محدودیت عملکرد و تجدید رشد این گیاه در خاکهای شور نیز به سبب ایجاد محدودیت در قابلیت انتقال مجدد نیتروژن

میباشد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف امکان استفاده از همزیستی مایکوریزایی جهت کاهش این محدودیت و افزایش عملکرد یونجه تحت تنش شوری اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش اخیر در حد فاصل ۲۰ فروردین تا ۲۸ تیرماه ۱۳۹۴ درگلخانه مجتمع کشت ودام ارتش در میمه- اصفهان انجام پذیرفت. رقم نسبتا مقاوم به شوری یونجه بمی در معرض سه سطح از تنش شوری شامل ۱/۴ (شاهد)، ۷ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر از شوری اعمال شده توسط NaCl (برای حصول شوری مورد نظر بر حسب پی‌پی‌ام از رابطه ۶۴۰* EC بر حسب دسی‌زیمنس بر متر استفاده شد) و نیز تیمار تلقیح بذرها با قارچ آربوسولار مایکوریزا، قرار گرفت. مطالعه مذکور در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی در سه تکرار و در گلدان‌های پلاستیکی حاوی ۳/۵ کیلوگرم خاک مزرعه انجام پذیرفت. اعمال تیمار همزیستی مایکوریزایی از طریق تلقیح بذرها پیش از کاشت با مایه تلقیح مربوطه (برند مایکوروت) صورت گرفت. اعمال تیمارهای تنش شوری ۱۶ روز پس از کشت و در مراحل اولیه رویشی گیاهچه‌ها آغاز شد. برداشت بوته‌ها در سه چین انجام شد بدین ترتیب که چین اول حدودا ۲ ماه پس از کاشت و چین‌های بعدی با فاصله زمانی یک ماهه و در مرحله گلدهی اولیه ۱/۱۰ (زمانی که حدود ۱۰ درصد از بوته ها به طور تخمینی وارد فاز گلدهی شده باشند) انجام پذیرفتند. هر چین حاوی سه تکرار آزمایشی بود و میانگین داده‌های سه تکرار مربوط به هر چین به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور تعیین میزان انتقال مجدد نیتروژن از ریشه و طوقه به شاخساره، بوته‌های یک گلدان از هر واحد آزمایشی به طور کامل از خاک خارج شده و از ناحیه ۳ سانتی متر بالای طوقه به دو بخش ریشه و شاخساره تقسیم شدند و پس از ۴۸ ساعت خشک شدن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، غلظت نیتروژن موجود در ریشه‌ها با روش کجلدال اندازه‌گیری شد. در عین حال بوته‌های گلدان دیگر موجود در هر واحد آزمایشی بدون خروج از خاک تنها از ۳ سانتی-متر بالای طوقه برداشت شدند. پس از گذشت ۱۰ روز از از زمان هر چین بوته‌های موجود در این گلدان‌ها نیز از خاک خارج و غلظت نیتروژن ریشه آنها اندازه‌گیری شد. میزان انتقال مجدد نیتروژن به شاخساره از تفاضل محتوای نیتروژن ریشه در زمان چین از محتوای ان ۱۰ روز پس از چین حاصل می‌شود. محتوای نیتروژن ریشه حاصل‌ضرب غلظت نیتروژن در وزن خشک ریشه می‌باشد. مشارکت نیتروژن انتقال یافته از ریشه در تجمع نیتروژن در شاخساره پس از چین حاصل تقسیم مقدار نیتروژن انتقال یافته از ریشه بر نیتروژن تجمع یافته در شاخساره طی ۱۰ روز پس از برداشت می‌باشد. درصد انتقال مجدد نیتروژن حاصل تقسیم محتوای نیتروژن ریشه ۱۰ روز پس از برداشت (چین) *۱۰۰ محتوای نیتروژن ریشه در زمان برداشت می‌باشد.

نتایج و بحث

۱۰ روز پس از برداشت شاخساره محتوای نیتروژن محلول ریشه و طوقه در کلیه تیمارها کاهش یافت. در مطالعه اخیر میانگین نیتروژن تخصیص داده شده به انتقال مجدد حدود ۷۰ درصد بود که در تیمارهای مختلف شوری و مایکوریزا متفاوت بود. جدول ۱ خلاصه آنالیز واریانس متغیرهای مربوط به تولید ماده خشک و وضعیت نیتروژن بوته های یونجه را نشان می-دهد. همزیستی مایکوریزایی به طور معنی داری میزان تولید ماده خشک ریشه و شاخساره را تحت تاثیر قرار داد و گیاهان مایکوریزایی وزن خشک ریشه و شاخساره بالاتری داشتند (شکل ۱). محتوای نیتروژن ریشه در زمان چین، میزان و درصد انتقال مجدد نیتروژن با افزایش شدت تنش شوری کاهش پیدا کردند. تلقیح مایکوریزایی با افزایش محتوای نیتروژن ریشه (شکل ۳)، مقدار (جدول ۲) و درصد انتقال مجدد نیتروژن (شکل۴) به شاخساره همراه بود. در عین حال میزان کسب نیتروژن شاخساره از مسیر انتقال مجدد از ریشه (مشارکت انتقال مجدد در تجمع نیتروژن در شاخساره) در گیاهان غیر مایکوریزایی بالاتر از گیاهان مایکوریزایی بود (جدول ۲). مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که قابلیت تجدید رشد یونجه به بهره‌برداری از ذخایر ریشه وابسته است (Meuriot et al., 2005). در واقع پس از هر چین، ریشه‌ها به عنوان منبع و شاخساره در حال رشد به عنوان مخزن ترکیبات ذخیره‌ای عمل می‌کنند. بیش از ۵۰٪ از نیتروژن موجود در ریشه و طوقه یونجه جهت تامین نیاز

شاخساره در حال رشد به این اندام انتقال می‌یابد (Erice et al., 2011). نیتروژن مورد نیاز جهت تجدید رشد شاخساره یونجه از دو منبع تامین می‌شود، ۱- نیتروژنی که در همان زمان از خاک جذب می‌شود و ۲- انتقال مجدد ذخایر نیتروژن ریشه. در آزمایش اخیر، هرچند با افزایش تنش شوری میزان انتقال مجدد نیتروژن به شاخساره کاهش یافت اما همزیستی مایکوریزایی میزان این کاهش را به مقدار قابل توجهی کاهش داد. کلونیزاسیون مایکوریزایی میزان آسیب‌های ساختاری وارد شده به گیاه تحت تاثیر شوری را کاهش می‌دهد (Evellin et al., 2009). همزیستی مایکوریزایی با تغییر و بهبود روابط آبی گیاه میزبان (Barzana et al., 2012)، کنترل جذب یون‌های سمی سدیم و کلر و افزایش جذب مواد غذایی، به افزایش مقاومت میزبان به تنش شوری کمک می‌کند (Bothe, 2012). در همین زمینه Giri et al (2007) بیان داشتند که مقاومت بهتر بوته‌های *Acacia nilotica* مایکوریزایی به تنش شوری تا حد زیادی به افزایش نسبت K/Na در ریشه و شاخساره این گیاهان مربوط می‌شود. همزیستی مایکوریزایی می‌تواند با اثرگذاری بر میزان تجمع نیتروژن ریشه و افزایش قدرت منبع (محتوای نیتروژن ریشه) و هم /یا با اثرگذاری بر قدرت مخزن (شاخساره) به افزایش میزان انتقال مجدد از ریشه به شاخساره بیانجامد. در مطالعه حاضر، بین محتوای نیتروژن ریشه در زمان برداشت و میزان انتقال مجدد نیتروژن همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (r= ۰/۹۳). تلقیح مایکوریزایی با افزایش وزن خشک ریشه (شکل۱) و غلظت نیتروژن (شکل ۳) موجود در ریشه به افزایش محتوای نیتروژن ریشه در زمان برداشت و متعاقبا افزایش میزان انتقال مجدد به شاخساره انجامید. مشارکت انتقال مجدد نیتروژن در تجدید رشد شاخساره گیاهان غیرمایکوریزایی بیشتر از گیاهان مایکوریزایی بود (جدول ۲). به نظر می‌رسد که محدودیت بیشتر در قابلیت جذب/تثبیت بیولوژیکی نیتروژن تحت تنش شوری در این گیاهان نسبت به بوته های مایکوریزایی موجب وابستگی بیشتر رشد شاخساره به انتقال مجدد نیتروژن گردیده باشد. میزان جذب و تثبیت نیتروژن توسط ریشه یونجه به میزان چشمگیری تحت تاثیر تنش شوری کاهش می‌یابد و این موضوع به نوبه خود با کاهش در مقدار و درصد انتقال مجدد نیتروژن به شاخساره نیز همراه است (Mohammdai et al., 2008).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس متغیرهای مربوط به ماده خشک و وضعیت نیتروژن بوته

	RDW[a]	SDW b	RSN c	RNC 10[d]	Nrem e	PNrem f	SNC10 g	SN rfrem[h]	SNC i
شوری	**	**	**	*	**	**	**	**	**
تلقیح مایکوریزایی	**	**	**	**	**	**	**	*	**
شوری * تلقیح مایکوریزایی	ns	ns	ns	**	**	ns	**	*	**

RDW: وزن خشک ریشه

SDW: وزن خشک شاخساره

RSN: محتوای نیتروژن محلول ریشه در زمان برداشت

RNC10: محتوای نیتروژن محلول ریشه ۱۰ روز پس از برداشت

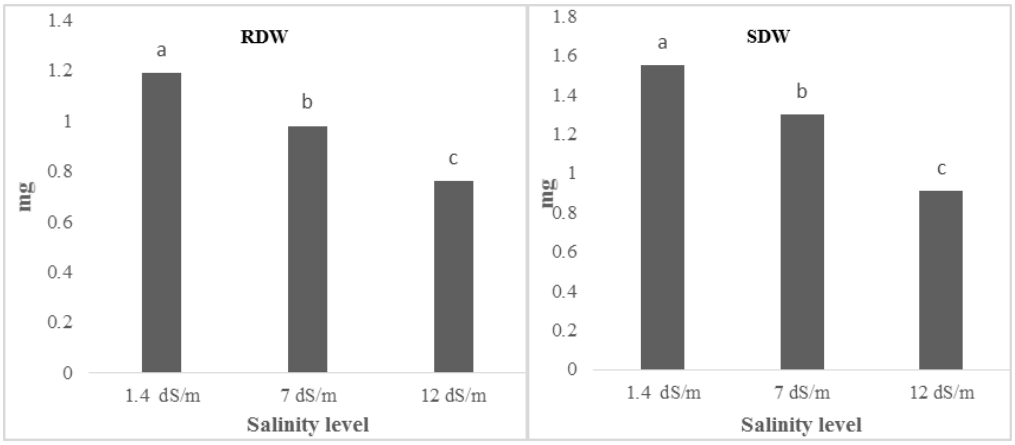
Nrem: مقدار انتقال مجدد نیتروژن

PNrem: درصد انتقال مجدد نیتروژن

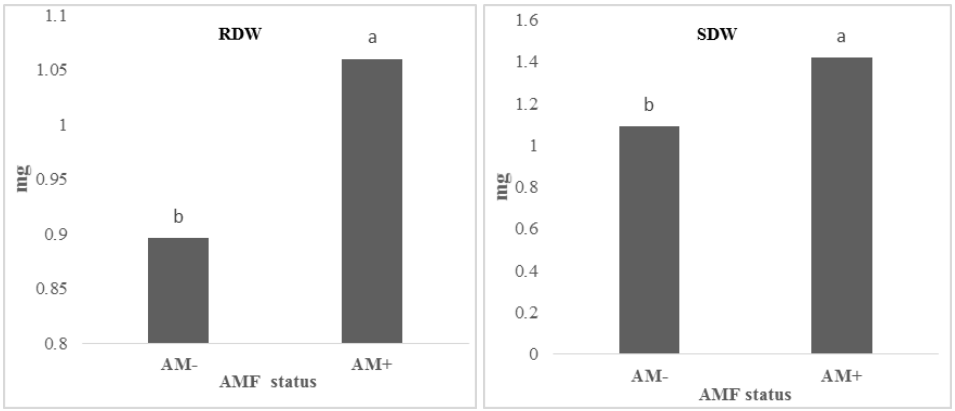
SNC10: محتوای نیتروژن شاخساره ۱۰ روز پس از برداشت

SNrfrem: نیتروژن شاخساره کسب شده از انتقال مجدد

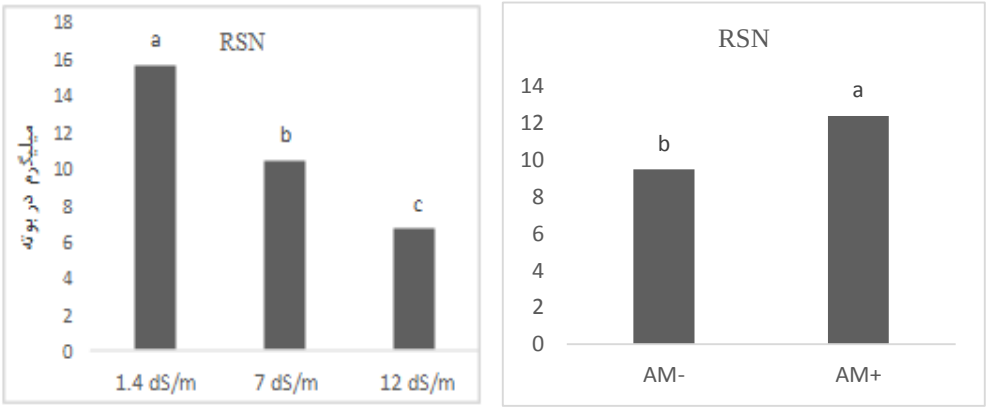
SNC: غلظت نیتروژن شاخساره در زمان برداشت



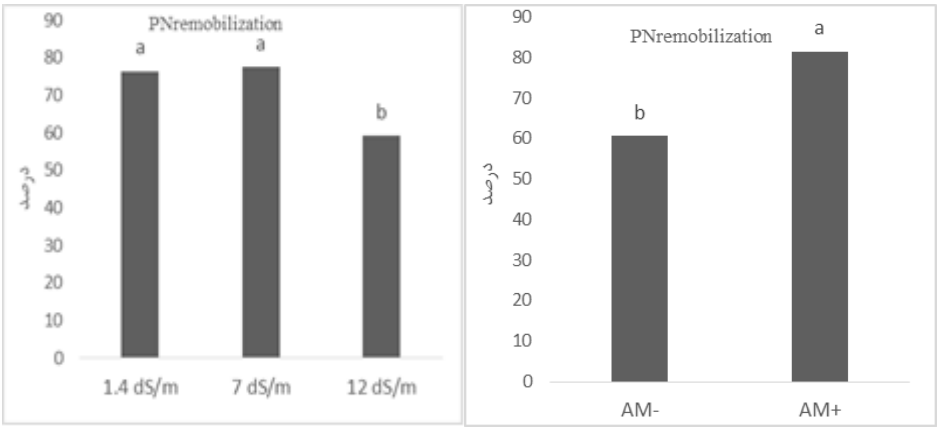
شکل ۱. اثر سطوح شوری بر وزن خشک ریشه (الف) و شاخساره (ب) در زمان برداشت. ستون ها میانگین سه برداشت(چین) متوالی هستند (هر برداشت شامل سه تکرار بود). حروف مشابه نشاندهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین ستونها در سطح احتمال ۵٪ میباشند.



شکل ۲. اثر همزیستی مایکوریزایی بر وزن خشک ریشه (الف) و شاخساره (ب) در زمان برداشت. ستون ها میانگین سه برداشت(چین) متوالی هستند (هر برداشت شامل سه تکرار بود). حروف مشابه نشاندهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین ستونها در سطح احتمال ۵٪ میباشند



شکل ۳. اثر سطوح شوری بر محتوای نیتروژن محلول ریشه در زمان برداشت. ستون ها میانگین سه برداشت(چین) متوالی هستند (هر برداشت شامل سه تکرار بود). حروف مشابه نشاندهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین ستونها در سطح احتمال ۵٪ میباشند.



شکل ۴. اثر سطوح شوری بر نسبت انتقال مجدد ذخایر نیتروژن محلول ریشه به شاخساره طی ۱۰ روز پس از برداشت شاخساره. ستون ها میانگین سه برداشت(چین) متوالی هستند (هر برداشت شامل سه تکرار بود). حروف مشابه نشاندهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین ستونها در سطح احتمال ۵٪ میباشند.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات متقابل مایکوریزا و شوری در رابطه با متغیرهای مرتبط با وضعیت نیتروژن بوته

همزیستی مایکوریزایی	سطح شوری (dSm^{-1})	محتوای نیتروژن ریشه ۱۰ روز پس از برداشت	درصد تغییرات	مقدار انتقال مجدد نیتروژن (mg $Plant^{-1}$)	درصد تغییرات	محتوای نیتروژن شاخساره ۱۰ روز پس از برداشت =N (mg $Plant^{1}$)	درصد تغییرات	نیتروژن شاخساره کسب شده از انتقال مجدد(%)	درصد تغییرات	غلظت نیتروژن شاخساره در زمان برداشت (mg g DW^{-1})	درصد تغییرات
	۱/٤	۵/۵۱a		۹/۱٤c		۱۵/۱۹d		٦۱/۳c		۲٦/۹۳b	
AM-	۷	۲/۹۴b	-٤۷	۵/۹d	-۳۵	۷/۰۴c	-۵٤	۸۴/۲b	۳۷	۱۹/۴d	-۲۸
	۱۲	۲/۳۲b	-۵۸	۲/۶۴e	-۷۳	۲/۸۱d	-۸۱	۸۸ab	٤٤	۱۲/۲e	-۵٤
	۱/٤	۱/۶۹b		۱٤/۸۹a		۲۸/٤٦a		۵۲/۳d		۳۱/۰۸a	
AM+	۷	۱/۵۲b	-۱۰	۱۰/۵۴b	-۲۹	۱۶/۵۹b	-٤۱	۶۳/۷c	۲۲	۲۱/٤c	-۲۱
	۱۲	۲/۸۸b	۷۰	۵/۷۵d	-٦۱	٦/۲٤c	-۷۸	۹۲a	۷٦	۱۷/٤۲	-٤٤

منابع

Barzana G., Aroca R., Paz J.A., Chaumont F., Martinez M.C., Carvajal M., Ruiz-Lozano J.M. 2012.Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions. Annals of Botany, 109:1009–1017

Bothe H. 2012. Arbuscular mycorrhiza and salt tolerance of plants. Symbiosis, 58:7-16

Erice G., Sanz-Sáez A., Aranjuelo I., Irigoyen J.J., Aguirreolea J., Avice J.C., Sánchez-Díaz M. 2011. Photosynthesis, N2 fixation and taproot reserves during the cutting regrowth cycle of alfalfa under elevated CO2 and temperature. Journal of Plant Physiology, 168: 2007–2014

Evelin H., Kapoor R., Giri B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. Annals of Botany, 104:1263–1280

Giri B., Kapoor R., Mukerji K. G. 2007. Improved Tolerance of *Acacia nilotica* to Salt Stress by Arbuscular Mycorrhiza, Glomus fasciculatum may be Partly Related to Elevated K/Na Ratios in Root and Shoot Tissues. Microbial Ecology, 54: 753-760

Meuriot F., Decau M.L., Marvan-Bertrand A., Prud Homme M.P., et al. 2005. Contribution of initial C and N reserves in *Medicago sativa* recovering from defoliation: impact of cutting height and residual leaf area. Functional Plant Biology, 32:321-334

Mohammadi H., Ppoustini K., Ahmadi A. 2008. Root Nitrogen Remobilization and Ion Status of Two Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Cultivars in Response to Salinity Stress. Journal of Agronomy and Crop Science, 194: 126-134

Munns R., Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Reviews in Plant Biology, 59:651-681

Ruiz-Lozano J.M., Porcel R., Aroca R. 2008. Evaluation of the possible participation of drought-induced genes in the enhanced tolerance of arbuscular mycorrhizal plants to water deficit. In: Varma A, editor. Mycorrhiza: state of the art, genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics, 3rd ed. Germany: Springer-Verlag, p.185–205

Ruiz-Lozano J.M., Porcel R., Azcón R., Aroca R. 2012. Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. Journal of Experimental Botany, 63:4033–4044

The response of nitrogen remobilization in alfalfa (*Medicago sativa*) to mycorrhizal symbiosis under saline conditions

A. Namdari and A. Baghbani
1-Institute of dry-land researches- Gachsaran station, and 2- Payam-e-Noor University

Abstract

In current study, the influence of Arbuscular Mycorrhizal fungus (AMF) on salt tolerance in terms of root's nitrogen reserves formation and remobilization and their relationship with regrowth of alfalfa (*Medicago sativa*) plants were investigated. In a pot experiment, a factorial experiment in base of randomized complete blocks design in three replications was carried out. alfalfa plants (Iranian cultivar-Bami) inoculated with AMF (*Glomus mosseae)* or maintained as un-inoculated, were grown in soil and irrigated with three salt concentrations (1.4, 7 and 12 dS m^{-1}). Three harvests were carried out at 10% of flowering stage. Shoot biomass production following harvest exhibited a close correlation with nitrogen (N) remobilization from root (r = 0.92). However salinity stress reduced amount and percent of N remobilization to re-growing shoot but AMF positively affected utilization of root N pools for remobilization. AMF inoculation increased root soluble N content at harvest time and consequently raised N remobilization and re-growth ability of AM plants. Generally, in this study AMF inoculation reduced source (root reserves) limitation regarding N remobilization to re-growing shoot.

Keywords: Alfalfa, Mycorrhiza, Nitrogen, Remobilization Salinity.