تأثیر قارچ میکوریز آربوسکولار و کمبود عناصر ریزمغذی بر تولید ترکیبات کی‌لیت کننده از ریشه سورگوم

ابراهیم شیرمحمدی [*۱]، ناصرعلی اصغرزاد [۲]، شاهین اوستان [۳]، نصرت‌اله نجفی [۳]

[۱]کارشناس ارشد رشته بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز [۲]دانشیار و [۳]استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مقدمه

یکی از واکنشهایی که گیاهان و ریزجانداران در شرایط کمبود عناصر ریز مغذی مخصوصاً آهن از خود نشان می‌دهند، ترشح برخی کی‌لیت‌کننده‌ها (فیتوسیدروفور و سیدروفور) است که می‌توانند با این عناصر تشکیل کمپلکس دهند و با این سازوکار عناصر ریزمغذی مورد نیاز خود را جذب نمایند[۱]. چنین به نظر می‌رسد، هرچه میزان کمبود عناصر ریزمغذی بیشتر باشد گیاهان و میکروبها بیشتر به ترشح فیتوسیدروفور و سیدروفور تحریک خواهند شد. گزارشهایی وجود دارد که همزیستی میکوریزی باعث افزایش آهن، روی و مس در گیاهان شده است[۲] و فرضیه‌های متفاوتی برای افزایش جذب این عناصر ارائه شده که یکی از آنها افزایش ترشح ترکیبات کی‌لیت کننده می‌باشد ولی سازوکارهای دقیق این فرآیندها مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین برای درک بیشتر و سنجش دقیق پتانسیل همزیستی میکوریزی درجذب عناصر ریزمغذی بررسی سازوکارهای سیدروفوری و فیتوسیدروفوری از هیفهای قارچ و ریشه گیاهان حائز اهمیت می‌باشد.

مواد و روشها

آزمایش به صورت فاکتوریل (دوفاکتور) و در قالب طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار در بستر کشت پرلیت انجام شد. فاکتور اول شامل قارچ میکوریز با گونه‌های *گلوموس اتونیکاتوم*[۱]، *گلوموس اینترارادیسز*[۲] و شاهد، فاکتور دوم شامل محلول غذایی راریسون با غلظتهای کامل، نصف وصفر از عناصر ریزمغذی آهن، روی، مس و منگنز و در سه تکرار مجموعاً ۲۷ واحد آزمایشی را تشکیل دادند. برای اندازه‌گیری ترکیبات کی‌لیت کننده از روش تعدیل شده محلول سنجشگر کرم آزورول اس[۳] استفاده شد. تجزیه آماری با نرم افزار **MSTATC** صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند.

- تهیه محلول CAS

ابتدا ۲/۸ گرم دترجنت HDTMA[۴] در یک بالن یک لیتری ریخته شد و با آب مقطر به حجم حدود ۷۰۰ میلی‌لیتر رسید، سپس ۳۰ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهنIII (۰/۰۲۷ گرم $FeCl_3.6H_2O$ در ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۱مولار HCl) به آن اضافه شد. سپس به آرامی ضمن به هم زدن ۱۵۰ میلی لیتر از محلول کرم آزورول اس (۰/۱۲۱۱ گرم پودر کرم آزورول اس در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) به این محلول اضافه گردید. در این حالت رنگ محلول بنفش شد. سپس pH محلول با HCl یا NaOH ۰/۱ مولار در ۵/۶ تنظیم گردید. رنگ محلول در این حالت سبز تیره شد(با اصلاحاتی در روش شواین و نیلندز [۳]).

- جمع‌آوری آبشویه گلدانها

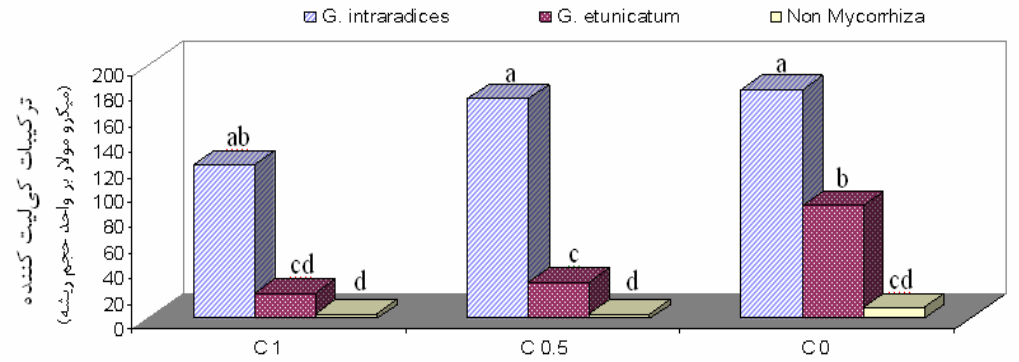
از آنجایی که فیتوسیدروفور و سیدروفور به همراه سایر ترشحات ریشه‌ای و میکروبی به محیط ریزوسفر آزاد می‌شود، برای جمع‌آوری ترشحات ریشه‌ای ابتدا گلدان‌ها با دو حجم منفذی[۵] از آب مقطر (۲/۵ لیتر) طی سه مرحله شستشو داده شدند تا تمام محلول غذایی از گلدانها خارج شود و آب مقطر در تماس با ریشه گیاهان قرار گیرد. بعد از سه ساعت مجدداً این بسترها با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر از آب مقطر شستشو داده شدند و محلول‌های خروجی در ظروف پلاستیکی یک بار مصرف اسید شویی شده جمع‌آوری گردیدند.

- اندازه‌گیری کمی ترکیبات کی‌لیت کننده

پنج میلی‌لیتر از محلول معرف کرم آزورول اس به داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس یک میلی لیتر از آبشویه جمع‌آوری شده به داخل آنها افزوده گردید. پس از گذشت یک ساعت میزان جذب در طول موج ۶۹۸ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از آنجایی که ترکیبات کی‌لیت کننده تولید شده توسط گیاه و میکروب مرکب بوده و ساختار شیمیایی و نسبت کمپکس شدن (استوکیومتری) آنها با آهن نا مشخص است. لذا غلظت ترکیبات کی‌لیت کننده با استفاده از نمودار استاندارد (تغییر رنگ محلول کرم آزورول اس در حضور غلظتهای مختلف DTPA)، بر حسب معادل DTPA در نظر گرفته شد (با اصلاحاتی در روش شواین و نیلندز [۳]).

نتایج و بحث

بطور کلی می‌توان گفت در تیمارهای همزیست با قارچهای میکوریز مخصوصاً قارچ *گلوموس اینترارادیسز* میزان تولید ترکیبات کی‌لیت کننده خیلی بیشتر از تیمارهای شاهد می‌باشد. در تیمار قارچی *گلوموس اتونیکاتوم*، محلول غذایی فاقد عناصر ریزمغذی نسبت به دو سطح دیگر محلول غذایی تولید ترکیبات کی‌لیت کننده را افزایش داد ولی در تیمار قارچی *گلوموس اینترارادیسز* و شاهد، استفاده از سطوح مختلف محلول غذایی تفاوت معنی‌داری در میزان ترشح این ترکیبات ایجاد نکرد (شکل۱).



شکل۱: اثر برهمکنش قارچ و محلول غذایی بر میزان تولید ترکیبات کی‌لیت کننده به ازای واحد حجم ریشه گیاه سورگوم (C_1، $C_{0.5}$ و C_0 به ترتیب شامل محلول‌های غذایی ژاریسون با غلظتهای کامل، نصف و صفر عناصر Cu، Mn، Zn و Fe، می‌باشد)

با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمایش، چنین به نظر می‌رسد غالب جذب عناصر ریزمغذی در گیاهان همزیست با قارچ میکوریز مخصوصاً گونه *گلوموس اینترارادیسز* از طریق سازوکار ترشح ترکیبات کی‌لیت کننده باشد و سایر سازوکارها نقش کمتری داشته باشند و همچنین کمبود عناصر ریزمغذی تنها در گونه *گلوموس اتونیکاتوم* سبب افزایش ترشح این ترکیبات می‌شود. بروز چنین رفتارهای متفاوت در ترشح ترکیبات کی‌لیت کننده بین گونه‌های قارچ میکوریز، احتمالاً ریشه در ماهیت ژنتیکی این همزیستی دارد.

منابع

Gouget. 2006. Anion exchange liquid chromatography inductively Collins, J.L. Morel and B. [1] Bakkaus, E., R.N. coupled plasma- mass spectrometry of the Co^2, Cu^2, Fe^{3+} and Ni^{2+} complexes of mugineic and deoxymugineic acid. Journal of Chromatography A. 1129: 208 -215.

, C. Hamel, R.I. Hamilton, B.L. Ma and D.L. Smith. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by .[2] Liu, A mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) growing in soil at different P and micronutrient levels. Mycorrhiza. 9: 331-336.

[3] Schwyn, B. and J.B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry. 160: 47- 56.

[1] G. etunicatum

[2] ***G. intraradices***

[3] Chrome Azurol S assay solution

[4] **Hexadecyltrimethylammonium**

[5] **Pore volume**