استفاده از تکنیک تبعیض کربن ایزوتوپ در ارزیابی تاثیرمیکوریز در رقابت زیر زمینی ذرت و لوبیا و مقادیر فسفر، پتاسیم و نسبت C:N درکشت مخلوط تحت تنش خشکی

محمد رضا عامریان

استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود

Amerianuk@Yahoo.co.uk

چکیده

قارچ های میکوریز آرباسکولار با گیاهان میزبان همزیست شده و با افزایش جذب عناصر رشد آنها را افزایش میدهد. در یک آزمایش گلخانه ای ذرت و لوبیا با دو گونه از جنس گلوموس *(Glomus)* تلقیح شدند پس از سه ماه تنش خشکی اعمال شد. نسبت کربن به نیتروزن در ریشه های گیاهان میکوریزی خصوصا در *G. mosseae* بطور معنی دلری ($P<0.05$) نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بود. مقدار پتاسیم و فسفر در ساقه گیاهان میکوریزی با شاهد اختلاف معنی دار نشان داد ولی دو گیاه ذرت و لوبیا عکس العمل متفاوت داشتند.تبعیض کربن ایزوتوپ در ریشه گیاهان میکوریی کاهش یافت.

کلمات کلیدی: **تنش خشکی، کربن ایزوتوپ ، کشت مخلوط، ، میکوریز آرباسکولار**

مقدمه

قارچ های میکوریز آرباسکولار (AM) در تمام اکوسیستم های خشکی حضور دارند و با اکثر گیاهان آوندی تشکیل همزیستی می دهند. همزیستی با این قارچ ها اثرات قابل توجهی بر روی جذب عناصر غذایی، رشد و بقاء گیاهان میزبان خصوصا تحت تنش های مختلف محیطی دارد قارچ های میکوریزی جزء مهمی از فلور قارچی خاک را که رابطه همزیستی اجباری با ریشه بسیاری از گیاهان زراعی دارند را تشکیل می دهند (Giovanetti 1980 &.Mosse, 1980) و(Kosuta *et al.* 2003).عکس العمل گیاه میزبان به میکوریز وابستگی زیادی به وضعیت عناصر موجود درخاک دارد (Marschner & Dell, 1994) . تاثیر کمکی میکوریز هنگامی نمود پیدا میکند که عناصر غذایی خاک محدود باشد که از مهمترین آنها میزان فسفر است(Fitter 1991). عامریان وهمکاران (Amerian *et al.* 2001) گزارش کردند که همزیستی مایکوریزایی در شرایط تنش خشکی میتواند نقطه پژمردگی را به تاخیر بیندازد و تاثیرات مثبت فراوانی بر روابط آبی وارتقا کارایی مصرف آب دارد. قارچ های میکوریز با داشتن شبکه هیفی گسترده و افزایش سطح جذب ریشه،کارایی گیاهان در جذب آب و عناصر غذایی را بهبود می بخشند (Giovanetti &.Mosse, 1980).با عنایت به سیستم فتوسنتزی گیاهان سه کربنه نسبت به گیاهان چهار کربنه در سیستم کشت مخلوط میکوریز نقش یک پل ارتباطی را بین دو گیاه ایفا می کند که هدف عمده این تحقیق تعیین نقش میکوریز در رقابت زیرزمینی این گیاهان است.

مواد و روشها

آزمایشی با طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط کاملا کنترل شده (25 / 20°C شب / روز ،15 ساعت روشنایی 140 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) با سه تیمار تلقیح میکوریزی (بدون تلقیح، تلقیح با قارچ *Glomus mosseae* و تلقیح با *G. intraradices*) و تیمار الگوی کشت (کشت خالص و کشت مخلوط) انجام شد. بذرهای گیاهان

میزبان ذرت (*Zea mays* L) و لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) ابتدا بوسیله محلول رقیق (30%) سفید کننده خانگی استریل سطحی شدند و سپس برای مدت دو هفته در سینی های استریل شده در مجاورت لایه ای از دو گونه اسپورهای خالص یاد شده قرار گرفتند پس از اطمینان از کلونیزاسیون قارچی، گیاهچه های جوان در گلدانهای پلاستیکی به قطر 15 سانتیمتر حاوی خاک شنی لومی استریل بر اساس تیمار الگوی کشت گلدانی قرار گرفتند و برای مدت سه ماه در شرایط کنترل شده رشد یافتند. جهت آبیاری از محلول هوگلند اصلاح شده (1/2 فسفر) و آب مقطر استفاده شد پس از 96 روز جهت اعمال تنش، آبیاری برای شش روز قطع شد تا زمانیکه گیاهان به نقطه پژمردگی رسیدند. و نمونه برداری جهت آنالیز صفات مورد بررسی صورت گرفت. کربن و نیتروزن نمونه ها بوسیله دستگاه اتوماتیک تجزیه کننده کربن ونیتروژن Automatic Nitrogen Carbon Analysis (ANCA) و غلظت پتاسیم و فسفر بوسیله دستگاه اسپکترومتری ICP-OES) Unicam 701) اندازه گیری شد. مخلوط ریشه های گیاهان ذرت و لوبیا که امکان جداسازی آنها نبود با توجه به مسیر فتوسنتزی جداگانه (چهارکربنه و سه کربنه) و میزان متفاوت تبعیض در مقابل کربن ایزوتوپ (^{13}C and ^{12}C) و پس از طی مراحل آماده سازی و آسیاب شدن 1/5 میلی گرم از نمونه آسیاب شده تجزیه کربن ایزوتوپ ($\delta^{13}C$) نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکترومتری جرم صورت گرفت. جهت ساده کردن تفسیر تاثیرات کربن ایزوتوپ، نماد مثبتی از تبعیض کربن ایزوتوپ توسط فرمول زیر محاسبه شد (Farquhar *et al*., 1989; Griffiths, 1991).

$$\Delta = (\delta_a - \delta_p) / (1 + \delta_p) \qquad [1]$$

که در آن Δ تبعیض کربن ایزوتوپ، δ_a ترکیب ایزوتوپ منبع هوا (δ_a = -0.008) و δ_p مربوط به نمونه گیاهی میباشند.

نتایج و بحث

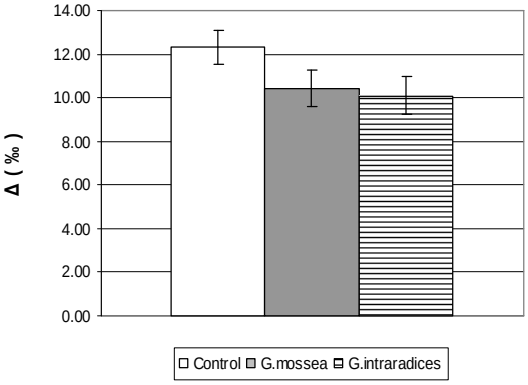
از آنجا ییکه جدا کردن ریشه های لوبیا و ذرت (C_3+C_4) در کشت مخلوط امکان پذیر نبود در این آزمایش از تکنیک کربن ایزوتوپ برای تجزیه استفاده شد. همانگونه که در جدول 1 مشاهده می شود نسبت کربن به نیتروژن در ریشه گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیر میکوریزی بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار برای نسبت C:N معنی دار ($P<0.05$) بود. تست دانکن برای غلظت کربن و نیتروژن ریشه بین گیاهان میکوریزی و غیر میکوریزی اختلاف معنی داری نشان نداد اما نسبت کربن به نیتروژن C:N در ریشه گیاهان تلقیح شده با ***G. mosseae*** بطور معنی داری بیشتر بود اگر چه بین دوگونه مختلف میکوریزی تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

جدول 1- مقادیرمیانگین (±خطای استاندارد) کربن،نیتروزن (mg g^{-1} D.W) ونسبت کربن به نیتروژن در ریشه ذرت و لوبیا در کشت مخلوط.حروف لاتین متفاوت در هر ستون مقایسه میانگین ها بوسیله تست دانکن است.

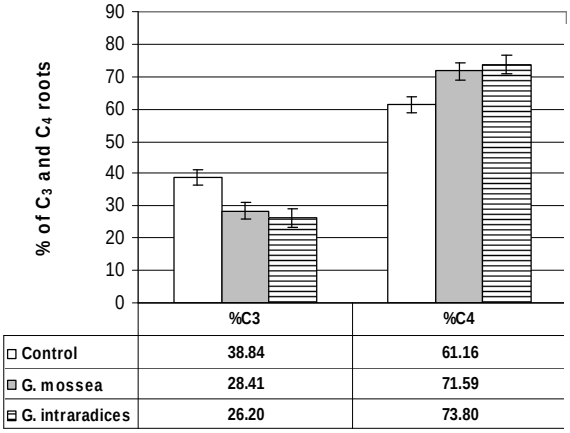
تیمار	ریشه ذرت و لوبیا		
	C	N	C/N
شاهد کشت مخلوط	286.0 a ±4.3	13.4 a ±0.3	21.42 a ±0.25
+ *G. Mosseae*	256.2 a ±34.0	10.3 a ±1.6	25.02 bc ±1.0
+ *G. Intraradices*	275.3 a ±31.0	11.8 a ±1.3	23.25 ab ±0.49

جهت یافتن نسبت ریشه های ذرت به عنوان یک گیاه چهار کربنه (C_4) و لوبیا به عنوان یک گیاه سه کربنه (C_3) در کشت مخلوط، تبعیض کربن ایزوتوپ (Δ) در ریشه های تیمارهای آزمایش اندازه گیری شد. Δ اندازه گیری شده در سیستم تک کشتی لوبیا و ذرت مقادیر تیپیک قابل انتظار نشان داد بطوریکه Δ برای ریشه لوبیا (21.83‰) و برای ذرت .(6.0‰) بود. شکل 1 کاهش تبعیض کربن ایزوتوپ در اثر تلقیح با میکوریز را نشان میدهد اگر چه بین دو گونه میکوریزی اختلاف معنی دار مشاهده نشد.

شکل2 ارتباط نسبت ریشه های ذرت و لوبیا در کشت مخلوط رادر اثر تلقیح دو گونه قارچ بعد از شش روز تنش خشکی نشان میدهد. کلونیزاسیون قارچی نسبت ریشه های لوبیا را کاهش ولی نسبت ریشه های ذرت را در کشت مخلوط افزایش میدهد.



شکل 1 – تبعض کربن ایزوتوپ (Δ)در مخلوطی از ریشه ذرت و لوبیا

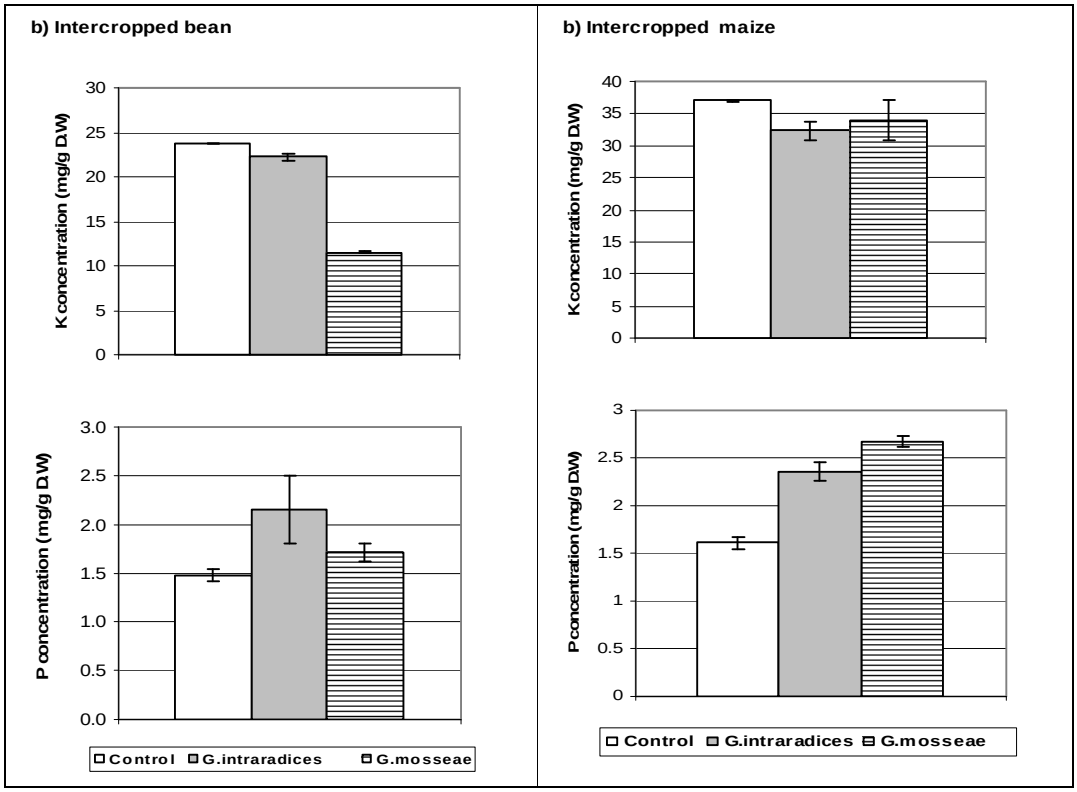


شکل2- درصد نسبی ریشه لوبیا و ذرت در کشت مخلوط

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمار میکوریز بر غلظت پتاسیم در ساقه لوبیا تاثیر معنی داری ($P<0.01$) داشت ولی در غلظت فسفر معنی دار نشد .اگرچه بیشترین غلظت فسفر در گیاهان تلقیح شده با *G. intraradices* مشاهده شد ولی تست دانکن اختلاف معنی داری بین لوبیای میکوریزی و غیر میکوریزی نشان نداد..همچنین مقایسه میانگین در لوبیا نشان داد غلظت پتاسیم در گیاهان تلقیح شده با *G. intraradices*

وگیاهان شاهد بطور معنی داری ($P<0.05$) بیشتر از گیاهان تلقیح شده با *G. mosseae* بود(شکل3 چپ). در ذرت نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار بر غلظت فسفر معنی دار ($P<0.05$) شد ولی در غلظت پتاسیم معنی دار نشد، بیشترین غلظت فسفر در گیاهان تلقیح شده با *G. mosseae* مشاهده شد تست دانکن نشان داد غلظت فسفردر گیاهان میکوریزی بطور معنی داری ($P<0.05$) بیشتر لز گیاهان شاهد بود اگر چه اختلاف معنی داری بین گونه های مختلف قارچ مشاهده نشد(شکل 3راست).

مطالعات زیادی همگام با نتایج بدست آمده در این تحقیق در خصوص افزایش جذب فسفر در گیاهان میکوریزی گزارش شده است ولی اختصاصا در خصوص افزایش جذب فسفر با توجه به کلونیزاسیون قارچی بوسیله دو گونه *G. intraradices* *G. fasciculatum* در ذرت تحت تنش در تایید این نتایج میباشد Subramanian & Charest (1997) and Sylvia *et al.*(1993).به علت محدودیت متن ادامه بحث در هنگام ارائه مطرح خواهد شد.



شکل3- مقایسه مقادیرغلظت پتاسیم و فسفر در کشت مخلوط ساقه لوبیا(چپ}وساقه ذرت (راست) بدون تلقیح میکوریزی و تلقیح شده با دو گونه قارچ میکوریزیی تحت تنش خشکی

منابع

کوچکی، ع. س،نجیب نیا .1387 . نقش تنوع در کشاورزی پایدار،انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

Amerian, M.R., Stewart, W.S., Griffiths, H., 2001. Effect of two species of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, assimilation and leaf water relations in maize (Zea mays). Asp. Appl. Biol. 63, 73–76.

Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R. & Hubick, K. T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology 40, 503-537.

Fitter , A. H. 1991. Costs and benefits of mycorrhizas: implications for functioning under natural conditions. Experimenta. 47, 350-355.

Giovanetti,M.,B.Mosse,1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular–arbuscular micorrhizal infections in roots. New Phytol. 84, 489–500

Griffiths, H. 1991. Application of stable isotope technology in physiological ecology. Functional Ecology 5, 254-261.

Kosuta S., M.Chabaud, G. Lougnon, C.Gough, J. Denarie, D. Barker, G.Bacard, 2003 .A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbioss-specific mtENOD11 expression in roots of Medicago truncatula. Plant Physiology. 131, 952-962.

Marschner,H. & Dell, B.1994.Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil 159: 89-102

Subramanian,K. S. & Charest, C.1997. Nutritional growth,and reproductive response of maize (Zea mays L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at taseling. Mycorrhizae 7, 25-32.