تأثیر تلقیح گیاه برنج با دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار بر رشد، جذب فسفر و پتاسیم و تغییر pH ریزوسفر

رقیه حاجی بلند،[1]* ناصر علی اصغر زاده و ربابه برزگر

دانشیار گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز؛ Ehsan@tabrizu.ac.ir

دانشیارگروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز؛ N.Aliasgharzad@tabrizu.ac.ir

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

چکیده

همزیستی بین قارچ های میکوریزی و گونه های زراعی، بدلیل تأثیر روی رشد و جذب عناصر در گیاهان اهمیت زیادی دارد. بررسی های بسیار محدودی بر روی نقش این همزیستی در گیاهان غرقابی به ویژه برنج انجام شده است. در آزمایش اول این پژوهش، اثر تلقیح با دو گونه قارچ میکوریزا شامل *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* بر روی رشد و جذب فسفر و پتاسیم در دو رقم از گیاه برنج *(Oryza sativa L.)* شامل رقم طارم هاشمی و فجر بررسی شده است. نتایج نشان داد که هر چند در شرایط این آزمایش، میکوریزی شدن عامل کاهش مختصر رشد اندام هوائی شد که به کافی نبودن شدت نور برای فتوسنتز نسبت داده شد، ولی رشد ریشه و جذب فسفر تحت تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی بصورت معنی داری تحریک گردید. دو رقم برنج از این نظر تفاوت نشان دادند، بطوریکه پاسخ مثبت به تلقیح از نظر جذب فسفر و پتاسیم، مربوط به رقم طارم هاشمی با حساسیت بیشتر به کمبود فسفر و فاقد رشد القایی در کمبود فسفر بود. در رقم فجر با حساسیت کمتر به کمبود و واجد رشد القائی ریشه در کمبود فسفر، تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی روی جذب فسفر و پتاسیم مثبت نبود. آزمایش دیگر با استفاده از سیستم ریزوباکس نشان داد که تلقیح با قارچ میکوریزی عامل افزایش معنی دار وزن، طول و تعداد انشعابات ریشه است. در همین آزمایش نشان داده شد که pH ریزوسفر در گیاهان تلقیح شده و دچار کمبود فسفر تا 1/68 واحد کاهش می یابد که می تواند نقش مهمی در انحلال و افزایش فراهمی عناصری مانند فسفر و روی در گیاهان رشد یافته در خاک داشته باشد. در این بررسی نشان داده شد که تأثیر مثبت همزیستی میکوریزی روی رشد و جذب عناصر به گونه قارچ، رقم گیاه و وضعیت تغذیه ای گیاه بستگی دارد. از سوی دیگر تأثیر مثبت تلقیح بر روی جذب عناصر عمدتاً به افزایش سطح جذبی و کاهش pH ریزوسفر مربوط می گردد.

واژه های کلیدی: *Oryza sativa* L., *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*، مورفولوژی ریشه، pH ریزوسفر

مقدمه

برنج دومین غذای ملی در ایران است و کشت و تولید این گیاه نقش مهمی در اقتصاد و تأمین غذای مردم کشور دارد. فسفر یکی از عوامل مهم محدود کننده تولید برنج است و در کشور مقادیر بالائی از کود های فسفاته برای افزایش عملکرد برنج مصرف می شود. کاربرد کود های شیمیائی عامل افزایش هزینه های تولید است، از سوی دیگر بدلیل استفاده بیش از مقادیر توصیه شده توسط برنج کاران و کاربرد بی رویه کود های فسفاتی در طی سالیان متمادی، زمینهای زراعی با انباشتگی این

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: تبریز، بلوار 29 بهمن، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، کدپستی 51666.

* دریافت: 85/3/23 و پذیرش: 85/12/16

عنصر مواجه شده است. بالا بودن مقدار فسفات در خاکها علاوه بر برهم زدن تعادل عناصر در خاک، باعث ورود این ترکیبات به آبهای جاری و زهکشی ها می شود که نتیجه از آن بهم زدن تعادل فسفر در اکوسیستم های دریاچه ها و دریاهاست.

در سالهای اخیر و در راستای کشاورزی پایدار و حفظ اکوسیستم های کشاورزی، استفاده از پتانسیل ژنتیکی گیاهان برای حصول بالاترین عملکرد و کارآئی بهره وری از خاک و نیز استفاده از میکروارگانیسم های همزیست میکروارگانیسم های همزیست و همیار برای افزایش رشد و جذب عناصر غذائی، از راهکارهای مهم جایگزین است که در جهت حفظ محیط زیست و صرفه اقتصادی، توصیه می شود.

همزیستی گیاهان با قارچهای میکوریزی، خصوصاً قارچهای میکوریز آربوسکولار، پس از همزیستی تیره نخود با ریزوبیوم ها، یکی از مهمترین ارتباطاتی است که بین گیاهان و قارچها وجود داشته و برای افزایش رشد و جذب عناصر مورد توجه می باشد. قارچهای میکوریز آربوسکولار عمدتاً رشد گیاهان را با بالا بردن جذب عناصر غذائی افزایش میدهند (Bolan، 1991 و Smith و Read، 1996). قارچهای میکوریزی احتمالاً از چند طریق عامل افزایش جذب عناصر غذائی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی می شوند. یکی از این عوامل افزایش سطح جذبی است. توسعه هیف های بسیار ظریف که دارای قطری به مراتب کوچکتر از ریشه ها می باشند، باعث می شوند ریشه های میکوریزی قابلیت کاوش مکانهای بیشتری را در خاک داشته باشند. به همین دلیل مشاهده شده است که منطقه تخلیه اطراف ریشه در ریشه های تلقیح شده به مراتب وسیع تر از ریشه های تلقیح نشده است و این موضوع اثبات می کند که دسترسی ریشه های تلقیح شده به بخش وسیع تری از خاک ممکن می گردد (George و همکاران، 1995). از سوی دیگر، توانائی بیشتر سیستم های جذبی میکوریزی و یا حتی افزایش حلالیت انواع نامحلول عناصر، جذب عناصر را توسط ریشه های میکوریزی افزایش میدهد (Bolan، 1991).

قارچهای میکوریزی نقش مهم و مشخص تری در جذب عناصری مانند فسفر که منطقه تخلیه آنها در مجاورت ریشه تشکیل می شود، از خود نشان می دهند (Marschner، 1995). قارچهای میکوریزی تأثیر متفاوتی روی عملکرد گیاه دارند، در برخی آزمایشها تلقیح با قارچهای میکوریز باعث افزایش وزن اندام هوائی گیاه شده و نشان داده شده است که افزایش رشد نتیجه جذب بهتر عناصر خصوصاً فسفر است (Aliasgharzadeh و همکاران، 2003). آزمایشهای دیگر عدم تأثیر قارچ میکوریز یا حتی کاهش عملکرد را نشان داده اند (Bi و همکاران، 2003). کاهش رشد گیاهان میکوریزی نتیجه رقابت قارچ برای منبع کربن با گیاه میزبان است. همچنین در شرایطی که فسفر کافی برای گیاهان غیر میکوریزی مهیاست، تلقیح اثری روی رشد ندارد (Marschner، 1995).

ریشه هایی که با قارچهای میکوریزی همزیستی ایجاد می کنند از نظر فیزیولوژیکی و متابولیکی تغییراتی حاصل می کنند. مقدار هورمونهای گیاهی مانند اکسین و سیتوکینین در این ریشه ها افزایش می یابد که می تواند منشأ قارچی و یا گیاهی داشته باشد. توزیع مواد فتوسنتزی بین ریشه و اندام هوائی با تلقیح ریشه تغییر می کند و کیفیت و کمیت ترشحات ریشه نیز دستخوش تغییراتی می شود (Marschner، 1995).

میکروارگانیسم های همیار ریشه مانند *آزوسپریلوم* و *ازتوباکتر* که در ریزوسفر یافت می شوند، تأثیر معنی داری بر روی pH این منطقه دارند. کاهش pH ریزوسفر که بدلیل تحریک پمپ های پروتون در سلولهای ریشه می باشد، نقش مهمی در افزایش حلالیت و بنابراین فراهمی عناصر کم محلول و نامحلول خاک دارد (Marschner، 1995). تأثیر تلقیح ریشه ها با قارچ های میکوریزی بر روی pH ریزوسفر بصورت بسیار محدود بررسی شده است (Li و همکاران، 1991 و Li و Christie، 2001). در مجموع، در مورد نقش این همزیستی در القای تغییرات در فرآیند های ریزوسفری بطور اعم و کاهش pH ریزوسفر بطور اخص، در بسیاری از گونه های مهم زراعی از جمله برنج اطلاعی در دست نیست.

گزارش های زیادی وجود دارند که نشان می دهند تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی بسته به گونه قارچ متفاوت است، این در حالی است که درصد کلنیزاسیون ریشه ها بین گونه های مختلف یکسان بوده است. بنابراین عدم تأثیر برخی گونه های قارچ میکوریزی بر جذب عناصر را به کارآئی قارچها و نیز اثرات متقابل و پیچیده میزبان و قارچ نسبت داده اند (Marschner، 1995). به طریق مشابه، نه تنها گونه های مختلف گیاهان در پاسخ به قارچ میکوریزی از یکدیگر متفاوت عمل می کنند، بلکه ژنوتیپ های مختلف یک گونه نیز از نظر مقدار نفعی که از همزیستی با قارچ می برند، از یکدیگر متمایزند (Marschner، 1995). بررسی سابق ما نیز نشان داده است که ارقام برنج که از نظر کارآئی نسبت به جذب روی از هم متفاوت بودند، از نظر افزایش

جذب این عنصر در پاسخ به میکوریزی شدن نیز متفاوت از هم عمل نموده اند (برزگر، 1384).

تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی بر روی رشد و تغذیه عنصری گیاهان زراعی و علوفه ای مختلف از جمله گندم (Hawkins و George، 1999)، سورگوم (Bagayoko و همکاران، 2000)، پیاز (Aliasgharzadeh و همکاران، 2001)، شبدر(Nadian و همکاران، 1996) و یونجه (Aliasgharzadeh و همکاران، 2004) بررسی شده است، ولی در مورد برنج مطالعات بسیار محدود است (Purakayastha و Chhonkar، 2001). در دنیا و همچنین در ایران برنج در دو شرایط غرقابی و غیر غرقابی کشت می شود و احتمالاً اثر میکوریزا در این دو حالت می تواند متفاوت باشد. بررسی سابق ما نشان داده است که در هر دو شرایط غرقابی و رطوبت ظرفیت مزرعه کلنیزاسیون ریشه ها با قارچ اتفاق می افتد (برزگر، 1384).

بررسی حاضر با هدف مطالعه اثر همزیستی با قارچ میکوریزی بر روی رشد و جذب فسفر در گیاه برنج با تکیه بر نقش مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه ها انجام شده است. با توجه به اینکه قارچهای میکوریزی بسته به گونه قارچ، ژنوتیپ گیاه و وضعیت تغذیه ای گیاه تأثیر متفاوتی روی رشد و جذب عناصر دارند، با استفاده از دو رقم با حساسیت متفاوت به کمبود فسفر و نیز دو گونه قارچ میکوریزی، اثرات این همزیستی در گیاه برنج مطالعه شده است.

مواد و روشها

در این بررسی از دو رقم گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) شامل طارم هاشمی و فجر استفاده شد. بذور مورد استفاده از موسسه تحقیقات برنج مازندران (آمل) تهیه گردید. پس از ضدعفونی کردن سطحی با هیپوکلریت سدیم تجارتی (1:5) به مدت 7 دقیقه، بذور بر روی کاغذ صافی مرطوب و در تاریکی جهت جوانه زنی قرار گرفتند. دانه رستهای جوان پس از قرار گرفتن در روشنائی و سبز شدن برگها، زمانی که اندام هوائی آنها به طول تقریبی پنج سانتیمتر رسید، به محیط تیمار منتقل شدند.

دو گونه از قارچهای میکوریزی شامل *Glomus mosseae* (جدایه دشت تبریز) و *Glomus intraradices* (جدایه استرالیا) برای تلقیح بکار رفتند. قارچهای مورد نظر ابتدا بر روی بستر مخلوط ماسه و خاک (1:3)، در گلدانهای سه لیتری و استریل شده در اتوکلاو و با استفاده از گیاه سورگوم بمدت چهار ماه در شرایط گلخانه ای تکثیر شدند. پس از این مدت، اندام هوائی گیاهان از سطح خاک گلدان قطع شده و خاک داخل گلدان شامل هیف ها، اسپور ها و ریشه های میکوریزی شده بعنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. قبل از تلقیح، درصد کلنیزاسیون ریشه های موجود در مایه تلقیح و تعداد اسپور ها در هر گرم از مایه تلقیح تعیین شد. کلنیزاسیون ریشه ها پس از رنگ آمیزی با استفاده از روش تقاطع با خطوط شبکه (Phillips و Hayman، 1970) تعیین شد و برای تعیین تعداد اسپور ها، پس از استخراج به روش غربال مرطوب (53 µm) و سپس شناور سازی در ساکارز 50 درصد، بر روی کاغذ صافی شطرنجی (0/4×0/4 سانتیمتر) پخش شده و به کمک لوپ دو چشمی (30×) شمارش شدند. میانگین تعداد اسپور ها برای سه تکرار مورد نظر قرار گرفت. درصد کلنیزاسیون برای مایه تلقیح مربوط به *گلوموس موسه* و *گلوموس اینترارادیسز* به ترتیب 74/82 و 78/75 تعیین شد و تعداد اسپور ها 35-33 در هر گرم برای هر دو گونه قارچی بدست آمد.

آزمایش مقدماتی: تعیین حساسیت به کمبود فسفر در دو رقم برنج

به منظور بررسی رشد دو رقم برنج در کمبود فسفر و تعیین حساسیت نسبی آنها به این کمبود، یک آزمایش مقدماتی انجام شد. این آزمایش در گلدانهای 2 لیتری و با استفاده از ماسه (شسته شده با آب و اسید کلریدریک) بعنوان بستر کشت انجام گردید. در هر گلدان پنج عدد دانه رست جوان کاشته شد و گلدانها با محلول غذائی ویژه برنج (Yoshidaو همکاران، 1972) با (0/3 میلی مول فسفر) یا بدون فسفر در سه تکرار در حد ظرفیت مزرعه ای آبیاری شده و محلول غذائی هر هفته یکبار تجدید شد. مقدار آب در گلدانها روزانه و پس از توزین با آب مقطر در حد ظرفیت مزرعه ای نگهداشته شد. پس از سه هفته رشد در شرایط اتاق رشد، گیاهان برداشت شدند.

آزمایش اول: بررسی رشد و جذب عناصر دردو رقم برنج تحت تأثیر تلقیح با قارچهای میکوریزی

در این آزمایش از تشتک های 10 لیتری با عمق 10 سانتیمتر استفاده شد. این تشتک ها شامل ردیفهای متناوبی از ماسه استریل (4-3 سانتیمتر) و مایه تلقیح (2-1 سانتیمتر) بود. سه تیمار با سه تکرار و هر کدام در تشتک های مجزا اعمال شد. تیمار ها شامل بدون تلقیح (مایه تلقیح استریل و ماسه)، تلقیح با *گلوموس موسه* و تلقیح با گلوموس اینترارادیسز بود. سی عدد دانه رست جوان در هر تشتک کاشته شده و در حد ظرفیت مزرعه ای پس از توزین روزانه آبیاری شدند. گیاهان یکبار با محلول غذائی (Yoshidaو

همکاران، 1972) 25 درصد که فاقد فسفر بود آبیاری شدند و فسفر یکبار بصورت تری کلسیم فسفات (4 گرم در کیلوگرم بستر کاشت) به تشتک ها اضافه شد. بدین ترتیب شرایط کمبود نسبی فسفر در تشتک ها ایجاد گردید. گیاهان بمدت سه هفته در این شرایط رشد داده شدند.

آزمایش دوم: بررسی تغییرات رشد و مورفولوژی ریشه گیاهان تلقیح شده در ریزوباکس

این آزمایش با استفاده از ماسه بعنوان بستر رشد انجام شد. ماسه ابتدا با آب و سپس با اسید کلریدریک 5% شسته و در اتوکلاو استریل شد. مایه تلقیح به مقدار 5 گرم به ازای هرکیلوگرم با ماسه مخلوط شده، سپس ریزوباکس ها پرشدند. گونه قارچ مورد استفاده *گلوموس اینترارادیسز* (جدایه استرالیا) بود. ابعاد ریزوباکس ها 5×20×30 سانتی متر و واجد دیواره شیشه ای بودند که ریشه ها از پشت آن قابل مشاهده و بررسی بود. سپس چهار دانه رست جوان به هر ریزوباکس منتقل شده و با محلول غذائی با (0/3 میلی مول فسفر) یا بدون فسفر بسته به تیمار، آبیاری شدند. آبیاری با محلول غذائی هر دو هفته یکبار و با آب مقطر پس از توزین روزانه و در حد60% ظرفیت نگهداری بیشینه، انجام گردید. آزمایش شامل دو سطح از تلقیح میکوریزی (با یا بدون تلقیح) و دو سطح از فسفر (فاقد یا واجد فسفر) با چهار تکرار به ازای هر تیمار بوده است. گیاهان بمدت 2/5 ماه در شرایط اتاق رشد قرار گرفتند.

شرایط اتاق رشد شامل دوره روشنائی/ تاریکی 7/17 ساعته، دمای روز/ شب 23/28 درجه سانتیگراد، رطوبت روز/ شب 80/70 درصد و شدت روشنائی 7000 لوکس در دوره روشنائی که با لامپ های فلوئورسنت تأمین گردید، بود (Yoshidaو همکاران، 1972).

برداشت

پس از سپری شدن دوره رشد، گیاهان برداشت شدند. ریشه و اندام هوائی از هم تفکیک شد. ریشه گیاهان پس از جدا شدن از ماسه چندین بار با آب شهر و سرانجام با آب مقطر شستشو داده شد. پس از خشک شدن ریشه ها روی کاغذ صافی، وزن تر هر دو اندام تعیین و بعد از قرار گرفتن در آون بمدت 48 ساعت و در دمای 70 درجه، وزن خشک نمونه ها تعیین شد. به منظور تجزیه عنصری، پس از افزودن نیترات منیزیم، نمونه ها در دمای 500 درجه سانتیگراد به مدت 8 ساعت خاکستر (Jaiswal، 2003) سپس در اسید کلریدریک ده درصد به حجم رسانده شده و تا تجزیه عنصری در ظروف درب دار نگهداری شدند. فسفر به روش آمونیوم مولیبدات- وانادات (Gericke و Kurmies، 1952) و پتاسیم به روش فلیم فتومتری سنجش شد.

شمارش انشعابات ریشه مستقیماً و از پشت درب شیشه ای ریزوباکس ها انجام شد و پس از آن با دور کردن درب شیشه ای، اقدام به تعیین pH محیط ریشه با استفاده از الکترود pH متر که با احتیاط در داخل ماسه فرو برده شد، گردید (Marschner و Römheld، 1983). پس از آن گیاهان برداشت شده و پس از مشخص کردن وزن تر، طول ریشه با استفاده از روش Tennant (1975) تعیین شد. ریشه پایه های دیگر پس از رنگ آمیزی برای تعیین درصد کلنیزاسیون به روش تلاقی خطوط شبکه (Phillips و Hayman، 1970) بکار رفت.

تمام آزمایشها با استفاده از طرح بلوکهای کامل تصادفی و با 3 تا چهار تکرار انجام شد. نتایج عددی با استفاده از نرم افزار Sigma stat (2.03) و با استفاده از آزمون توکی ($P<0.05$) تجزیه شد.

نتایج و بحث

مقایسه دو رقم طارم هاشمی و فجر از نظر تحمل کمبود فسفر نشان داد که کاهش رشد اندام هوائی (وزن و ارتفاع) در رقم فجر بیش از رقم طارم هاشمی بوده است. وزن اندام هوائی در رقم فجر تا 30% کاهش یافت و کاهش معنی داری در ارتفاع (13%) گیاهان مشاهده شد، در حالیکه کاهش وزن خشک اندام هوائی رقم طارم هاشمی در کمبود فسفر تنها 18% بود و ارتفاع تغییر معنی داری نشان نداد. با اینحال، پاسخ ریشه به کمبود فسفر در این دو رقم متفاوت بود. کاهش رشد ریشه در رقم طارم هاشمی بمراتب بیشتر از رقم فجر بود، بطوریکه در رقم طارم هاشمی 49% کاهش وزن و 44% کاهش طول در پاسخ به کمبود فسفر مشاهده گردید در حالیکه این کاهش برای وزن خشک ریشه در مورد رقم فجر کمتر (35%) بود و طول ریشه در گیاهان دچار کمبود فسفر تا 38% نیز افزایش یافت. کاهش مقدار فسفر اندام هوائی در هر دو رقم در کمبود فسفر مشابه بود (60%) ولی فسفر ریشه در رقم فجر کاهش بمراتب کمتری (28%) نسبت به طارم هاشمی (58%) نشان داد (جدول 1).

تحریک رشد ریشه در کمبود فسفر در تعدادی از گونه ها از جمله شبدر (Nadian و همکاران، 1996)، و سویا (Nurlaeny و همکاران، 1996) گزارش شده است. افزایش طول ریشه نوعی پاسخ سازشی به کمبود فسفر محسوب می شود زیرا کاهش فراهمی فسفر باعث تشکیل منطقه تخلیه در اطراف ریشه می گردد لذا اولین تأثیر مثبت گسترش بهتر

ریشه روی جذب فسفر است (Marschner، 1995). در این آزمایش نیز با توجه به اینکه در کشت ماسه نیز مانند کشت خاک منطقه تخلیه تشکیل می شود و توسعه ریشه ها در جذب عناصر اهمیت خود را می تواند نشان دهد، اثر افزایش سطح جذبی روی جذب فسفر در مقدار و غلظت بالاتر فسفر ریشه در تیمار کمبود منعکس شده است. بنابراین در مجموع می توان رقم فجر را رقمی مقاومتر نسبت به طارم هاشمی از نظر تحمل کمبود فسفر ارزیابی کرد.

گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزی، مقدار کلروفیل بسیار کمتری از گیاهان شاهد داشتند که آشکارا با زرد رنگ بودن برگها نیز قابل تشخیص بود. این تأثیر در رقم طارم هاشمی شدید تر از رقم فجر بود (جدول 2). رشد اندام هوائی مجموعاً و در هر دو رقم تحت تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی کاهش یافت، این کاهش خصوصاً در گیاهان تلقیح شده با گونه *گلوموس اینترارادیسز* در رقم طارم هاشمی بیشتر و معنی دار بود. تأثیر تلقیح بر روی رشد ریشه خصوصا در رقم طارم هاشمی کاملاً معکوس بود. تلقیح با قارچ میکوریزی نه تنها رشد ریشه را در این رقم کاهش نداد، بلکه عامل افزایش وزن تر و خشک تا 58% که هر دو معنی دار بود، گردید. تحریک رشد ریشه در پاسخ به تلقیح با قارچ میکوریزی در رقم فجر کمتر و در مورد وزن خشک معنی دار نبود (جدول 2).

کاهش رشد گیاهان تحت تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی، در برخی بررسی ها نشان داده شده است (Bi و همکاران، 2003). با توجه به اینکه بخش مهمی از فرآورده های فتوسنتزی به تأمین نیاز ها و استقرار زندگی همزیستی اختصاص می یابد (Marschner، 1995)، در شرایطی که فتوسنتز کامل انجام نشود، کاهش رشد در گیاهان تلقیح شده قابل انتظار است. با توجه به اینکه احتمالاً در بررسی حاضر بدلیل شدت نور ناکافی، فتوسنتز بطور کامل انجام نمی شد، تأثیر این همزیستی بر روی رشد اندام هوائی منفی بوده است.

جذب فسفر و پتاسیم نیز تحت تأثیر تیمار تلقیح با قارچ میکوریزی بصورت متفاوت در دو رقم متأثر شد. جذب فسفر در صورتیکه بر اساس میلیگرم / گیاه (مجموع اندام هوائی و ریشه) بیان شود، تحت تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی در رقم طارم هاشمی تلقیح شده با *گلوموس موسه* افزایش معنی داری یافت که در مورد رقم فجر این تغییر برعکس، کاهشی بوده که در مورد گیاهان تلقیح شده با *گلوموس اینترارادیسز* این کاهش معنی دار بود. همین روند در مورد جذب پتاسیم که بر اساس میلیگرم/ گیاه محاسبه شده نیز وجود داشت. با اینحال، در صورتی که جذب بر اساس وزن خشک ریشه بیان شود، تلقیح با قارچ میکوریزی عامل کاهش معنی دار جذب پتاسیم در رقم طارم هاشمی شد ولی در رقم فجر تغییر معنی داری را موجب نگردید. کاهش جذب فسفر (بر اساس وزن خشک ریشه) نیز در رقم طارم هاشمی چشمگیرتر بود (جدول 3).

جذب عناصر بر اساس مقدار کل عنصر استخراج شده از خاک و یا بدلیل اهمیت کارآئی ریشه در جذب، نسبت به واحد وزن ریشه محاسبه می شود (Marschner، 1995). در این بررسی، تفاوت در پاسخ این دو روش محاسبه، مربوط به پاسخ متفاوت سیستم ریشه ای به تلقیح و نیز تفاوتهای بین رقمی است. به این معنی که افزایش جذب فسفر و پتاسیم در رقم طارم هاشمی تحت تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی احتمالاً بدلیل توسعه سیستم ریشه ای است و نه بدلیل کارآئی بیشتر جذب در ریشه های تلقیح شده، به همین دلیل جذب این دو عنصر بر اساس واحد وزن ریشه در پاسخ به میکوریزی شدن افزایش نشان نمی دهد. هر چند گزارشهائی دال بر کارآتر بودن سیستم جذب میکوریزا وجود دارد که باعث افزایش جذب ریشه های میکوریزی می شود (Bolan، 1991)، ولی دلیل عمده افزایش جذب ریشه های فوق را به افزایش سطح جذبی نسبت داده اند (Marschner، 1995). این افزایش هم بدلیل تحریک رشد ریشه (مانند بررسی حاضر) و هم بدلیل سهم هیف های قارچی در کاوش حجم بیشتری از خاک و نفوذ به منافذ ظریف تر عنوان شده است (George و همکاران، 1995).

با توجه به اینکه در آزمایش اول، تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی خصوصاً در رقم طارم هاشمی عمدتاً بر روی طول ریشه نشان داده شد، در آزمایش دوم، گیاهان تلقیح شده در ریزوباکس ها رشد داده شدند بطوریکه توسعه سیستم ریشه ای در هر دوره آزمایشی قابل بررسی و تصویر برداری بود. در این آزمایش، درصد کلنیزاسیون در تیمار کمبود فسفر بیشتر از تیمار کفایت فسفر بود، که مطابق با بررسی های دیگر پژوهشگران است که در آنها تأمین فسفر کافی از کلنیزاسیون ریشه ممانعت می کند (Koide و Li، 1990). در این آزمایش تأثیر میکوریزی شدن روی مورفولوژی ریشه بسیار چشمگیر بود. وزن تر ریشه، طول ریشه و تعداد انشعابات ریشه بترتیب 149% ، 78% و 175% در تیمار های کمبود فسفر تحت تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزی افزایش یافت. این افزایش در تیمارهای کفایت فسفر بمراتب کمتر و بترتیب 12% ، 7% و 53% بود

(جدول 4). تغییر در مورفولوژی ریشه بطور واضح، در تصویر تهیه شده از ریزوباکس ها نیز مشهود است (شکل 1). افزایش در رشد ریشه و تعداد انشعابات می تواند بدلیل تغییر نسبتهای هورمونی در ریشه باشد. با توجه به اینکه قارچهای میکوریزی قادر به تولید هورمونهائی مانند اکسین و سیتوکینین هستند و یا ریشه را برای تولید بیشتر این هورمونها تحریک می نمایند، بنظر می رسد تأثیر میکوریزا از طریق هورمونها و بر روی افزایش طول و انشعابات ریشه از سازوکارهای مهم در افزایش جذب عناصر باشد (Marschner، 1995). در این بررسی نیز، بدلیل استفاده از بستر جامد و امکان تشکیل منطقه تخلیه ریشه، تأثیر میکوریزا روی جذب عناصر از طریق تحریک رشد ریشه و در نتیجه افزایش سطح جذبی، توانست ظاهر شود.

تلقیح با قارچ میکوریزی نه تنها مورفولوژی ریشه را تغییر داد، بلکه pH ریزوسفر ریشه های میکوریزی در گیاهان دچار کمبود فسفر بطور معنی داری کمتر از ریشه های شاهد بود. کاهش pH محیط ریشه در این بررسی، تا 1/68 واحد ثبت گردید که تغییر بسیار قابل توجهی محسوب می شود. با اینحال اثر تلقیح با قارچ میکوریزی روی pH ریزوسفر در تیمارهای کفایت فسفر ظاهر نشد و حتی در مقایسه با تیمارهای فاقد تلقیح بطور محسوسی افزایش نشان داد (شکل 1). در غیاب قارچ های میکوریزی، pH ریزوسفر در تیمارهای کفایت فسفر در مقایسه با کمبود کمتر بود که آن را می توان به رشد بیشتر و بدنبال آن آزاد سازی بیشتر پروتون و اسید های آلی در حضور فسفر کافی نسبت داد. اصولاً برنج خصوصاً در صورت تغذیه با آمونیوم بعنوان منبع ازت، محیط ریشه را اسیدی می نماید (Hajiboland و همکاران، 2005). تفاوت قابل توجه در pH ریزوسفر بین ریشه های شاهد و تلقیح شده در گیاهان دچار کمبود فسفر محتملاً مربوط به تغییراتی است که قارچهای میکوریزی روی فعالیت پمپ های پروتون دارند. تاکنون بررسی های بسیار محدودی روی تغییر در ریزوسفر توسط قارچهای میکوریزی انجام شده است. در این بررسی ها بسته به گونه گیاه، کاهش (Li و همکاران، 1991) یا افزایش pH ریزوسفر (Li و Christie، 2001) گزارش شده است. کاهش pH ریزوسفر تحت تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزا در گیاه برنج برای اولین بار گزارش می شود (شکل 1).

افزایش آزاد سازی پروتون و کاهش pH ریزوسفر، یکی از سازوکارهای مهم در افزایش انحلال و فراهمی عناصر درخاک می باشد. خصوصاً عناصری که اشکال آلی و معدنی غیر محلول یا کم محلول تشکیل می دهند از جمله فسفر و روی، به این روش به اشکال محلول و قابل جذب تبدیل می شوند. با توجه به اینکه در آزمایش اول، تأمین فسفر بصورت کلسیم تری فسفات نامحلول انجام شده بود، لذا یکی از دلایل افزایش جذب فسفر در رقم طارم هاشمی را می توان به تبدیل فسفر نامحلول به شکل محلول و جذب آن نسبت داد.

نتیجه گیری نهائی

در این بررسی دو فرآیند مهم که در افزایش دسترسی گیاهان به عناصر خاک نقش مهمی دارند، در ریشه های تلقیح شده بررسی شده و نشان داده شده است که افزایش سطح جذبی و نیز کاهش pH ریزوسفر، از مهمترین عوامل افزایش جذب عناصر در گیاه برنج میکوریزی بوده است. از سوی دیگر نشان داده شد که تفاوتهای بین رقمی در گیاهان و در پاسخ به تلقیح وجود دارد و همچنین گونه های مختلف قارچ میکوریزی تأثیر یکسانی روی رشد و افزایش جذب عناصر ندارند. نکته دیگر آنکه، رقم حساس به کمبود فسفر (طارم هاشمی) پاسخ بیشتری از نظر رشد و جذب عناصر به میکوریزی شدن نشان داد و این پاسخ در رقم متحمل (فجر) ضعیف تر بود. در رقم متحمل، ظاهراً بدلیل تحریک رشد ریشه بعنوان سازوکار مقابله با کمبود فسفر، تأثیر میکوریزی شدن مشاهده نمی شود. گزارش شده است گیاهانی که سیستم ریشه ای توسعه یافته دارند و یا در پاسخ به کمبود فسفر ریشه های خود را توسعه می دهند، نفع کمتری از همزیستی میکوریزی در شرایط کمبود فسفر می برند (Marschner، 1995). در بررسی دیگر ما با دو رقم فجر و شفق نیز نشان داده شده است که شفق بعنوان رقم حساس به کمبود فسفر، پاسخ به مراتب بیشتری نسبت به فجر به میکوریزی شدن نشان می دهد (برزگر، 1384). گزارش هائی دال بر نقش وضعیت تغذیه ای فسفر در پاسخ گیاهان به میکوریزی شدن وجود دارد و گیاهان دچار کمبود فسفر، نفع بیشتری از میکوریزی شدن می برند (De Miranda و همکاران، 1986). لذا می توان علاوه بر پاسخ سیستم ریشه ای، فقر فسفر در گیاه را عامل بروز پاسخ مثبت به تلقیح با قارچهای میکوریزی دانست.

جدول 1- وزن خشک ریشه و اندام هوائی (میلیگرم برگیاه)، مقدار کلروفیل (نسبی)، ارتفاع گیاه (سانتیمتربر گیاه)، طول ریشه (سانتیمتر برگیاه) و مقدار فسفر اندام هوائی و ریشه (میلیگرم برگیاه) در دو رقم گیاه برنج که در حضور یا فقدان فسفر در اتاق رشد بمدت بیست روز رشد داده شدند. تفاوت مابین اعداد هر ستون مربوط به هر رقم که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05)

	وزن خشک (میلیگرم برگیاه)		کلروفیل	ارتفاع گیاه	طول ریشه	مقدار فسفر (میلیگرم برگیاه)	
	اندام هوائی	ریشه	(نسبی)	(سانتیمتربرگیاه)		اندام هوائی	ریشه
رقم هاشمی							
کمبود فسفر	۳۸/۸±۱/۴ b	۱۸/۹±۱/۲ b	۸۷/۷±۵/۲ b	۳۶/۴±۰/۴ a	۱۴۳±۳۱/۲ b	۰/۱۳۵±۰/۰۲ b	۰/۰۸۹±۰/۰۱ b
کفایت فسفر	۴۷/۱±۱/۲ a	۳۷/۴±۳/۹ a	۱۰۰±۳/۱ a	۳۸/۷±۰/۹ a	۲۵۸±۲۴/۹ a	۰/۳۴۱±۰/۰۱ a	۰/۲۱۰±۰/۰۳ a
رقم فجر							
کمبود فسفر	۴۳/۱±۱/۱ b	۱۸/۱±۰/۴ b	۸۶/۳±۴/۹ b	۴۵/۵±۳/۲ b	۱۳۵±۱۸/۹ a	۰/۲۴۳±۰/۰۸ b	۰/۰۹۴±۰/۰۳ b
کفایت فسفر	۶۰/۹±۱/۳ a	۲۷/۹±۱/۲ a	۱۰۰±۰/۹ a	۵۲/۳±۱/۸ a	۹۸±۶/۲ b	۰/۶۲۷±۰/۰۶ a	۰/۱۳۱±۰/۰۲ a

جدول 2- وزن خشک اندام هوائی و ریشه (میلیگرم بر گیاه) و مقدار کلروفیل (نسبی) در دو رقم گیاه برنج با یا بدون تلقیح با یکی از دو گونه قارچی که دراتاق رشد بمدت بیست روز رشد داده شدند. تفاوت مابین اعداد هر ستون مربوط به هر رقم که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05)

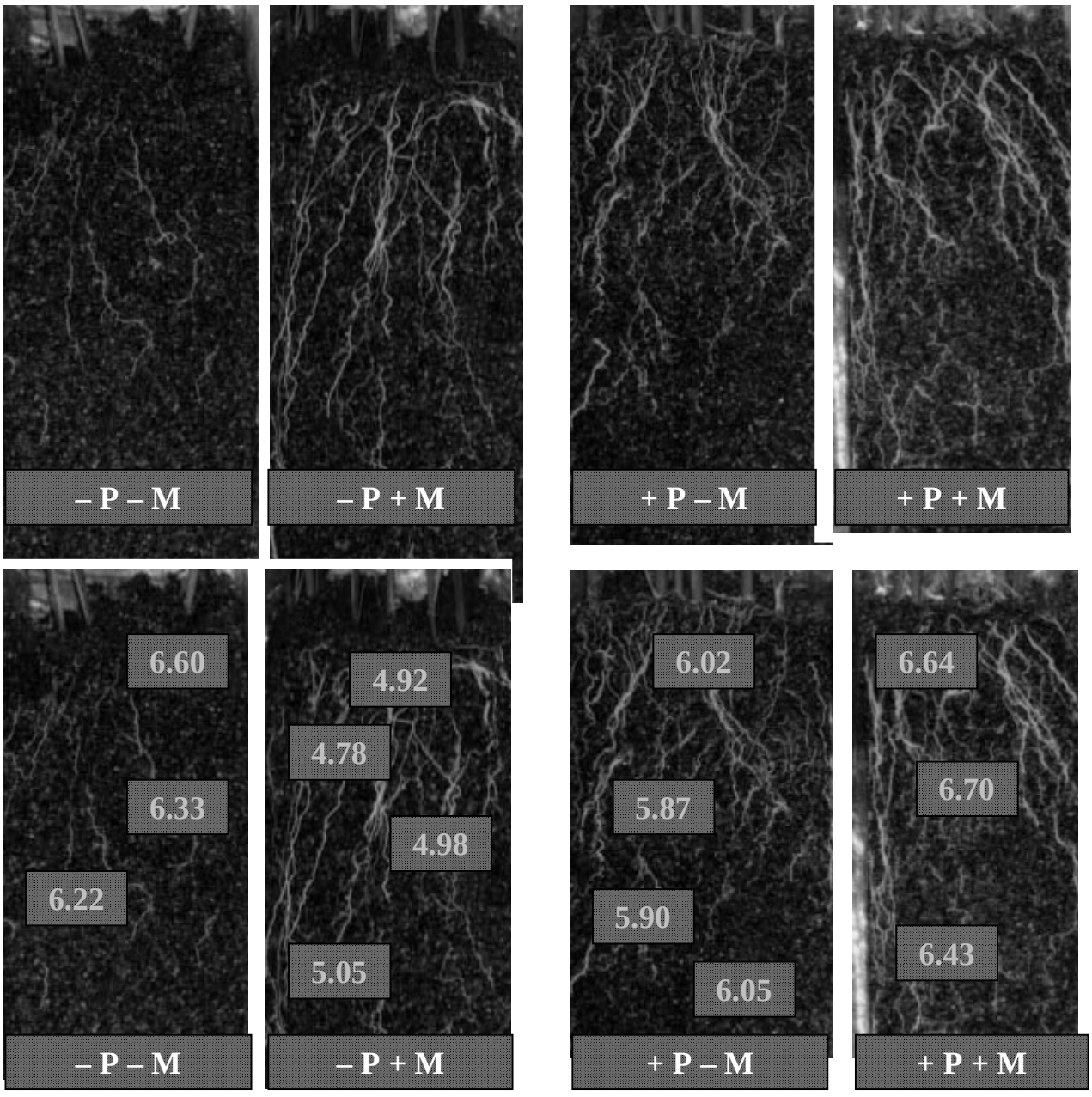
تیمار قارچی	مقدار کلروفیل (نسبی)	وزن تر (میلیگرم برگیاه)		وزن خشک (میلیگرم برگیاه)	
		اندام هوائی	ریشه	اندام هوائی	ریشه
رقم طارم هاشمی					
بدون تلقیح	100±4/18 a	152/6±4/6 a	46/3±3/2 c	25/5±0/9 a	6/6±0/4 b
گلوموس موسه	55/3±0/43 b	134/8±13/0 a	111/1±8/6 a	22/6±2/6 ab	15/9±3/2 a
گلوموس اینترارادیسز	55/0±2/04 b	110/3±8/5 b	91/3±9/9 b	18/8±0/9 b	11/8±2/9 ab
رقم فجر					
بدون تلقیح	100±2/7 a	63/8±11/2 a	36/4±8/1 b	13/5±1/7 a	8/3±0/9 a
گلوموس موسه	74/0±1/07 c	52/5±3/0 a	67/3±8/2 a	9/8±0/8 b	8/3±1/4 a
گلوموس اینترارادیسز	82/4±3/1 b	56/0±2/2 a	86/8±9/3 a	10/6±0/7 b	10/0±3/0 a

جدول 3- جذب فسفر و پتاسیم بر اساس مقدار عنصر در گیاه (میلیگرم برگیاه) و نسبت به وزن خشک ریشه (میلیگرم برگرم وزن خشک ریشه) در دو رقم گیاه برنج با یا بدون تلقیح با یکی از دو گونه قارچی که در اتاق رشد بمدت بیست روز رشد داده شدند. تفاوت مابین اعداد هر ستون مربوط به هر رقم که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05)

تیمار قارچی	جذب فسفر		جذب پتاسیم	
	میلیگرم برگیاه	میلیگرم برگرم وزن خشک ریشه	میلیگرم برگیاه	میلیگرم برگرم وزن خشک ریشه
رقم طارم هاشمی				
بدون تلقیح	0/260±0/005 b	40±6/1 a	0/371±0/012 b	56/5±3/5 a
گلوموس موسه	0/285±0/006 a	18±4/4 b	0/436±0/010 a	27/4±3/0 b
گلوموس اینترارادیسز	0/272±0/009 ab	23±4/3 b	0/381±0/011 b	32/4±3/0 b
رقم فجر				
بدون تلقیح	0/201±0/03 a	24±3/2 a	0/337±0/015 a	40/6±1/8 a
گلوموس موسه	0/149±0/02 ab	18±1/9 ab	0/275±0/014 b	33/3±4/6 a
گلوموس اینترارادیسز	0/155±0/01 b	16±3/0 b	0/317±0/012 a	31/7±3/9 a

جدول 4- تغییر در مورفولوژی ریشه در گیاه برنج رقم طارم هاشمی با یا بدون تلقیح با قارچ میکوریزا (*گلوموس اینترارادیسز*) که در دو شرایط متفاوت تغذیه فسفر (کمبود یا کفایت) در ریزوبوکس ها و در شرایط اتاق رشد بمدت دو ماه رشد داده شدند

تیمار قارچی	کلنیزاسیون (درصد)		وزن تر ریشه (میلیگرم برگیاه)		طول ریشه (سانتیمتر برگیاه)		تعداد انشعابات ریشه	
	کمبود	کفایت	کمبود	کفایت	کمبود	کفایت	کمبود	کفایت
بدون تلقیح	۰±۰	۰±۰	۴۷۸±۱۴ c	۷۳۸±۶۴ b	۵۷۰±۲۵ c	۷۷۰±۳۹ b	۸±۱ c	۱۵±۲ b
تلقیح شده	۲۸/۸±۰/۷	۱۶/۲±۰/۶	۱۱۸۹±۹۹ a	۸۲۵±۴۷ b	۱۰۱۷±۴۷ a	۷۱۶±۲۶ b	۲۲±۳ a	۲۳±۳ a



شکل 1- تغییر در مورفولوژی ریشه و pH ریزوسفر در گیاه برنج رقم طارم هاشمی با یا بدون تلقیح با قارچ میکوریزا (*گلوموس اینترارادیسز*) که در دو شرایط متفاوت تغذیه فسفر (کمبود یا کفایت) در ریزوبوکس ها و در شرایط اتاق رشد بمدت دو ماه رشد داده شدند

فهرست منابع:

۱. برزگر، ربابه. 1384 . بررسی تأثیر میکوریزی شدن بر روی رشد و تغذیه معدنی گیاه برنج. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز.

2. Aliasgharzadeh, N. and M.R. Esfandiari. 2004. Effects of dual inoculations of *Sinorhizobium meliloti* and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of salt-stressed alfalfa. *In* CIGR International Conference. Proc. of Conf., Beijing, China. 11-14 Oct. 2004.
3. Aliasgharzadeh, N., P. S. Alizadeh and N. Saleh Rastin. 2003. Iron, Manganese and phosphorus utilization by mycorrhizal tomato at different P levels. *In* International Soil Tillage Research Organization Conference. Proc. of Conf., Queensland, Brisbane, Australia. 13-18 Jul. 2003.
4. Aliasgharzadeh, N., N. Saleh Rastin, H. Towfighi and A. Alizadeh. 2001. Inoculation effects of four arbuscular mycorrhizal fungi on the mineral nutrition and yield of onion under salinity levels. *In* Land Degradation and Meeting of the IUSS Subcommission C-Soil and Water Conservation. Proc. of Conf., Rio de Janeiro, Brazil. 17-21 Sep. 2001.
5. Bagayoko, M., E. George, V. Römheld and A. Buerkert. 2000. Effects of mycorrhizae and phosphorus on growth and nutrient uptake of millet, cowpea and sorghum on a West African soil. J. Agr. Sci. 135: 399-407.
6. Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant Soil 134: 189-207.
7. Bi, Y.L., X.L. Li, and P. Christie. 2003. Influence of early stages of arbuscular mycorrhiza on uptake of zinc and phosphorus by red clover from a low-phosphorus soil amended with zinc and phosphorus. Chemosphere, 50: 831-837.
8. De Miranda, J.C.C., P.J. Harris and A. Wild. 1989. Effects of soil and plant phsphorus concentrations on vesicular-arbuscular mycorrhizae in sorghum plants. New Phytol. 112: 405-410.
9. George, E., H. Marschner and I. Jakobson. 1995. Role of arbuscular-mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. Crit. Rev. Biotech. 15: 257-270.
10. Gericke, S. and B. Kurmies. 1952. Die kolorimetrische Phosphorsäure-bestimmung mit Ammonium-Vanadat-Molybdat und ihre Anwendung in der Pflanzenanalyse. Zeitschrift für Pflanzenernährung , Düngung und Bodenkunde, 59: 235-247.
11. Hajiboland, R., X.E. Yang, V. Römheld and G. Neumann. 2005. Effect of bicarbonate on elongation and distribution of organic acids in root and root zone of Zn-efficient and Zn-inefficient rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Environ. Exp. Bot. 54:163-173.
12. Hawkins, H.J. and E. George. 1999. Effect of plant nitrogen status on the contribution of arbuscular mycorrhizal hyphae to plant nitrogen uptake. Physiol. Plant. 105: 694-700.
13. Jaiswal, P.C. 2003. Soil, Plant and Water Analysis. Kalyani Publishers, India.
14. Koide, R.T. and M. Li. 1990. On host regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. New Phytol. 114: 59-65.
15. Li, X.L., E. George and H. Marschner. 1991. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil and hyphae-soil interfaces of VA mycorrhizal white clover fertilized with ammonium. New Phytol. 119: 397-404.
16. Li, X.L. and P. Christie. 2001. Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn-contaminated soil. Chemosphere, 42: 201-207.

17. Marschner, H. and V. Römheld. 1983. *In vivo* measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface: Effect of plant species and nitrogen source. Z. Pflanzenphysiol. 111: 241-251.
18. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Edition, Academic Press, London, UK.
19. Nadian, H., S.E. Smith, A.M. Alston and R.S. Murray. 1996. The effect of soil compaction on growth and P uptake by *Trifolium subterraneum*: interactions with mycorrhizal colonization. Plant Soil 182: 39-49.
20. Nurlaeny, N., H. Marschner and E. George. 1996. Effects of liming and mycorrhizal colonization on soil phosphate depletion and phosphate uptake by maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) grown in two tropical acid soils. Plant Soil 181: 275-285.
21. Phillips J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and VAM fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.
22. Purakayastha, T.J. and P.K. Chhonkar. 2001. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus etunicatum* L.) on mobilization of Zn in wetland rice (*Oryza sativa* L.) Biol. Fertil. Soils 33: 323-327.
23. Smith S.E. and D.J. Read. 1996. Mycorrhizal symbiosis. 2nd Edition, Academic Press, London.
24. Tennant, D. 1975. A test of modified line intersect method of estimating root length. J. Ecology 63: 995-1001.
25. Yoshida, S., D. A., Forno, J. H. Cock and K. Gomez. 1972. Routine methods of solution culture for rice. p. 53-57. *In* Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. 2nd ed. The International Rice Research Institute, Philippines.