مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۲۸، شماره ۴، سال ۱۳۹۱

اثر دو گونه قارچ میکـــوریزآربسکولار بر رشد رویشـــی و جـــذب فسفر پایه مکزیکن لایم (*Citrus aurantifolia*) تحت شرایط تنش خشکی

Effect of Two Species of Arbuscular-Mycorrhizal Fungi on Vegetative Growth and Phosphorous Uptake of Mexican Lime Rootstock (*Citrus aurantifolia*) Under Drought Stress Conditions

حسن حقیقت‌نیا[۱]، حبیب‌اله نادیان[۲]، فرهاد رجالی[۳] و امیررضا توکلی[۴]

۱- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، داراب (نگارنده مسئول)
۲- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز
۳- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج
۴- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، داراب

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۸/۱۷

چکیده

حقیقت‌نیا، ح.، نادیان، ح.، رجالی، ف. و توکلی، ا. ر. ۱۳۹۱. اثر دو گونه قارچ میکـــوریزآربسکولار بر رشد رویشـــی و جـذب فسفر پایه مکزیکن لایـم (*Citrus aurantifolia*) تحت شرایط تنش خشکی. **مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۲۸ (۴): ۴۱۷-۴۰۳.**

قارچ‌های میکوریزی با برقراری رابطه همزیستی با گیاه میزبان قادرند گیاه را در مواجهه با تنش‌های محیطی نظیر خشکی کمک نمایند. بدین منظور یک آزمایش گلخانه‌ای بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهـار تکرار در سال ۸۹-۱۳۸۸ در ایستگاه تحقیقاتی بختاجرود داراب اجراء شد. در این آزمایش اثر دو گونه قارچ میکوریز آربسکولار و سه سطح رطوبتی (بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید) بر میزان کلنیزاسیون ریشه، ویژگـی‌هـای رشـد (وزن خشک برگ، اندام هوایی و ریشه، ارتفاع گیاه، قطر طوقه، تعداد بـرگ)، وابـستگی میکـوریزایی، میـزان نـسبی کلروفیل و غلظت فسفر برگ روی پایه مکزیکن لایم بود. نتایج نشان داد که تمام خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر سوء تنش خشکی قرار گرفتند. اثر منفی تنش خشکی بر ریشه گیاه بیش از اندام‌های هوایی گیاه بود. به هر حال، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده بوسیله هر دو گونه قارچ در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده در تمـام سطوح رطوبتی بطور معنی‌داری بالاتر بود. روند مشابهی با وزن خشک برای دیگر خـصوصیات رشـد، تحـت شـرایط خشکی ملاحظه گردید. هر دو گونه قارچ تحت تنش خشکی تغذیه فسفر گیاه میزبان را اصلاح کردند. کاهش مشاهده شده در اثرات مفید کلنی‌سازی میکوریزایی با افزایش تنش خشکی، به کاهش معنی‌دار کلنی‌سازی ریـشه نـسبت داده شـد. نتـایج مطالعـه حاضـر بیـانگر آن اسـت کـه کلنـی‌سـازی میکـوریزایی بـویژه توسـط گونـه گلومـوس موسـه (*Glomus mosseae*) سبب بهبود مقاومت به خشکی و جبران بخشی از آثار سوء آن بر پایه مکزیکن لایم شد.

واژه‌های کلیدی: همزیستی میکوریزی، پایه مرکبات، تنش خشکی، فسفر و رشد رویشی.

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: hasanhaghighatnia@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

قارچ‌های میکوریزی از با اهمیت‌ترین میکروارگانیسم‌های موجود در اغلب خاک‌های تخریب نشده می‌باشند. بطوریکه بر طبق تخمین‌های موجود حدود ۷۰٪ از توده زنده جامعه میکروبی خاک‌ها را میسیلیوم این قارچ‌ها تشکیل می‌دهد (Mukerrji and Chamola, 2003). این قارچ‌ها قادر به ایجاد رابطه همزیستی با اغلب گیاهان آوندی هستند. این موضوع بیانگر آن است که با انتخاب و بکارگیری بهترین ترکیب گیاه میزبان و قارچ همزیست می‌توان به نحو موثری از این همزیستی در افزایش تولید محصولات کشاورزی استفاده کرد.

گیاهانی که دارای همزیستی میکوریزی می‌باشند بدلیل اینکه عناصر غذایی و آب بیشتری از خاک جذب می‌کنند دارای رشد بهتری خواهند بود، عملکرد بیشتری خواهند داشت و نیز مقاومت بیشتری در برابر تنش‌های زنده (عوامل بیماریزا که ریشه گیاهان را مورد حمله قرار می‌دهند) و غیر زنده (خشکی، سرما و شوری) از خود نشان می‌دهند (Sylvia and Williams, 1992). بنابراین استفاده از آنها بعنوان یکی از استراتژی‌های نوین و مهم جهت مقابله با تنش خشکی می‌تواند باعث صرفه‌جویی زیادی در مصرف آب گردد. تحقیقات زیادی نشان داده است که همزیستی میکوریزی مقاومت گیاه میزبان را به شرایط خشکی افزایش می‌دهد (Sylvia *et al.*, 1993; Davis *et al.*, 1992). اما ساز و کارهای آن هنوز مورد بحث بوده، اگر چه آثار آن بیشتر به تغییرات تغذیه‌ای در گیاه میزبان نسبت داده شده است (Khalvati, 2005).

استفاده از گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربسکولار در کشت گیاه گندم و در سطوح تنش خشکی منجر به افزایش عملکرد و جذب عناصر فسفر، روی و مس گردیده است (Rejali, 2004). طبق گزارش اسنوبی و همکاران (Osonubi *et al.*, 1991) تلقیح با گونه‌های بومی قارچ میکوریز آربسکولار تاثیر مثبتی بر رشد و مقاومت به خشکی در نهال‌های چهار گونه لگوم درختی داشته است. رابطه همزیستی سبب گردیده که در این گیاهان پتانسیل شیره خام و همچنین میزان نسبی آب موجود در برگ‌ها افزایش یابد.

سوبرامانیان و همکاران (Subramanian *et al.*, 2006) تاثیر کلنی‌سازی در ریشه گوجه‌فرنگی بوسیله قارچ میکوریزای گلوموس اینترارادیسز (*Glomus intraradices*) در شرایط مزرعه‌ای تحت تنش‌های مختلف خشکی را مورد ارزیابی قرار دادند و نتیجه گرفتند که ماده خشک اندام هوایی، تعداد گل و میوه بطور معنی‌داری در گیاهان میکوریزایی شده بیشتر بود. همچنین میانگین عملکرد در این گیاهان، تحت تنش‌های شدید، متوسط، ملایم و بدون تنش بترتیب بمیزان ۲۴/۷٪، ۲۳/۱٪، ۱۶/۲٪ و ۱۲/۳٪ بیشتر بود. بنابراین در این تحقیق کارایی مصرف آب

Archive of SID

www.SID.ir

(WUE) در گیاهان میکوریزایی نیز در همه سطوح تنش خشکی بالاتر از گیاهان غیر میکوریزایی بود.

مانجوناتات و همکاران (Manjunath *et al.*, 1983) اظهار داشتند که تلقیح مرکبات با قارچ میکوریزای گلوموس فسیکولاتوم (*Glomus fasciculatum*) سبب افزایش وزن ماده خشک اندام‌های هوایی و ریشه‌های گیاه شد. در مطالعه دیگری پاسخ پایه مرکبات پونسیروس تریفولیاتا (*Poncirus trifoliate*) با ۱۸ گونه قارچ میکوریزا مورد ارزیابی و مشخص گردید که گونه‌های ولوم (*G. velum*)، ماکروکارپوم (*G. macrocarpum*)، مردوم (*G. Merredum*) و کالدونیکوم (*G. caledonicum*) موثرترین گونه‌ها در اصلاح پارامترهای رشد، مانند ارتفاع گیاه، قطر ساقه، وزن زیست توده و نیز جذب عناصر غذایی فسفر، روی و مس بودند (Vinayak and Bagyaraj, 1990).

برای مرکبات مهم‌ترین تاثیر همزیستی میکوریزایی بر رشد گیاه، وابستگی میکوریزایی (Mycorrhizal dependency) است، که ممکن است توسط نوع پایه یا رقم، فاکتورهای خاکی و نوع قارچ میکوریزا تغییر یابد (Nemec, 1978). برای مثال داده‌های بدست آمده از مطالعات مزرعه‌ای ایلینویز آمریکا نشان داد که پایه رافلمون دارای بیشترین وابستگی میکوریزایی و کلئوپاترا ماندارین، ترویر سیترنج و سور اورنج بمیزان بسیار کمتری وابستگی میکوریزایی از خود نشان دادند (Kleinschmidt and Gerdemann, 1972). در یک آزمایش روی شش رقم مرکبات، نمک (Nemec, 1978) دریافت که اختلاف در کارایی سه گونه قارچ گلوموس (*Glomus* spp.) هم با نوع پایه‌ها و هم با میزان مصرف کود فسفره تغییر یافت.

اختلاف در افزایش رشد ترویر سیترانج توسط هشت گونه قارچ میکوریزا در مطالعه گراهام و همکاران (Graham *et al.*, 1982) به مقدار ریسه‌های خارجی باند شده با واحد وزن خاکدانه‌ها نسبت داده شد. تورک و همکاران (Turk *et al.*, 2006) اظهار نمودند که نقش اصلی قارچ‌های میکوریزی تامین فسفر برای ریشه گیاه است، زیرا فسفر در خاک عنصری فوق‌العاده کم تحرک است. حتی در صورتی که فسفر به شکل محلول به خاک اضافه شود به سرعت در اشکال فسفات کلسیم یا دیگر اشکال تثبیت شده و بصورت غیر متحرک در می‌آید. بنابراین قارچ‌های میکوریزی در افزایش جذب مواد معدنی، بویژه فسفر و تجمع زیست توده بسیاری از محصولات، در خاک‌های با فسفر کم، تاثیر مثبت دارند.

بخش زیادی از مرکبات در منطقه جنوب کشور بر روی پایه مکزیکن لایم پیوند شده و تا جایی که محققین این تحقیق اطلاع دارند هنوز گزارشی در خصوص تاثیر این قارچ‌ها بویژه تحت شرایط تنش خشکی بر مرکبات در ایران

Archive of SID

www.SID.ir

انتشار نیافته است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر دو گونه قارچ میکوریز آربسکولار بر میزان کلنی‌سازی ریشه، برخی شاخص‌های رشد رویشی، مقدار نسبی کلروفیل و جذب فسفر پایه مرکبات مکزیکن لایم (لیموی آب) تحت شرایط تنش خشکی و نیز تعیین میزان وابستگی این پایه به دو گونه قارچ طراحی و اجراء گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش بصورت گلخانه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی بختاجرد داراب واقع در ۲۵۰ کیلومتری جنوب شرق شیراز با ارتفاع ۱۱۱۰ متر از سطح دریا و طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۱۷ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۲۸ درجه و ۴۷ دقیقه شمالی اجراء گردید. آزمایش بصورت فاکتوریل ۳ × ۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد.

عامل اول شامل تلقیح با دو گونه قارچ میکوریزای آربسکولار گلوموس موسه (*Glomus mosseae*) و گلوموس اینترارادیسز (*Glomus intraradices*) که از این پس به ترتیب با M_m و M_i نشان داده می‌شوند و نیز یک تیمار بدون تلقیح، بعنوان شاهد؛ عامل دوم شامل سه سطح رطوبتی خاک بصورت در صدهایی از رطوبت قابل استفاده گیاه بر اساس ضرایب تخلیه مجاز رطوبتی (۰/۴۰، ۰/۵۵ و ۰/۷۰) بود.

به منظور اجرای آزمایش ابتدا بذر پایه مکزیکن لایم از باغ مادری ایستگاه تحقیقات کشاورزی داراب و خاک مورد استفاده نیز که خصوصیات آن در جدول ۱ آورده شده است، از ایستگاه تحقیقات بختاجرد داراب تهیه شد. سپس سه عدد بذر درون لیوان‌های پلاستیکی کوچک با حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر، پر شده از خاک استریل (اتوکلاو به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ $^{\circ}C$) کشت و پس از جوانه‌زنی تعداد دانهال‌ها به یک عدد تقلیل داده شد.

در مرحله چهار برگی، دانهال‌هایی که از لحاظ ظاهری کاملاً یکسان بودند را انتخاب و به گلدان‌های حاوی ۴/۵ کیلوگرم خاک پاستوریزه (جهت کاهش اسپورها به مدت چند ماه مقابل نور آفتاب قرار گرفته) انتقال داده و همزمان، عمل تلقیح با مایه تلقیح دو گونه قارچ فوق‌الذکر (تهیه شده از آزمایشگاه بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب) مطابق با تیمارها انجام شد. تعدادی گلدان اضافی نیز در بین گلدان‌ها قرار داده شد تا به فاصله هر یک ماه، یک گلدان را تخلیه، و وزن گیاه را برای تصحیح وزن هر گلدان استفاده نمود.

به منظور سازگاری گیاهان با شرایط جدید بیست روز پس از انتقال دانهال‌ها به هر یک از گلدان‌ها، تیمارهای رطوبتی اعمال شد. بدین صورت که پس از محاسبه میزان آب قابل استفاده گیاه، بر اساس کسری از ضرایب تخلیه مجاز رطوبتی (MAD[1]) یعنی ۴۰٪ (بدون تنش)، ۵۵٪ (تنش ملایم) و ۷۰٪ (تنش شدید) و

1 - Management Allowed Depletion

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Some physical and chemical properties of soil used in experiment

مس Cu	منگنز Mn	روی Zn	آهن Fe	پتاسیم K	فسفر P	شن (٪) Sand (%)	رس (٪) Clay (%)	لای (٪) Silt (%)	کربن آلی (٪) O.C. (%)	شوری EC (ds/m)	pH	بافت Texture
میلی گرم بر کیلو گرم خاک (mg/kg)												
1.9	6.8	1.2	4.5	205	9.7	67.3	19.3	13.4	0.61	0.66	8.0	لوم شنی Sandy loam

با توزین روزانه گلدان‌ها مقدار آب مناسب هر تیمار را تا رسیدن رطوبت به حد ۸۵٪ ظرفیت زراعی (F.C.) محاسبه و اضافه گردید. آزمایش به مدت ۱۷۰ روز ادامه یافت و در طول این مدت ویژگی‌های رشد رویشی مانند ارتفاع، قطر طوقه و تعداد برگ، در پایان هر ماه اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش، علاوه بر اندازه‌گیری پارامترهای فوق، کلروفیل برگ با دستگاه SPAD مدل CL-01، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی (شامل برگ و ساقه) و ریشه‌ها بطور جداگانه اندازه‌گیری شد (اندازه‌گیری وزن خشک، با قرار دادن در آون در درجه حرارت ۶۵ درجه سانتیگراد تا رسیدن به وزن ثابت صورت گرفت). همچنین وابستگی میکوریزایی (Mycorrhizal dependency) از طریق تفریق وزن ماده خشک نهال شاهد (میکوریزایی نشده) از وزن ماده خشک نهال میکوریزایی شده به وزن ماده خشک نهال شاهد ضربدر ۱۰۰ اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فسفر برگ، با روش خشک سوزانی (Dry ashing) عصاره‌گیری انجام و با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-2100، غلظت فسفر برگ بر اساس رنگ‌سنجی با روش زرد (Subramanian and Charest, 1997) اندازه‌گیری گردید.

جهت تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه (ریشه‌ای مویین) در محیط آزمایشگاه، با استفاده از روش فیلیپس و هیمن (Philips and Hayman, 1970) رنگ‌آمیزی ریشه‌ای صورت گرفت و سپس از روش خطوط متقاطع (Tenant, 1975) استفاده گردید. در این روش ریشه‌ای رنگ‌آمیزی شده، بصورت قطعات یک سانتیمتری جدا و بصورت تصادفی درون پتری دیش قرار داده شدند (حداقل ۵۰ قطعه) سپس یک صفحه شطرنجی به ابعاد یک سانتیمتر (۱×۱) تهیه و در زیر پتری دیش قرار گرفت. جهت مشاهده و شمارش ریشه‌ای آلوده و غیر آلوده از بنیکولار استفاده گردید. ریشه‌ای آلوده و غیر آلوده که با خطوط عمودی و افقی صفحه شطرنجی تقاطعی را ایجاد کرده بودند، هر کدام بطور جداگانه شمارش شدند. از تقسیم

Archive of SID

www.SID.ir

مجموع ریشه‌ای آلوده بدست آمده از خطوط عمودی و افقی به مجموع ریشه‌ای غیر آلوده بدست آمده از خطوط عمودی و افقی ریشه‌ای ضربدر ۱۰۰، درصد کلنیزاسیون ریشه تعیین گردید. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTATC تجزیه‌ای آماری انجام و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر اصلی هریک از عوامل تنش خشکی (d)، تلقیح با قارچ (M)، و نیز برهمکنش آنها بر همزیستی میکوریزی ریشه معنی‌دار بود نشان داده شده است. درصد ریشه‌های کلنیزه شده بطور معنی‌داری با افزایش تنش خشکی کاهش یافت (جدول ۲). بطور مشابهی وو و زیا (Wu and Xia, 2006a) دریافتند که تنش خشکی، کلنیزاسیون میکوریزایی با قارچ گلوموس ورسیفورم (*Glomus versiforme*) را روی پایه سیتروس تانجرین (*Citrus tangerine*) بطور معنی‌داری کاهش داد.آنها پیشنهاد نمودند که محیط خشک و نیمه خشک بر توسعه قارچ میکوریزا در گیاه میزبان تاثیر سوء داشت. به هرحال، مطابق سوابق تحقیق، غالباً همزیستی میکوریزایی تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد (Auge, 2001).

در تیمارهای بدون تنش و تنش شدید کلنی‌سازی میکوریزایی توسط گونه M_m برتری معنی‌داری نسبت به گونه M_i داشت (جدول ۳) که نشان‌دهنده تفاوت در توانایی گونه‌های مختلف قارچ در میزان همزیست شدن با گیاه میزبان می‌باشد. یکوبسن و همکاران (Jacobsen *et al*., 1992) نیز اظهار داشتند که توانایی گونه‌های مختلف قارچ، بویژه تحت شرایط تنش‌های محیطی در آلوده‌سازی گیاه میزبان متفاوت است.

یکی از شاخص‌های مهم فعالیت قارچ‌های میکوریزی، میزان کلنیزاسیون سیستم ریشه‌ای گیاه توسط این قارچ‌ها می‌باشد که به وسیله عوامل مختلفی از جمله خصوصیات ظاهری و ساختمانی سیستم ریشه‌ای، مقدار و کیفیت ترشحات ریشه‌ای، مصرف کودهای شیمیایی فسفره و غلظت بالای عناصر سنگین تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Al-Karaki *et al*., 1998). از آنجایی که سطح فسفر در خاک مورد آزمایش پایین بود، کلنی‌سازی میکوریزایی با تلقیح توسط هر دو گونه افزایش چشمگیری نشان داد (جدول ۳). جرج و همکاران (Georg *et al*., 1995) نیز اظهار داشتند که توانایی قارچ‌های میکوریزی در اشغال سیستم ریشه‌ای گیاه همبستگی منفی با مقدار فسفر موجود در خاک دارد.

بدون توجه به کلنی‌سازی میکوریزایی تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار ($P<0.01$) وزن خشک برگ، اندام هوایی و ریشه، ارتفاع گیاه، قطر طوقه، تعداد برگ و کلروفیل برگ گردید. در تیمار تنش خشکی شدید نسبت به شرایط بدون تنش، بترتیب وزن خشک برگ، اندام

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- کلنی‌سازی ریشه، شاخص‌های رشد، کلروفیل برگ و غلظت فسفر پایه مرکبات مکزیکن لایم تحت تاثیر تنش خشکی (بدون تنش، d_0؛ تنش ملایم، d_1؛ و تنش شدید، d_2) و تلقیح میکوریزایی (*G. mosseae*, M_m; *G. intraradices*, M_i; Non-mycorrhiza, NM)

Table 2. Root colonization, plant growth parameters, leaf chlorophyll and P concentration in *Citrus aurantifolia* rootstock as affected by drought stress (Control, d_0; Mild, d_1; Severe, d_2) and mycorrhizal inoculation (*G. mosseae*, M_m; *G. intraradices*, M_i; Non-mycorrhiza, NM)

Traits	صفات	میکوریزا Mycorrhiza (M)			تنش خشکی Drought stress (d)		
		NM	**M_m**	**M_i**	**d_0**	**d_1**	**d_2**
Colonization (%)	کلنیزاسیون (٪)	7.100c	31.140a	27.690b	29.750a	22.450b	13.730c
Leaf dry weight (g plant^{-1})	وزن خشک برگ (گرم در گیاه)	0.715b	1.743a	1.343b	1.480a	1.270b	1.051c
Shoot dry weight (g plant^{-1})	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گیاه)	1.053c	2.594a	2.144a	2.193a	1.829b	1.770b
Root dry weight (g plant^{-1})	وزن خشک ریشه (گرم در گیاه)	0.414c	1.000a	0.822b	0.886a	0.722b	0.628c
Chlorophyll (SPAD)	کلروفیل (SPAD)	26.100b	29.900ab	33.800a	36.200a	28.900b	24.700c
Plant height (cm)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	24.930c	34.770a	30.400b	36.300a	29.930b	23.870c
Stem diameter (mm)	قطر ساقه (میلی‌متر)	3.427b	5.270a	4.988a	5.211a	4.597b	3.877c
Leaf number per plant	تعداد برگ در هر گیاه	22.580b	41.420a	39.920a	42.080a	34.500b	27.330c
Leaf P concentration (mg g^{-1})	غلظت فسفر برگ (میلی‌گرم بر گرم)	1.408b	1.629a	1.634a	1.692a	1.538b	1.442b

میانگین‌هایی، در هر ردیف و برای هر عامل، که دارای حرف یکسان می‌باشد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each row and for each factor, followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

هوایی و ریشه بمیزان ۴۰/۸٪، ۲۳/۹٪ و ۴۱٪ کاهش یافتند (جدول ۲). نتایج این تحقیق نشان داد که به موازات کاهش درصد کلنیزاسیون ریشه، رشد گیاه نیز چه در شرایط تنش رطوبتی و چه در شرایط غیر تنش کاهش یافت. به عبارت دیگر یک رابطه مثبت بین درصد کلنیزاسیون ریشه و افزایش رشد گیاه برقرار بود.

کاهش مشاهده شده در رشد اندام هوایی و ریشه گیاه در شرایط تنش رطوبتی را می‌توان در نتیجه همین کاهش کلنیزاسیون ریشه و کاهش جذب عناصر معدنی دانست. سایر محققین نیز به کاهش درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه در شرایط تنش رطوبتی اشاره نموده‌اند (Al-Karaki *et al.*, 1998). تاثیر سوء تنش خشکی بر رشد ریشه بیش از اندام هوایی بود (جدول ۲)، که این امر ممکن است ناشی از افزایش در مقاومت مکانیکی خاک (Whitmore and Whalley, 2009) و یا همراه با یک کاهش در هدایت هیدرولیکی ریشه باشد (Ladjal *et al.*, 2005). روند مشابهی مانند وزن خشک گیاه برای ارتفاع، تعداد برگ و قطر طوقه گیاه ملاحظه گردید. با این وجود، تاثیر منفی تنش خشکی بر قطر طوقه کمتر از ارتفاع و تعداد برگ بود (جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- کلنی‌سازی ریشه، شاخص‌های رشد، کلروفیل برگ و غلظت فسفر پایه مرکبات مکزیکن لایم تحت تاثیر اثر متقابل × تنش خشکی و قارچ میکوریزی

Table 3. Root colonization, growth parameters, leaf chlorophyll and P concentration of *Citrus* aurantifolia rootstock as affected by drought stress × mycorrihza interaction

Traits	صفات	Drought stress تنش خشکی								
		شاهد Control			ملایم Mild			شدید Severe		
		NM	Mm	Mi	NM	Mm	Mi	NM	Mm	Mi
Colonization (%)	کلنیزاسیون (٪)	9.800f	42.630a	36.830b	7.310g	30.600c	29.450c	4.200h	20.200d	16.800e
Leaf dry weight (g plant^{-1})	وزن خشک برگ (گرم در گیاه)	0.850e	1.960a	1.630bc	0.720e	1.850ab	1.240d	0.570e	1.420cd	1.160d
Shoot dry weight (g plant^{-1})	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گیاه)	1.260e	2.940a	2.380bcd	1.020e	2.440b	2.030cd	0.890e	2.400bc	2.020d
Root dry weight (g plant^{-1})	وزن خشک ریشه (گرم در گیاه)	0.520d	1.170c	0.970a	0.390e	0.907c	0.800b	0.330e	0.860c	0.700c
Chlorophyll (SPAD)	کلروفیل (SPAD)	27.900bc	39.600a	40.900a	25.300c	27.200bc	34.200ab	24.900c	22.900c	26.400c
Plant height (cm)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	26.700c	46.600a	35.600b	25.900c	32.000b	31.900b	22.200c	25.700c	23.700c
Stem diameter (mm)	قطر ساقه (میلی‌متر)	3.830de	6.050a	5.750ab	3.310ef	5.250b	5.230b	3.140f	4.510c	3.980cd
Leaf number plant^{-1}	تعداد برگ در هر گیاه	26.300ef	53.300a	46.800b	21.300fg	38.500c	43.800bc	20.300g	32.500d	29.300de
Leaf P concentration (mg g^{-1})	غلظت فسفر برگ (میلی‌گرم بر گرم)	1.587abc	1.712ab	1.778a	1.362cd	1.685ab	1.490bcd	1.275d	1.490bcd	1.560abc

میانگین‌هایی، در هر ردیف و برای هر عامل، که دارای حرف یکسان می‌باشد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each row and for each factor, followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability leve-using Duncan's Multiple Range Test.

NM: Non- mycorrihza, M_m: *G. mosseae*; M_i: *G. intraradices*

Archive of SID

www.SID.ir

تلقیح ریشه‌ها با هر دو گونه قارچ بطور معنی‌داری وزن خشک برگ، اندام هوایی و ریشه را افزایش داد (جدول ۲). نتایج مشابهی برای مرکبات گزارش گردیده است (Wu and Xia, 2004; Wu and Xia, 2006a; Wu and Xia, 2006b). در ارتباط با سایر شاخص‌های رشد نیز همین نتیجه مشاهده شد، بجز در مورد قطر طوقه، تعداد برگ و نیز مقدار نسبی کلروفیل برگ که تاثیر هر دو نوع قارچ برآنها از لحاظ آماری یکسان بود.

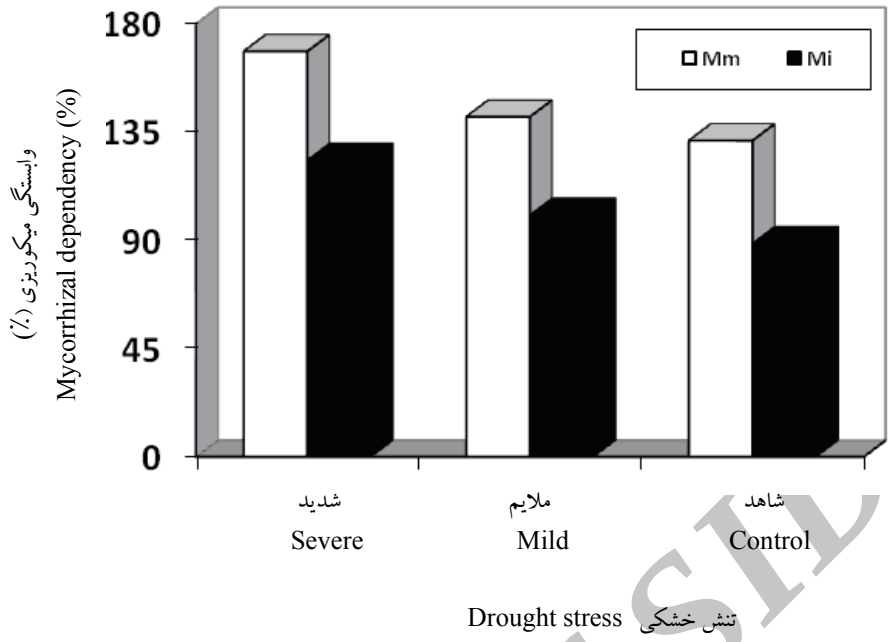
در ارتباط با سایر شاخص‌ها، گونه M_mبرتری معنی‌داری نشان داد که بالاتر بودن این اثر توسط گونه مذکور در نتیجه بالاتر بودن درصد ریشه کلنیزه شده توسط این گونه بود (جدول ۲). در همه سطوح رطوبتی خاک، تلقیح با قارچ، بویژه توسط گونه M_m، کاهش قابل ملاحظه‌ای بر اثرات سوء تنش خشکی، وزن خشک برگ، اندام هوایی و ریشه ایجاد کرد (جدول ۳). محققین دیگری نیز در نتایج خود به وجود چنین رابطه مثبتی اشاره نموده‌اند (Al-Karaki *et al*., 1998; Clark and Zeto, 1996). البته در بعضی تحقیقات صورت گرفته چنین رابطه مثبتی بین درصد کلنیزاسیون ریشه و افزایش رشد و عملکرد گیاه برقرار نبوده است (El-Kherbawy *et al*., 1989).

سازوکارهای مختلفی برای تخفیف اثر منفی تنش خشکی بر شاخص‌های رشد گیاهان میکوریزایی شده عنوان گردیده است که از جمله آنها به افزایش پتانسیل آب برگ، آهنگ جذب و ترکیب گاز کربنیک و آهنگ تعرق (Amerian *et al*., 2001)، اصلاح تغذیه فسفر گیاه میزبان (Bethlenfalvay *et al*., 1988)، افزایش جذب آب بوسیله ریسه‌ها (Faber *et al*., 1991)، افزایش دانسیته طول ریشه (Bryla and Duniway, 1997) و تنظیم اسمزی بوسیله افزایش جذب نمک‌های محلول کلسیم، پتاسیم و منیزیم و نیز قندها و نشاسته قابل حل در برگ‌ها (Wu and Xia, 2006a) می‌توان اشاره نمود. بنظر می‌رسد در این تحقیق اصلاح تغذیه فسفر گیاه عامل اصلی افزایش رشد مرکبات بود چون مقدار فسفر بومی خاک پایین بود. بنا به نظر فیتر (Fitter, 1988) تاثیر قارچ‌های میکوریزا بر روابط آبی گیاه ممکن است پیامد ثانویه افزایش تغذیه فسفر گیاه میزبان باشد. برای مثال دی و آلن (Di and Allen, 1991) تاثیر شش رقم قارچ میکوریزا (*Glomus spp.*) را بر دو گونه گیاه از جنس آگروپیرون (Agropyron) بررسی نموده و نتیجه گرفتند که تحت شرایط تنش خشکی کارایی مصرف آب (WUE) افزایش یافت. ایشان این افزایش را به تغذیه بهتر فسفر توسط گیاهان همزیست نسبت دادند.

بدون توجه به تیمارهای رطوبتی، این پایه مرکبات وابستگی شدیدی به هریک از دو گونه قارچ نشان داد (شکل ۱). تصور بر این است که توانایی یک گیاه برای جذب فسفر از خاک‌های با فسفر پایین، فاکتور اصلی سهیم در وابستگی

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- اثر تلقیح با قارچ میکوریزی و تنش خشکی بر میزان وابستگی میکوریزایی.

Fig. 1. Effect of mycorrihzal inoculation and drought stress on mycorrhizal dependency.
Mn: Glomus mosseae; Mi: Glomus intraradices

میکوریزایی است (Mosse, 1973). وابستگی میکوریزایی با M_m بیش از وابستگی آن با M_i (۱۴۷/۲٪ در مقابل ۱۰۴/۵٪) بود. میانگین وابستگی میکوریزایی تحت شرایط بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید، بدون توجه به نوع قارچ تلقیح شده، بترتیب ۱۱۰/۲٪، ۱۲۱٪ و ۱۴۶٪ بود، که نشان دهنده این است که با افزایش تنش خشکی وابستگی میکوریزایی افزایش یافته است. با افزایش تنش خشکی وابستگی میکوریزایی گیاه با هر دو گونه قارچ نیز افزایش یافت، با این وجود وابستگی گیاه به M_m بیش از M_i بود (شکل ۱). یک همبستگی منفی بین وزن خشک ریشه و وابستگی میکوریزایی تحت هر دو سطح تنش و برای هر دو گونه قارچ ملاحظه گردید. بیلیس (Baylis, 1974) پیشنهاد کرد که طول ریشه‌های مویین می‌تواند شاخصی از درجه وابستگی میکوریزایی باشد. یعنی ریشه‌های مویین کوتاه درجه وابستگی نسبتاً بالاتری در مقایسه با ریشه‌های مویین بلند نشان می‌دهند. از آنجایی که وزن خشک ریشه با طول ریشه‌های مویین تناسب مستقیم داشته و در این تحقیق با افزایش تنش خشکی وزن خشک ریشه کاهش یافت، بنابراین می‌توان افزایش وابستگی میکوریزایی را با افزیش تنش خشکی تا حدی توجیه نمود.

تنش خشکی سبب کاهش غلظت فسفر برگ شد و با افزایش سطح تنش این کاهش

Archive of SID
www.SID.ir

بیشتر بود. تحت تنش ملایم و شدید بترتیب غلظت فسفر به میزان ۱۰٪ و ۱۷/۳٪ کاهش یافتند (جدول ۳). صرفنظر از تیمارهای رطوبتی، تلقیح با هر دو گونه قارچ توانست جذب فسفر را بطور معنی‌داری افزایش دهد (جدول ۳). تلقیح با قارچ های M_m و M_i تحت تنش ملایم و شدید خشکی نسبت به شرایط بدون تنش، بترتیب غلظت فسفر برگ را به میزان ۲۳/۷٪ ، ۱۶/۹٪ و ۹/۴٪ ، ۲۲/۴٪ افزایش دادند (جدول ۳). اصلاح تغذیه فسفر توسط قارچ‌های میکوریزا در طی دوره‌های خشکی سازوکاری اولیه برای افزایش مقاومت به خشکی گیاهان میزبان فرض شده است (Subramanian *et al.*, 1997).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر آشکار ساخت که یکی از سازوکارهای مهم قارچ‌های میکوریزایی در افزایش رشد پایه مرکبات مکزیکن لایم افزایش جذب فسفر توسط گیاه بود، بویژه تحت شرایطی که فسفر بومی خاک پایین باشد. دیگر اینکه کارایی قارچ میکوریزای M_m (*Glomus mossea*) در میزان کلنی‌سازی ریشه و رشد رویشی این گیاه بیش از M_i (*Glomus intraradices*) است. بعبارت دیگر وابستگی میکوریزایی پایه مکزیکن لایم به این گونه قارچ بیشتر بود (شکل ۱) که این امر مربوط به تفاوت در ویژگی‌های این دو گونه قارچ، در برقراری ارتباط همزیستی با این پایه مرکبات می‌باشد (جدول ۳). علاوه بر این ممکن است سازوکارهای دیگر مانند بهبود جذب برخی عناصر غذایی دیگر نظیر پتاسیم و کلسیم که علاوه بر نقش تغذیه‌ای در تنظیم اسمزی نیز دخالت دارند و نیز بهبود جذب برخی عناصر کم مصرف و یا برخی تغییرات زیست شیمیایی در گیاهان میکوریزایی شده در این امر دخیل باشند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کنند که کلنی‌سازی میکوریزایی سبب افزایش رشد و مقاومت به خشکی در مرکبات می‌شود. پیشنهاد می‌گردد برای دسترسی به نتایج قطعی‌تر، این آزمایشات در سطح مزرعه و بر روی پایه‌های بیشتری از مرکبات نیز انجام شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات کلیه کارکنان ایستگاه تحقیقات کشاورزی داراب که در اجرای این پژوهش یاری رساندند سپاسگزاری می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

References

Al-Karaki, G. N., Al-Raddad, A., and Clarck, R. B. 1998. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance. Mycorrhiza 7: 83-88.

Amerian, M. R., Stewart, W. S., and Griffiths, H. 2001. Effect of two species of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, assimilation and leaf water relations in maize (*Zea mays*). Aspects of Applied Biology 63: 71-76.

Auge, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11:3-42.

Baylis, G. T. S. 1974. The magnoloid mycorrhiza and mycotrophy in root system drived from it. Pp. 373-389. In: Sanders, F. E., Mosse, B. and Tanker, P. B. (eds.). Endomycorrhizae.

Bethlenfalvay, G. J., Brown, M. S., Ames, R. N., and Thomas, R. S. 1988. Effects of drought on host and endophyte development in mycorrhizal soybeans in relation to water use and phosphate uptake. Physiologia Plantarum 72: 565-571.

Bryla, D. R., and Duniway, J. M. 1997. Growth, phosphorus uptake, and water relations of safflower and wheat infected with an arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytology 136: 581-590.

Clark, R. B., and Zeto, S. K. 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. Soil Biology and Biochemistry 28: 1405-1503.

Davies, F. T., Potter, J. R., and Linderman, R. G. 1992. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P-concentration response in gas exchange and water relations. Physiologia Plantarum 87: 45-53.

Di, J. J., and Allen, E. B. 1991. Physiological responses of six wheatgrass cultivars to mycorrhizae. Journal of Range Management 44: 336-341.

El-Kherbawy, M., Angle, J. S., Heggo, A., and Chaney, R. L. 1989. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Biology and Fertility of Soils 8: 61-65.

Archive of SID

www.SID.ir

Faber, B. A., Zasoske, R. J., Munns, D. N., and Shackel, K. 1991. A method for measuring hyphal nutrition and water uptake in mycorrhizal plants. Canadian Journal of Botany 69: 87-94.

Fitter, A. H. 1988. Water relations of red clover *Trifolium pretense* L. as affected VA mycorrhizal infection and phosphorous supply before and during drought. Journal of Experimental Botany 39: 595-603.

Georg, E., Haussler, K., and Kothari, S. K. 1995. Role of arbuscular mycorrhiza fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. Critical Review in Biotechnology 15: 257-270.

Graham, J. H., Linderman, R. G., and Menge, J. A. 1982. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus* Spp. in relation to root colonization and growth of *Troyer citrange*. New Phytologist 91: 183-189.

Jacobsen, I., Abbott, L. K., and Robson, A. 1992. External hyphae of vesiculararbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trofoluim subterraneum* L. I. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. New Phytologist 120: 371-380.

Khalvati, M. A. 2005. Quantification of water uptake of hyphae contributing to barely subjected to drought condition. Ph. D. Thesis. Technischen Universitat Munchen, Danmark.

Kleinschmidt, G. D., and Gerdemann, **J. W. 1972**. Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhizae. Phytopathology 62: 1447-1452.

Ladjal, M., Huc, R., and Ducrey, M. 2005. Drought effects on hydraulic conductivity and xylem vulnerability to embolism in diverse species and provenances of Mediterranean cedars. Tree Physiology 25: 1109 –1117.

Manjunath, A., Mohan, R., and Bagyaraj, D. J. 1983. Response of citrus to vesicular-arbuscular mycorrhiza inoculation in unsterile soil. Canadian Journal of Botany 61: 2729-2732.

Mosse, 1973. Plant growth responces to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. New Phytologist 72: 127-

Mukerji, K. G., and Chamola, **B. P. 2003**. Compendium of mycorrhizal research. A. P. H. Poblisher, New Delhi. 310 pp.

Archive of SID

www.SID.ir

Nemec, S. 1978. Response of six citrus rootstocks to three species of *Glomus*, a mycorrhizal fungus. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 91: 10-14.

Osonubi, O., Mulongoy, K., Awotoye, O. O., Atayese, M. O., and Okali, D. U. U. 1991. Effects of ectomycorrhiza and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on drought tolerance of for leguminouse woody seedlings. Plant and Soil 136: 131-143.

Phillips, J. M., and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures clearing roots and staining parasitic and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transaction of British Mycological Society 55: 158-161.

Rejali, F. 2001. Preparation of arbuscular mycorrhiza fungi inoculation by invitro method and investigation the effect of its on nutrients uptake in wheat plant with drought stress. Ph. D. Thesis. University of Tarbiat Modares, Tehran. 220 pp. (In Persian).

Subramanian, K. S., and Charest, C. 1997. Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. Mycorrhiza 7: 25-32.

Subramanian, K. S., Charest, C., Dwyer, L. M., and Hamilton, R. I. 1997. Effect of arbuscular mycorrhizae on leaf water potential, sugar content and P content during drought and recovery of maize. Canadian Journal of Botany 75: 1583-1591.

Subramanian, K. S., Santhanakrishnan, P., and Blasubramanian, **P. 2006**. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhyzal fungal colonization under varying intensities of drought stress. Scientia Horticulturae 107: 245-253.

Sylvia, D. M., Hammond, L. C., Bennett, J. M., Haas, J. H., and Linda, **S. B. 1993**. Field response of maize to a VAM fungus and water management. Agronomy Journal 85: 193-198.

Sylvia, D. M., and Williams, S. E. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. Pp. 101-124. In: Bethlenfalvay G. J., and Linderman, R. G. (eds.). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Special Publication No. 54, Madison Wisconsin.

Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. Journal of Ecology 63: 995-1001.

Archive of SID

www.SID.ir

Turk, M. A., Assaf, T. A., Hameed, K. M., and Tawaha, A. M. 2006. Significance of mycorrhizae. World Journal of Agricultural Science 2:16-20.

Vinayak, K., and Bagyaraj, D. J. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizae screened for Troyer citrange. Biology and Fertility of Soils 9: 311-314.

Whitmore, A. P., and Whalley, W. R. 2009. Physical effects of soil drying on roots and crop growth. Journal of Experimental Botany 60(10): 2845-2857.

Wu, Q. S., and Xia, R. X. 2004. Effects of Arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and osmotic adjustment matter content of trifoliate orange seedlings under water stress. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 30: 583-588.

Wu, Q. S., and Xia, **R. X. 2006a**. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology 163(4): 417-425.

Wu, Q. S., and Xia, **R. X. 2006b**. Effects of water stress and Arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tanjerin*) roots. European Journal of Soil Biology 42(3): 166-172.

Archive of SID

www.SID.ir