

تأثیر دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار در شرایط کمبود عناصر کم مصرف بر pH آبشویه در طول رشد رویشی گیاهان سورگوم و گوجه‌فرنگی

ابراهیم شیرمحمدی¹، ناصر علی اصغرزاد²

(تاریخ دریافت: 1393/1/17 تاریخ پذیرش: 1393/8/19)

چکیده

در اغلب موارد کلنیزاسیون ریشه گیاهان با قارچ‌های میکوریز باعث افزایش جذب عناصر کم مصرف می‌شود. برای تشخیص مکانیسم جذب عناصر کم مصرف توسط قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، اندازه‌گیری pH آبشویه میکوریز که معیاری از اسیدی یا قلیایی شدن ریشه‌سپهر و هیف‌سپهر است، ضروری به نظر می‌رسد. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل قارچ میکوریز آربوسکولار با گونه‌های *Glomus*، *Glomus etunicatum* و *intraradices* و شاهد، فاکتور دوم شامل محلول غذایی راریسون با غلظت‌های صفر، نصف و کامل از عناصر کم مصرف، و فاکتور سوم، زمان سنجش pH آبشویه‌ها که شامل 45، 65 و 85 روز پس از کشت بود. گیاهان گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Miller) و سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) در پرلینت استریل کشت شده و با قارچ‌های گلوموس اتونیکاتوم یا گلوموس اینترادیسز تلقیح شدند، در حالی که تیمار شاهد فاقد همزیستی میکوریزی بود. از محلول غذایی راریسون با سه سطح صفر، نصف و کامل از عناصر کم مصرف، در طول رشد رویشی گیاهان استفاده شد. pH آبشویه‌ها نیز 45، 65 و 85 روز پس از کشت گیاهان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که کلنیزاسیون ریشه سورگوم با قارچ‌های گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز به ترتیب 43 و 37 درصد بود. برخلاف گیاهان سورگوم، همزیستی میکوریزی در گیاهان گوجه‌فرنگی مشاهده نشد. pH آبشویه‌های گیاهان میکوریزی کمتر از غیرمیکوریزی بود. در این زمینه قارچ گلوموس اینترادیسز کارا تر از گلوموس اتونیکاتوم بود. سطح صفر عناصر کم مصرف باعث کاهش pH آبشویه شد. 65 روز پس از کشت، آبشویه‌ها کمترین مقدار pH را داشتند. در تمامی تیمارها pH آبشویه بیشتر از 7/6 بود. به نظر می‌رسد که عامل اصلی این پدیده تغذیه نیتراتی گیاهان است. زیرا نیترات بیشترین منبع ازت در محلول غذایی راریسون را تشکیل می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: گلوموس اتونیکاتوم، گلوموس اینترادیسز، عناصر کم مصرف، pH آبشویه گیاهان

1- گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه زابل (مکاتبه کننده)

پست الکترونیک: ibrahim_13000@yahoo.com

2- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مقدمه

گیاهان غالباً از استراتژی‌های I و II جهت جذب عناصر فلزی بهره‌مند می‌شوند، استراتژی I که بیشتر در گیاهان غیر گرامینه دیده می‌شود، شامل احیای عناصر فلزی در سطح ریشه این گیاهان (Bienfait, 1985)، ترشح پروتون و اسیدهای آلی به ریزوسفر (Landsberg, 1981; Romheld et al., 1984; Ric et al., 1986) و توسعه سیستم ریشه‌ای (Rosenfield et al., 1991) می‌باشد. اما استراتژی II که بیشتر در گیاهان گرامینه دیده می‌شود شامل ترشح فیتوسیدروفورها است که با تشکیل کمپلکس‌های قوی با عناصر فلزی سبب افزایش جذب این عناصر توسط گیاهان می‌گردند (Takagi et al., 1984; Mihashi et al., 1991; Romheld, 1991).

همزیستی میکوریزی یکی از گسترده‌ترین و قدیمی‌ترین روابط همزیستی بین ریشه گیاهان و قارچ‌ها می‌باشد که قدمت آن به بیش از 400 میلیون سال پیش برمی‌گردد (Remy et al., 1994) و بیش از 80 درصد گونه‌های گیاهان عالی این نوع همزیستی را دارند. مهم‌ترین نوع قارچ‌های اندومیکوریز که با اغلب گیاهان زراعی و باغی همزیستی ایجاد می‌کنند، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌باشند که به اختصار قارچ‌های AM نامیده می‌شوند (Miyasaka et al., 2003). تحقیقات نشان می‌دهد که در اکثر موارد تلقیح ریشه گیاهان با این قارچ‌ها، رشد گیاهان افزایش می‌یابد (Goh et al., 1997; Subramanian & Charest, 1997). به نظر می‌رسد عمده‌ترین تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر رشد گیاهان از طریق افزایش جذب عناصر غذایی است (Powell & Bagraraj, 1984). اثر مستقیم قارچ‌های میکوریز بر افزایش جذب فسفر (Sanders & Tinker, 1973; Schreiner, 2007) پتاسیم (Manoharan et al., 2008)، آهن (Clark & Zeto, 1996; Caris et al., 1998) و مس (Lee & George, 2005; Schreiner, 2007) توسط گیاهان میکوریزی به اثبات رسیده است. بعضی از محققان افزایش جذب این عناصر را تفسیر نکرده‌اند و بعضی دیگر معتقدند ریشه‌های میکوریزی بعلت پخش شدن هیف‌های این قارچ‌ها در خاک اطراف ریشه به حجم زیادی از خاک و عناصر دسترسی دارند (Sanders & Tinker, 1973). همچنین پایین بودن غلظت آستانه جذب در میکروارگانیزم باعث می‌شود که این قارچ‌ها بتوانند در غلظت‌های بسیار پایین

نیز این عناصر را جذب کنند. از طرفی سرعت انتقال عناصر در هیف‌های قارچ میکوریز نسبت به خاک بیشتر است (Bolan, 1991). زیرا اغلب عناصر در محیط‌های خاکی تحت تأثیر واکنش‌های خاک قرار می‌گیرند که حتی این عامل ممکن است مانع رسیدن بعضی عناصر به گیاهان شود. کایرنی و آشفورد (Gianinazzi-Pearson et al., 1989) اظهار داشتند که ریشه‌های میکوریزی قادر به احیای فریک EDTA و اکسیدهای منگنز هستند که این مکانیسم باعث افزایش حلالیت آهن، منگنز و فراهمی آن‌ها در خاک می‌شود ولی ریشه‌های غیر میکوریزی این توانایی را نداشتند. همچنین علی‌اصغرزاد و همکاران (Aliasgharзад et al., 2009) بیان نمودند که ترشح سیدروفور و یا فیتوسیدروفور از واحد حجم ریشه در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیر میکوریزی است که این مکانیسم می‌تواند جذب آهن را افزایش دهد. علاوه بر این برخی نیز معتقدند که ترشح پروتون و سایر ترکیبات اسیدی از ریشه گیاهان میکوریزی افزایش می‌یابد و با این مکانیسم قابلیت فراهمی و جذب بسیاری از عناصر برای این گیاهان مهیا می‌گردد (Angle et al., 1989; Cairney & Ashford, 1989). ولی سازوکارهای دقیق این فرآیند کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین برای سنجش دقیقتر پتانسیل قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در این زمینه، بررسی سازوکارهای ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون از ریشه‌های میکوریزی در طول دوره رشد گیاه حائز اهمیت است. چون پروتون و سایر ترکیبات اسیدی به همراه دیگر ترشحات ریشه‌ای و میکروبی به محیط ریزوسفر آزاد می‌شود، بنابراین اندازه‌گیری pH آبشویه می‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی این سازوکار باشد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی بستر کشت

برای آماده‌سازی بستر کشت ابتدا پرلیت دانه‌ریز درون کیسه‌های پلاستیکی دارای منافذ نیم میلیمتری ریخته شدند و با آب معمولی شسته شده و پس از خروج آب ثقلی، بمدت 24 ساعت در اسید هیدروکلریک یک مولار غوطه‌ور گردیدند. پس از سپری شدن زمان مذکور و خروج کامل اسید، کیسه‌های پرلیت به مدت یک شبانه روز در آب مقطر غوطه‌ور شدند. این مرحله مجدداً به مدت 12 ساعت تکرار گردید. برای خنثی کردن اسیدیته پرلیت،

500 mL آب مقطر، محلول C: 57/69 گرم،
 500 mL آب مقطر، محلول D:
 0/099 گرم $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ، 0/046 گرم
 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، 6/25 گرم Fe-EDTA، 0/716
 گرم H_3BO_3 ، 0/56 گرم $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ و 0/11
 گرم $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، مجموعاً در 500 mL آب مقطر،
 محلول E: 20/85 گرم KCl در 500 mL آب مقطر.

طرح آزمایشی

آزمایش به صورت فاکتوریل (سه فاکتور) 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، گلوموس اینترادایسز و شاهد، و فاکتور دوم شامل محلول غذایی راریسون با غلظت‌های صفر، نصف و کامل از عناصر کم‌مصرف، و فاکتور سوم، زمان سنجش pH آبشویه‌ها که شامل 45، 65 و 85 روز پس از کشت بود؛ در سه تکرار، مجموعاً 81 واحد آزمایشی را برای هر گیاه تشکیل دادند. این آزمایش برای گیاهان گوجه‌فرنگی و سورگوم بطور جداگانه انجام شد. که در هر کدام از این واحدها برای گیاهان گوجه‌فرنگی و سورگوم به ترتیب یک و سه بوته وجود داشت. تجزیه آماری نتایج با نرم‌افزار MSTATC صورت گرفت و تمامی مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد ($P < 0/05$) انجام شدند.

کاشت گیاه و اعمال تیمارها

گلدان‌های حاوی پرلیت در اتوکلاو (دمای 121 درجه سلسیوس، فشار یک بار و به مدت یک ساعت) استریل شدند و به هر یک از آنها 60 گرم مایه تلقیح قارچی اضافه شد (درصد کلنیزاسیون ریشه در مایه‌های تلقیح قارچ گلوموس اتونیکاتوم 65 درصد و قارچ گلوموس اینترادایسز 53 درصد بود. در تیمار شاهد نیز از مایه تلقیح‌های دو بار استریل در اتوکلاو استفاده شد). سپس برای گیاهان گوجه‌فرنگی و سورگوم به ترتیب سه و نه بذر جوانه‌زده در هر یک از واحدهای آزمایشی کاشته شد و با مایه قارچ‌های گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادایسز تلقیح شدند. بعد از گذشت دو هفته واحدهای آزمایشی تنک شدند و در هر گلدان برای گیاهان گوجه‌فرنگی و سورگوم به ترتیب یک و سه بوته باقی ماند. گیاهان به

کیسه‌ها به سطل آب مقطر منتقل شدند سپس هیدروکسیدسدیم نیم مولار (قطره قطره و همراه با هم‌زدن آب بوسیله کیسه‌های پرلیت دار) به آن اضافه شد تا pH آبی که کیسه‌ها در آن غوطه‌ور هستند به 7 برسد. این کار چهار بار با فاصله‌های زمانی یک ساعت تکرار شد. سپس به مدت یک شبانه روز تا تثبیت pH آنها در حدود 7 - 6/5 در محلول قلیایی باقی ماندند و پس از شستشو با آب مقطر و به منظور یکنواخت نمودن pH، پرلیت‌های اسید شویی شده کاملاً با یکدیگر مخلوط شده و به گلدان‌های پلاستیکی اسید شویی شده‌ای (24 ساعت در اسید هیدروکلریک یک مولار و شستشو با آب مقطر) که در کف آنها فیلترهایی از جنس توری نایلونی با منافذ ریز تعبیه شده بود، اضافه شدند.

آماده سازی بذر

بذر گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Miller) و سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) به مدت 10 دقیقه در محلول وایتکس 10 درصد ضدعفونی و با آب مقطر استریل شستشو شدند. سپس داخل پتری‌دیش بین دو کاغذ صافی مرطوب و استریل در ژرمیناتور نگهداری شدند و به محض جوانه‌زنی، به واحدهای آزمایشی منتقل شدند.

محلول غذایی

برای تهیه محلول غذایی راریسون با غلظت صفر عناصر کم‌مصرف از هر یک از محلول‌های A، B و C، 20 میلی‌لیتر برداشته و به حجم 10 لیتر رسانده شد. همچنین برای تهیه این محلول با غلظت‌های نصف و کامل عناصر کم‌مصرف، علاوه بر مقادیر 20 میلی‌لیتری از هر یک از محلول‌های A، B و C، به ترتیب 10 و 20 میلی‌لیتر نیز از محلول D استفاده شد. برای تهیه این محلول با نصف غلظت فسفر و یک چهارم عناصر کم‌مصرف نیز 20 میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های A و B، 10 میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های C و E، و 5 میلی‌لیتر از محلول D، به حجم 10 لیتر رسانده شد. pH محلول‌های ساخته شده نیز بوسیله HCl یا NaOH 0/1 نرمال در 6/5 تنظیم گردید (Merryweather & Fitter, 1991).

محلول‌های اصلی شامل ترکیبات زیر می‌باشد.
 محلول A: 62/01 گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ در 500 mL آب مقطر، محلول B: 119/02 گرم $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ در

محلول رنگ بر لاکتوگلیسیرین (شامل آب، گلیسرین و اسید لاکتیک به ترتیب با نسبت حجمی 14:1:1) بر روی ریشه‌ها اضافه گردید. پس از گذشت یک ساعت، نمونه‌ها برای مشاهده میکروسکوپی آماده بودند (Kormanik & McGraw, 1982; Grace & Stribley, 1991). جهت تعیین درصد کلینزاسیون ریشه‌ها از روش تلاقی خطوط شبکه (Gridline-Intersect Method) استفاده شد. بدین صورت که ریشه‌های رنگ آمیزی شده داخل پتری دیش-های مشبک (ابعاد شبکه $5 \times 5 \text{mm}^2$) به صورت تصادفی پخش شدند. سپس در زیر لوپ (Binocular) با بزرگنمایی (25x)، درصد نقاط تلاقی قطعاتی از ریشه که دارای اندام-های میکوریزی بودند، تعیین گردیدند (Giovannetti & Mosse, 1980).

نتایج و بحث

pH آبشویه گیاه گوجه فرنگی

در تمامی ترکیبات تیماری گیاه گوجه‌فرنگی همزیستی میکوریزی مشاهده نگردید. لازم به ذکر است، این آزمایش دو مرتبه و به مدت 45 و 85 روز با دو رقم متفاوت گوجه‌فرنگی تکرار شد ولی در هر دو مورد نتایج مشابه حاصل گردید. موانگی و همکاران (Mwangi *et al.*, 2011) در آزمایشی گلدانی با بستر خاک استریل شده درصد کلینزاسیون ریشه گیاه گوجه‌فرنگی با قارچ‌های میکوریز را 65/1 تا 73/2 درصد گزارش کردند؛ که نشان دهنده توان بالای این گیاه در ایجاد همزیستی میکوریزی در بسترهای خاکی می‌باشد. برای ایجاد همزیستی میکوریزی گیاهان یکسری ترکیبات فلاونوئیدی (سیگنال‌های شیمیایی) به محیط اطراف ریشه ترشح می‌کنند که این مواد باعث تحریک جوانه‌زنی اسپورها و رشد هیف‌های قارچ میکوریز می‌شود (Becard *et al.*, 1992; Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1989). به نظر می‌رسد که در بستر کشت پرلیت، به-دلیل عدم تبادل سیگنال‌های شیمیایی بین اندام‌های قارچی و ریشه، ایجاد همزیستی میکوریزی در گیاه گوجه-فرنگی امکانپذیر نیست.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثرات اصلی قارچ و اثرات متقابل قارچ و محلول غذایی در سطح احتمال پنج درصد بر pH آبشویه گیاه گوجه‌فرنگی معنی-دار است. همچنین اثرات اصلی محلول غذایی، زمان و نیز اثرات متقابل قارچ و زمان در سطح احتمال یک درصد بر

مدت 25 روز از ابتدای کاشت، با محلول غذایی راریسون که غلظت فسفر به نصف و غلظت عناصر کم‌مصرف به یک‌چهارم تقلیل داده شده بود، تغذیه شدند. پس از اتمام این دوره، 50 سی‌سی در روز تیمارهای اصلی محلول‌های غذایی اعمال گردید و تا برداشت محصول ادامه یافت. برای تأمین شرایط رشد گیاه، درجه حرارت روز و شب به ترتیب حدود 28 ± 2 و 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد، طول دوره روشنایی 16 ساعت و شدت نور برای گیاهان گوجه-فرنگی و سورگوم به ترتیب 20000 و 14000 لوکس با نور لامپ‌های کم‌مصرف آفتابی در اتاقک رشد برقرار گردید (دستگاه نور سنج DIGITAL LIGHT METER PRO TES-1339 TAIWAN). لازم به ذکر است رطوبت گلدان‌ها با استفاده از آب مقطر به طریق وزنی در 70 درصد ظرفیت زراعی (FC) نگهداری شدند. پس از اعمال تیمارهای اصلی محلول غذایی، در زمان‌های 45، 65 و 85 روز پس از کشت، pH آبشویه با استفاده از دستگاه pH متر (pH METER HACH EC30 USA) برای هر یک از واحدهای آزمایشی اندازه‌گیری شد.

جمع آوری آبشویه ریشه‌ها

از آنجایی که ترکیبات اسیدی و پروتون همراه با سایر ترشحات ریشه‌ای به محیط ریزوسفر آزاد می‌شوند، لذا برای جمع آوری ترشحات ریشه‌ای، 45، 65 و 85 روز پس از کشت گلدان‌ها با دو حجم منفذی (Pore volume) از آب مقطر (2/5 لیتر) طی سه مرحله شستشو داده شدند و تمامی محلول خروجی از گلدان‌ها جمع‌آوری شد.

رنگ آمیزی و تعیین درصد کلینزاسیون ریشه‌ها

حدود یک گرم از ریشه‌های ظریف و ریز از هر گلدان انتخاب کرده و پس از شستشو با آب معمولی، به مدت یک ساعت در داخل لوله‌های حاوی هیدروکسید پتاسیم 8 درصد نگهداری شدند. سپس محلول داخل لوله‌ها با احتیاط خالی شده و پس از شستشوی ریشه‌ها با آب مقطر به مدت 3-5 دقیقه در اسید هیدروکلریک یک درصد قرار گرفت. پس از تخلیه اسید، بر روی ریشه‌ها محلول رنگی تریپان بلو (50 میلی‌گرم پودر تریپان بلو در 100 میلی‌لیتر محلول لاکتوگلیسیرین) اضافه گردید و حدود نیم ساعت در حمام آب گرم در دمای 90 درجه سلسیوس حرارت داده شد. سپس محلول رنگی تخلیه و

این صفت معنی دار می باشد. ولی اثرات متقابل محلول غذایی و زمان، و قارچ، محلول غذایی و زمان بر این صفت معنی دار نمی باشد (جدول 1).

جدول 1- تجزیه واریانس اثرات قارچ، محلول غذایی و زمان بر pH آبشویه گوجه فرنگی و سورگوم

Table 1- Variance analysis of the effects of fungi, nutrient solution and time on leachate pH of tomato and sorghum

منابع تغییر	Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات pH آبشویه MS of leachate pH	
			سورگوم	گوجه فرنگی
			sorghum	tomato
تکرار	Replication	2	0.02 [*]	0.00 ^{ns}
قارچ	Fungi	2	0.02 [*]	0.21 ^{**}
محلول غذایی	Nutrient solution	2	0.03 ^{**}	0.08 ^{**}
قارچ × محلول غذایی	Fungi×Nutrient solution	4	0.02 [*]	0.02 ^{ns}
زمان	Time	2	0.17 ^{**}	0.24 ^{**}
قارچ × زمان	Time×Fungi	4	0.02 ^{**}	0.16 ^{**}
محلول غذایی × زمان	Time× Nutrient solution	4	0.00 ^{ns}	0.01 ^{ns}
قارچ × محلول غذایی × زمان	Time× Nutrient solution× Fungi	8	0.01 ^{ns}	0.03 ^{ns}
خطا	Error	52	0.01	0.01
ضریب تغییرات (%)	Coefficient of Variation (%)		0.92	1.48

^{ns}، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد. تیمار قارچی شامل شاهد، گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز. تیمار زمان شامل 45، 65 و 85 روز پس از کشت.

تیمار محلول غذایی شامل محلول غذایی راریسون با غلظت های صفر، نصف و کامل عناصر کم مصرف.

ns, * and ** indicate non-significant and significant at (p<0.05) and (p<0.01) respectively. Fungi treatments include control, *Glomus etunicatum* and *Glomus intraradices*. Time treatments include 45, 65 and 85 days after sowing. Nutrient solution treatments include Rorison's nutrient solution with zero, half and full strength of micronutrients.

در سطح صفر و کامل عناصر کم مصرف میان تیمارهای مختلف قارچی (شاهد، گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز) اختلاف معنی داری وجود ندارد. ولی در سطح نصف عناصر کم مصرف، تیمار گلوموس اینترادیسز نسبت به تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم و شاهد، این صفت را بطور معنی داری کاهش داد. در تیمار شاهد سطح صفر نسبت به سطح نصف عناصر کم مصرف، و در تیمار قارچی گلوموس اینترادیسز سطوح صفر و نصف نسبت به سطح کامل عناصر کم مصرف، باعث کاهش معنی داری در این صفت شدند (جدول 2).

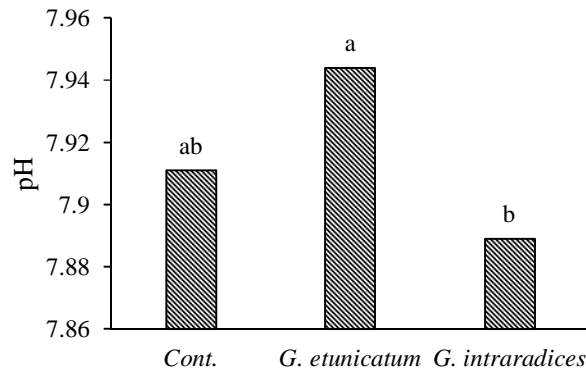
در تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز، 65 روز پس از کشت نسبت به زمان های 45 و 85 روز، pH آبشویه بطور معنی داری کاهش یافت. در تیمار شاهد نیز، در زمان 85 روز نسبت به 45 و 65 روز پس از کشت این صفت بطور معنی داری افزایش یافت. 45 روز پس از کشت، تیمار قارچی گلوموس اتونیکاتوم نسبت به تیمارهای قارچی گلوموس اینترادیسز و شاهد این صفت را بطور معنی داری افزایش داد. ولی 65 و 85 روز پس از کشت، تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم،

مقایسه میانگین داده ها نشان می دهد که تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز از نظر این صفت اختلاف معنی داری با تیمار شاهد ندارند؛ ولی تیمار قارچی گلوموس اینترادیسز نسبت به گلوموس اتونیکاتوم این صفت را بطور معنی داری کاهش داد (شکل 1).

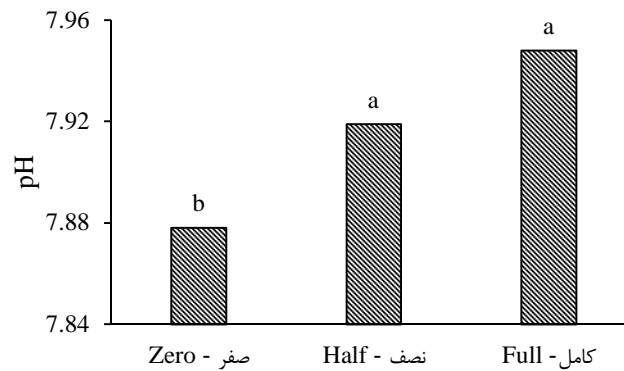
در حالی که سطوح نصف و کامل عناصر کم مصرف از نظر pH آبشویه اختلاف معنی داری ندارند؛ سطح صفر نسبت به سطوح نصف و کامل عناصر کم مصرف، این صفت را بطور معنی داری کاهش داد (شکل 2). در کمبود عناصر پرمصرف مانند فسفر و کم مصرف مانند آهن، روی و منگنز، گیاهان pH ریزوسفر خود را با ترشح پروتون و اسیدهای آلی کاهش می دهند (Dinkelaker *et al.*, 1989; Cakmak & Marschner, 1990). در آزمایش اخیر نیز به نظر می رسد که فقدان عناصر کم مصرف در محلول غذایی مورد استفاده باعث افزایش تحریک گیاهان به ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون شده، به نحوی که pH آبشویه بطور معنی داری کاهش پیدا کرده است. 65 و 85 روز پس از کشت ترکیبات تیماری مختلف گوجه فرنگی به ترتیب کمترین و بیشترین مقدار pH آبشویه را دارند (شکل 3).

میکوریز در مجاورت ریشه گیاه گوجه‌فرنگی با ترشح یکسری ترکیبات شیمیایی باعث تحریک این گیاهان شده است. چون امکان دارد نوع و مقدار پیام‌های شیمیایی صادر شده از سوی دو گونه قارچ میکوریز متفاوت باشد، گیاهان نیز در ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون رفتارهای متفاوتی از خود نشان می‌دهند.

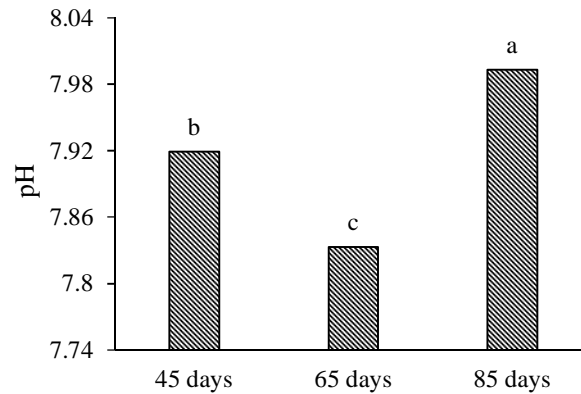
گلموس اینترادیسز و شاهد از نظر این صفت تفاوت معنی‌داری ندارند (جدول 3). مشاهده شدن هر گونه صفت در موجودات زنده از ابراز ژن یا مجموعه‌ای از ژن‌ها نشأت می‌گیرد که خود نیازمند وجود یکسری محرک‌ها می‌باشد. در این آزمایش نیز علی‌رغم مشاهده نشدن همزیستی میکوریزی، احتمالاً حضور اینوکلوم‌های قارچ



شکل 1- اثر گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار بر pH آبشویه گوجه‌فرنگی
Fig. 1- Effect of species of AMF on pH of tomato leachate



شکل 2- اثر سطوح عناصر کم مصرف بر pH آبشویه گوجه‌فرنگی
Fig. 2- Effect of micronutrient levels on pH of tomato leachate



شکل 3- اثر زمان پس از کشت (روز) بر pH آبشویه گوجه‌فرنگی
Fig. 3- Effect of time from sowing (day) on pH of tomato leachate

جدول 2- اثر گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار و سطوح عناصر کم‌مصرف بر pH آبشویه گوجه‌فرنگی

Table 2- Effect of species of arbuscular mycorrhizal fungi and micronutrient levels on leachate pH of tomato

شاهد	گلوبوس اتونیکاتوم	گلوبوس اینترادایسز	
Control	<i>G. etunicatum</i>	<i>G. intraradices</i>	
C ₀	7.90abc	7.88bc	7.86bc
C _{0.5}	7.97a	7.83c	7.96a
C ₁	7.97a	7.96a	7.92ab

C₀, C_{0.5} and C₁ به ترتیب نشان دهنده محلول‌های غذایی راریسون با غلظت‌های صفر، نصف و کامل عناصر کم‌مصرف. میانگین‌هایی که در هر ردیف و ستون دارای حروف مشابه هستند از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد ندارند. C₀, C_{0.5} and C₁ indicate Rorison's nutrient solution with zero, half and full strength of micronutrients respectively. Means in each column and row, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

جدول 3- اثر گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار و زمان بر pH آبشویه گوجه‌فرنگی

Table 3- Effect of species of arbuscular mycorrhizal fungi and time on leachate pH of tomato

شاهد	گلوبوس اتونیکاتوم	گلوبوس اینترادایسز	
Control	<i>G. etunicatum</i>	<i>G. intraradices</i>	
45 days after sowing	8.00a	7.90bc	7.86cd
65 days after sowing	7.84cd	7.80d	7.86cd
85 days after sowing	7.99a	7.97ab	8.02a

میانگین‌هایی که در هر ردیف و ستون دارای حروف مشابه هستند از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد ندارند.

Means in each column and row, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

pH آبشویه گیاه سورگوم

بطور متوسط درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه سورگوم با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم، گلوموس اینترادیسز و شاهد به ترتیب 43، 37 و صفر درصد بود.

با توجه به جدول 1، تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثرات اصلی سطوح قارچ، محلول غذایی و زمان، همچنین اثرات متقابل سطوح قارچ و زمان بر میزان pH آبشویه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است و اثرات متقابل قارچ و محلول غذایی، محلول غذایی و زمان، و قارچ، محلول غذایی و زمان بر این صفت معنی‌دار نمی‌باشد.

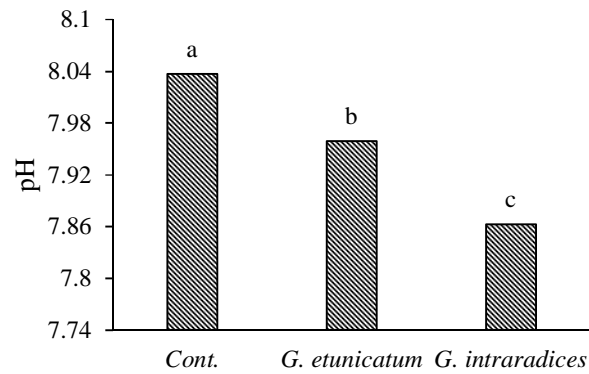
مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز نسبت به شاهد pH آبشویه را بطور معنی‌داری کاهش دادند؛ و کاهش این صفت در تیمار قارچی گلوموس اینترادیسز نسبت به گلوموس اتونیکاتوم، بطور معنی‌داری بیشتر است (شکل 4). یاعو و همکاران (Yao et al., 2001) بیان نمودند که بین افزایش فسفر جذب شده در گیاهان میکوریزی و سطوح پروتون ترشح شده از هیف‌های قارچ میکوریز آربوسکولار همبستگی معنی‌داری وجود دارد؛ و قارچ‌های میکوریز می‌توانند با ترشح پروتون pH هیف-سپهر را بیشتر از یک واحد کاهش دهند (Li et al., 1991). همچنین خیدانگ و همکاران (Ding et al., 2012) در آزمایشی که در بستر شن کوارتزی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که برهمکنش قارچ *Glomus mosseae* و ریزوبیوم *Bradyrhizobium japonicum* در گیاه سویا باعث افزایش ترشح پروتون و در نتیجه اسیدی شدن گره‌سپهر و هیف‌سپهر می‌شود. به نظر می‌رسد یکی از سازوکارهای اصلی افزایش جذب عناصر در گیاهان میکوریزی، ترشح ترکیبات اسیدی و پروتون از هیف‌های قارچ میکوریز است. استفاده از سطح نصف، نسبت به سطوح صفر و کامل عناصر کم‌مصرف بطور معنی‌داری این صفت را افزایش داد؛ این در حالی است که سطوح صفر و کامل عناصر کم‌مصرف از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند (شکل 5).

65 روز پس از کشت نسبت به زمان‌های 45 و 85 روز، pH آبشویه بطور معنی‌داری کاهش یافت؛ ولی از نظر این صفت زمان‌های 45 و 85 روز پس از کشت، اختلاف

معنی‌داری با یکدیگر ندارند (شکل 6). علی‌اصغرزاد و همکاران (Aliasgharzar et al., 2009) اظهار داشتند که تولید سیدروفور به ازای واحد حجم ریشه در تیمارهای میکوریزی افزایش یافت. همچنین تولید سیدروفور در 45 و 85 روز پس از کشت نسبت به 65 روز بیشتر بود. به نظر می‌رسد گیاهان در طول رشد خود از استراتژی‌های مختلفی با شدت‌های متفاوت برای جذب عناصر بهره می‌گیرند.

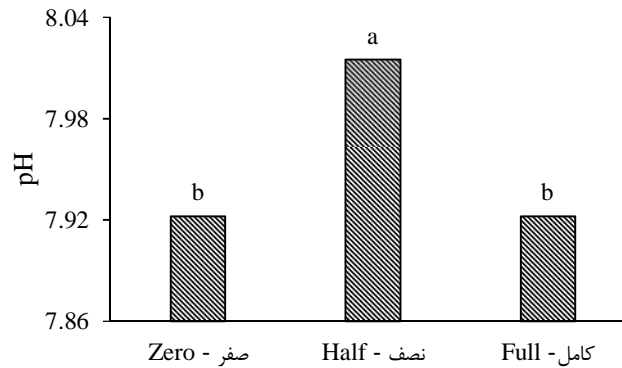
پس از گذشت 45 و 85 روز از کشت، میان تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم، گلوموس اینترادیسز و شاهد از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد؛ ولی 65 روز پس از کشت تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز نسبت به شاهد، pH آبشویه کمتری داشتند. همچنین در بین تیمارهای میکوریزی، تیمار قارچی گلوموس اینترادیسز نسبت به گلوموس اتونیکاتوم، این صفت را بطور معنی‌داری کاهش داد. در تیمار شاهد، زمان‌های 45، 65 و 85 روز پس از کشت از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند؛ ولی در تیمارهای قارچی گلوموس اتونیکاتوم و گلوموس اینترادیسز 65 روز پس از کشت نسبت به زمان‌های 45 و 85 روز پس از کشت، pH آبشویه بطور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (جدول 4).

بطور کلی pH آبشویه در تمامی ترکیب‌های تیماری گوجه‌فرنگی و سورگوم، بالاتر از 7/6 می‌باشد. به نظر می‌رسد دلیل اصلی این موضوع تغذیه نیتراتی گیاهان در تیمارهای مختلف باشد. زیرا منبع غالب نیتروژن در محلول غذایی راریسون نیترات است (Merryweather & Fitter, 1991). از آنجایی که نیترات یک آنیون می‌باشد در جذب آن، گیاهان برای خنثی نگه داشتن بار الکتریکی درون سلول‌های ریشه سازوکارهایی اعمال می‌کنند که از جمله آن‌ها جذب پروتون به داخل سلول ریشه با استفاده از ناقل‌های هم‌بر و یا ترشح آنیون‌هایی مانند OH⁻ است (Schumaker & Heven, 1987; Miller & Smith, 1996). این سازوکارها باعث قلیایی شدن محیط اطراف ریشه می‌شود و چون بستر کشت پرلیت نسبت به خاک خصوصیت بافری خیلی ضعیفی دارد، بنابراین pH آبشویه افزایش می‌یابد.



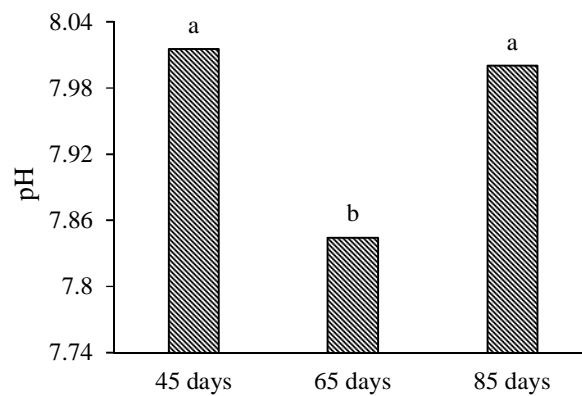
شکل 4- اثر گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار بر pH آبشویه سورگوم

Fig. 4- Effect of species of arbuscular mycorrhizal fungi on pH of sorghum leachate



شکل 5- اثر سطوح عناصر کم‌مصرف بر pH آبشویه سورگوم

Fig. 5- Effect of micronutrient levels on pH of sorghum leachate.



شکل 6- اثر زمان پس از کشت (روز) بر pH آبشویه سورگوم

Fig. 6- Effect of time from sowing (day) on pH of sorghum leachate.

جدول 4) اثر گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار و زمان بر pH آبشویه سورگوم
Table 4- Effect of species of arbuscular mycorrhizal fungi and time on leachate pH of sorghum

	شاهد Control	گلموس اتونیکاتوم <i>G. etunicatum</i>	گلموس اینترادیسز <i>G. intraradices</i>	
45 days after sowing	8.02a	8.04a	7.98a	45 روز پس از کشت
65 days after sowing	8.10a	7.80b	7.63c	65 روز پس از کشت
85 days after sowing	7.99a	8.03a	7.98a	85 روز پس از کشت

میانگین‌هایی که در هر ردیف و ستون دارای حروف مشابه هستند از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد ندارند.

Means in each column and row, followed by similar letter are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

نتیجه‌گیری کلی

در شرایط این آزمایش، گیاه گوجه‌فرنگی بر خلاف سورگوم، با قارچ‌های گلموس اینترادیسز و گلموس اتونیکاتوم همزیستی ایجاد نکرد. همزیستی میکوریزی نیز در بستر کشت پرلیت باعث کاهش pH آبشویه گیاه سورگوم شد؛ و قارچ گلموس اینترادیسز نسبت به گلموس اتونیکاتوم pH آبشویه را بیشتر کاهش داد. همچنین فقدان

عناصر کم‌مصرف در محلول غذایی باعث کاهش pH آبشویه شد. 65 روز پس از کشت نسبت به زمان‌های 45 و 85 روز، pH آبشویه بطور معنی‌داری کاهش یافت. با در نظر گرفتن نتایج دیگر محققان می‌توان گفت که گیاهان در طول رشد خود از استراتژی‌های مختلف و با شدت‌های متفاوت برای جذب عناصر بهره‌مند می‌شوند.

References

- Aliasgharzarad N, Shirmohamadi E and Oustan S. 2009. Siderophore production by mycorrhizal sorghum roots under micronutrient deficient condition. *Soil and Environment*, 28: 119-123.
- Angle JS, Heggo A and Chaney RL. 1989. Soil pH, rhizobia, vesicular-arbuscular mycorrhiza inoculation effect on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biology and Fertility of Soils*, 8: 61-65.
- Becard G, Douds DD and Peffer PE. 1992. Extensive in vitro hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO₂ and flavonols. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 821-825.
- Bienfait HF. 1985. Regulated redox processes at the plasmalemma of plant root cells and their function in iron uptake. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 17: 73- 83.
- Bolan NS. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 134: 189-207.
- Cairney JW and Ashford AE. 1989. Reducing activity at the root surface in *Eucalyptus pilularis*-*Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizas. *Plant Physiology*, 16: 99-105.
- Cakmak I and Marschner H. 1990. Decrease in nitrate uptake and increase in proton release in zinc deficient cotton, sunflower and buckwheat plants. *Plant and Soil*, 129: 261-268.
- Caris C, Hordt W, Hawkins HJ, Romheld V and George E. 1998. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza*, 8: 35-39.
- Clark RB and Zeto SK. 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline Soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 28: 1495-1503.
- Ding X, Sui X, Wang F, Gao J, He X, Zhang F, Yang J, Feng G. 2012. Synergistic interactions between *Glomus mosseae* and *Bradyrhizobium japonicum* in enhancing proton release from nodules and hyphae. *Mycorrhiza*, 22: 51-58.
- Dinkelaker B, Römheld V and Marschner H. 1989. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant, Cell and Environment*, 12: 285-292.
- Gianinazzi-Pearson V, Branzanti B and Gianinazzi S. 1989. *In vitro* enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. *Symbiosis*, 7: 243-255.
- Giovannetti M and Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500.
- Goh TB, Banerjee MR, Tu S and Burton DL. 1997. Vesicular arbuscular mycorrhizae-mediated uptake and translocation of P and Zn by wheat in a calcareous soil. *Canadian Journal of Soil Science*, 77: 339-346.
- Grace C and Stribley DP. 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 95: 1160-1162.
- Kormanik PP and McGraw AC. 1982. Quantification of VA mycorrhizae in plant roots. *In*: Schenk NC (ed.). *Methods and principles of mycorrhizal research*. American Phytopathological Society, Saint Paul Minnesota, pp: 37-45.
- Landsberg EC. 1981. Organic acid synthesis and release of hydrogen ions in response to Fe deficiency stress of mono and dicotyledonous plant species. *Journal of Plant Nutrition*, 3: 579-591.
- Lee YJ and George E. 2005. Contributions of mycorrhizal hyphae to the uptake of metal cations by cucumber plants at two levels of phosphorus supply. *Plant and Soil*, 278: 361-370.
- Li X, George E and Marschner H. 1991. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil and hyphae-soil interfaces of VA mycorrhizal white clover fertilized with ammonium. *New Phytologist*, 119: 397-404.
- Manoharan PT, Pandi M, Shanmugaiah V, Gomathinayagam S and Balasubramanian N. 2008. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus on the physiological and biochemical changes of five different tree seedlings grown under nursery conditions. *African Journal of Biotechnology*, 7: 3431-3436.
- Merryweather JW and Fitter AH. 1991. *Techniques in arbuscular mycorrhiza research*. York Mycorrhiza Research Group, UK, 973p.

- Mihashi S, Mori S and Nishizawa N. 1991. Enhancement of ferric-mugineic acid uptake by iron deficient barley roots in the presence of excess free mugineic acid in the medium. *Plant and Soil*, 130: 135-141.
- Miller AJ and Smith SJ. 1996. Nitrate transport and compartmentation in cereal root cells. *Journal of Experimental Botany*, 47: 843-854.
- Miyasaka SC, Habte M, Friday JB and Johnson EV. 2003. Manual on arbuscular mycorrhizal fungus production and inoculation techniques. *Crop and Soil Management*, 5:1-4.
- Mwangi MW, Monda EO, Okoth SA and Jefwa JM. 2011. Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 508-513.
- Powell CL and Bagraraj DJ. 1984. VA Mycorrhiza. CRC Press, Florida, USA, 234p.
- Remy W, Taylor TN, Hass H and Kerp H. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Plant Biology*, 91: 11841-11843.
- Ric DV, Lubbrding CHJ and Bienfait HF. 1986. Rhizosphere acidification as a response to iron deficiency in bean Plants. *Plant Physiology*, 81: 842-846.
- Romheld V, Muller C and Marschner H. 1984. Localization and capacity of proton pumps in roots of intact sunflower plants. *Plant Physiology*, 76: 603-606.
- Romheld V. 1991. The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species: An ecological approach. *Plant and Soil*, 130: 127-134.
- Rosenfield CL, Reed DW and Kent MW. 1991. Dependency of iron reduction on development of unique root morphology in *Ficus benjamina* L. *Plant Physiology*, 95: 1120-1124.
- Sanders FE and Tinker PB. 1973. Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Journal of Pest Science*, 4: 385-395.
- Schreiner PR. 2007. Effect of native and non native arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of 'Pinot noir' (*Vitis vinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. *Applied Soil Ecology*, 36: 205-215.
- Schumaker KS and Heven S. 1987. Decrease of pH gradients in tonoplast vesicles by NO_3^- and Cl^- : Evidence for H^+ -coupled anion transport. *Plant Physiology*, 83: 490-496.
- Subramanian KS 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.
- Takagi S, Nomoto K and Takemoto T. 1984. Physiological aspects of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *Journal of Plant Nutrition*, 7: 469-477.
- Yao Q, Li X, Feng G and Christie P. 2001. Mobilization of sparingly soluble inorganic phosphates by the external mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Plant and Soil*, 230: 279-285.

Effects of Two Species of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Leachates pH of Sorghum and Tomato in Vegetative Growth Period under Micronutrient Deficient Condition

Ebrahim Shirmohammadi¹, Naser Aliasgharзад²

(Received: April 2014 Accepted: November 2014)

ABSTRACT

Colonization of roots with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) often improves micronutrients uptake by most of the plants. Measurement of pH in mycorrhizae leachates is an evidence for acidification or alkalinization of rhizosphere and hyphosphere. Leachate pH is very important factor for assessment of micronutrient uptake by AMF. This experiment was laid out in factorial complete randomized block design with three replications. The first factor consists of arbuscular mycorrhizal fungi with *Glomus etunicatum* and *Glomus intraradices* species and control, the second factor was Rorison's nutrient solution with zero, half and full strength of micronutrients, and the third factor was time of measurement of leachates pH that was include 45, 65 and 85 days after sowing. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Miller) and sorghum (*Sorghum bicolor* L.) plants were grown in sterile perlite and were inoculated with either *Glomus etunicatum* or *G. intraradices*, while the control set was left uninoculated. Rorison's nutrient solution with three levels of 0, half and full strength of micronutrients was applied to the pots during vegetative growth period. The pH of leachates Measured at 45, 65 and 85 days after sowing (DAS). Results show that, colonization of sorghum roots by *G. etunicatum* and *G. intraradices* fungi were 43 and 37%, respectively. On the contrary of sorghum plants, the mycorrhizal symbiosis was not observed in tomato plants. The pH of leachates was lower in mycorrhizal than non-mycorrhizal plants. *G. intraradices* were efficient than *G. etunicatum* in this respect. The reduction in leachate pH was induced at 0 levels of the micronutrients. 65 DAS, leachates had minimum amount of pH. In all of treatments, pH of leachates were higher than 7.6. It seems that, the main agent of this phenomenon is nitrate nutrition of plants, because nitrate is the most source of N in Rorison's nutrient solution.

Keywords: *Glomus etunicatum*, *Glomus intraradices*, micronutrient, leachate pH of plants

1- Department of Soil Science, College of Water and Soil Engineering, University of Zabol. Iran. (Corresponding author)
Email: ibrahim_13000@yahoo.com

2- Professors, Department of Soil Science, University of Tabriz. Iran.