

اثر قارچ میکوریز آربوسکولار بر رشد رویشی و جذب فسفر دو پایه نارنج و رافلمون تحت تنش خشکی

Effect of Arbuscular Mycorrhizae on Vegetative Growth and Phosphorous Uptake of Two Rootstocks of Sour Orange and Rough Lemon Under Drought Stress

زهرا حیدریان پور^{۱*}، محمدحسین شمشیری^۲ و مجید اسماعیلی زاده^۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۳۰

چکیده

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و نمو در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. ارزیابی عملکرد گیاهان باغی در شرایط تنش و استفاده از میکروارگانیزم‌های مفید خاک جهت کاهش خسارت‌های ناشی از تنش‌های محیطی از راه‌حل‌های نوین در کشاورزی پایدار در مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود. به این منظور در یک مطالعه گلخانه‌ای، اثر یک قارچ میکوریز آربوسکولار و چهار دور آبیاری (۲، ۴، ۶، ۸ روز یکبار) بر میزان همزیستی ریشه، صفات رویشی (تعداد و سطح برگ در هر گلدان، ارتفاع و قطر ساقه، وزن خشک کل) و غلظت فسفر شاخساره بر روی دو پایه نارنج و رافلمون به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه‌ای واقع در جهرم بررسی شد. ارزیابی صفات رویشی (تعداد و سطح برگ در هر گلدان، ارتفاع و قطر ساقه، وزن خشک کل) نشان داد افزایش سطوح خشکی به طور معنی‌داری باعث کاهش آن‌ها گردید؛ اما همزیستی میکوریزی از اثرات مخرب تنش خشکی روی پایه‌های نارنج و رافلمون کاست. افزایش تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار در جذب فسفر شاخساره گردید و جذب این عنصر در دانه‌های تلقیح شده با قارچ‌های میکوریز تحت تنش افزایش یافت. آلودگی میکوریزی ریشه دانه‌های مرکبات در بالاترین سطح خشکی کاهش ۴۴/۸ درصدی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: شاخص رشد، مرکبات، همزیستی، میکروارگانیزم

مقدمه

خشکی در ایران و جهان پدیده‌ای اجتناب‌ناپذیر است که همه ساله با شدت‌های متفاوتی، تولید موفقیت‌آمیز محصولات کشاورزی را با مخاطره روبه‌رو می‌سازد. تنش خشکی هنگامی روی می‌دهد که آب موجود در خاک کاهش یافته و شرایط جوی به‌دفع آب از طریق تعرق و تبخیر کمک کند (حکمت‌شعار، ۱۳۷۲). تنش خشکی مهم‌ترین عامل محدودکننده تولید در مناطق کشاورزی خشک و نیمه‌خشک به شمار می‌رود (وویس^۱، ۱۹۹۷). گیاهان در اثر خشکی، علاوه بر واکنش‌های فیزیولوژیک تغییرات مورفولوژیک نیز از خودشان نشان می‌دهند (بورد/نوو^۲ و همکاران، ۲۰۰۳). ایران به‌دلیل قرارگرفتن در کمربند خشک آب و هوایی جهان، یکی از کشورهای کم آب و خشک دنیا محسوب می‌شود. متوسط بارندگی سالانه ایران حدود ۲۵۰ میلی‌متر است که از متوسط بارندگی در جهان (۸۶۰ میلی‌متر) بسیار کمتر است لذا هر گونه تولید محصول و کشاورزی پایدار به استفاده صحیح از منابع آب محدود کشور و مدیریت منطقی آن‌ها بستگی دارد (رضوانی، ۱۳۹۱). یکی از روش‌های قابل استفاده برای کاهش اثرات مخرب ناشی از تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده، استفاده از قارچ‌های میکوریز است (آیوج^۳، ۲۰۰۱). واژه میکوریز به همزیستی بین قارچ و ریشه گیاه میزبان اطلاق می‌شود که در حالت کلی هر دو طرف از این همزیستی سود می‌برند (آلن^۴، ۲۰۰۰). در بین انواع مختلف میکوریز، میکوریز آربوسکولار، رایج‌ترین نوع همزیستی مسالمت‌آمیز بین میکروارگانیسم‌های خاکری و گیاهان می‌باشد. تقریباً بیش از ۸۰ درصد گونه‌های گیاهی دارای میکوریز آربوسکولار می‌باشند (اسمیت و رد^۵، ۱۹۹۷). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در کشاورزی پایدار دارای اهمیت فراوانی هستند زیرا باعث بهبود روابط آبی و افزایش مقاومت به خشکی در گیاه میزبان (آلن و آلن^۶، ۱۹۸۶)، بهبود کنترل بیماری‌ها (لیندرمن^۷، ۱۹۹۴) و افزایش جذب عناصر غذایی نظیر فسفر، پتاسیم، روی، مس، کلسیم و آهن در گیاه میزبان می‌شوند (اسمیت و رد، ۱۹۹۷) و استفاده از کودها و سموم شیمیایی را کاهش می‌دهند.

مرکبات متعلق به جنس سیتروس^۸ از خانواده سداب‌سانان^۹ و زیر خانواده اورانتیوئیده^{۱۰} هستند. مرکبات از جمله

محصولات مهم باغبانی می‌باشند که از لحاظ میزان تولید بعد از موز، در مقام دوم جهانی قرار داشته و همه ساله به سطح زیر کشت و میزان تولید آنها در جهان افزوده می‌شود (استوری و والکر^{۱۱}، ۱۹۹۹). براساس گزارش سازمان خوار و بار جهانی (FAO)، سطح زیرکشت مرکبات جهان در سال ۲۰۱۲ میلادی ۸۷۰۰۰۰۰ هکتار بوده که تولیدی معادل ۱۳۱ میلیون تن مشتمل بر انواع مرکبات داشته است و میزان صادرات جهانی مرکبات در سال ۲۰۱۱ میلادی بیش از ۱۲۴۵۰۰۰۰۰ تن، مشتمل بر انواع مرکبات بوده است و براساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی ۱۳۹۱ میزان تولید و صادرات مرکبات در ایران به‌ترتیب ۴۵۶۰۰۰۰ و ۶۲۰۰۰ تن گزارش شده است. نارنج نخستین پایه‌ای است که در مرکبات‌کاری استفاده شده است. این پایه درختانی تولید می‌کنند که دارای محصول خوبی می‌باشند. رافلمون پایه مناسب برای مناطق گرم، مرطوب با خاک‌های شنی عمیق و حاصلخیز می‌باشد. این پایه سریع رشد می‌کند و درختانی که بر روی این پایه رشد می‌کنند سریع رشد، زود بارده و پربار هستند (رادنیا، ۱۳۷۵).

مهرآوران و میناسیان (۱۹۸۴) در مورد پراکندگی و تنوع جنس‌های قارچ‌های میکوریزی مطالعاتی انجام دادند. در این مطالعات مشخص شد که گونه‌های مختلف مرکبات وابستگی‌های متفاوتی به قارچ‌های میکوریزی دارند به‌طوری‌که بعضی پایه‌ها نظیر نارنج^{۱۲}، لیمو^{۱۳}، بکرایی^{۱۴} به این قارچ‌ها وابستگی بسیار زیادی دارند. اولین بار کلاین /شمیت و گردمن^{۱۵} (۱۹۷۲) نشان دادند که با مایه زنی مرکبات با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌توان مشکل کوتولگی ناشی از سترون کردن خاک خزانه را برطرف کرد. آن‌ها با استفاده از انواع مرکبات در حضور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار توانستند افزایش رشدی از ۱ تا ۲/۵ برابر را مشاهده کنند. براساس آزمایشات انجام شده، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار همزیست با مرکبات بیشتر به گونه‌های جنس گلوموس تعلق دارند (دیویس^{۱۶} و همکاران، ۱۹۹۴). زنگنه و همکاران (۱۳۸۴) در تحقیقی ۲۳ گونه از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را در ریزوسفر مرکبات ایران شناسایی نمودند. تنش آبی به‌طور معنی‌داری میزان وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه، ارتفاع گیاه و قطر ساقه را کاهش می‌دهد. تلقیح قارچ گلوموس ورسیفرم به‌طور مشخصی وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه،

10. Aurantitidae
11. Storey and Walker
12. Sour orange
13. *C. limon*
14. *C. bergamia*
15. Kleinschmidt and Gerdemann
16. Davies

1. Oweis
2. Yordanov
3. Auge
4. Allen
5. Smith and Read
6. Allen and Allen
7. Linderman
8. *Citrus* spp.
9. Rutacea

اضافه شود به سرعت در اشکال فسفات کلسیم یا دیگر اشکال تثبیت شده و به صورت غیر متحرک در می‌آید. بنابراین قارچ‌های میکوریزی در افزایش جذب مواد معدنی، به‌ویژه فسفر و تجمع زیست توده بسیاری از محصولات، در خاک‌های با فسفر کم، تأثیر مثبت دارند. کیانگ یو^{۱۳} و همکاران (2009) اثر قارچ میکوریز آربسکولار را روی جذب مواد غذایی نارنج سه‌برگ در معرض تنش خشکی مورد ارزیابی قرار دادند. همزیستی میکوریزی باعث افزایش غلظت فسفر و روی برگ و پتاسیم و منیزیم ریشه در دانه‌های تحت تنش شد. بنابراین همزیستی میکوریزی منجر به بهبود جذب مواد غذایی و در نتیجه افزایش مقاومت به تنش خشکی در مرکبات می‌شود.

با توجه به مسأله کمبود آب، مشکلات ناشی از خشکسالی و اهمیت مرکبات و همچنین نقش قارچ‌های میکوریز آربسکولار در کاهش اثرات سوء تنش خشکی، این پژوهش با هدف بررسی اثر قارچ میکوریز آربسکولار بر رشد دانه‌های نارنج و رافلمون در شرایط تنش خشکی و ارتباط آن با میزان جذب فسفر اجراء گردید.

مواد و روش‌ها

بذر پایه‌های نارنج و رافلمون از ایستگاه تحقیقات کشاورزی جهرم تهیه شد. سپس چهار عدد بذر را در گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک سترون که خصوصیات آن در جدول ۱ آورده شده است، کشت و به مدت سه ماه نگهداری گردید. در این آزمایش از قارچ گلوموس موسه استفاده گردید. این گونه قارچ را با استفاده از ذرت به‌عنوان گیاه تله در یک بستر خاک (شامل دو قسمت ماسه و یک قسمت خاک مزرعه) سترون (اتوکلاو به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر) و به مدت چهار ماه در گلخانه تکثیر شدند. پس از این مدت، بخش‌های گیاه میزبان قطع و پس از قطعه قطعه کردن ریشه و مخلوط کردن آن با خاک گلدان، مخلوط یکنواخت شامل قطعات ریشه آلوده، اسپور و خاک گلدان تهیه گردید که در مرحله بعد به‌عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه‌ای (میزان نور $10 \pm$ ۵۰، رطوبت نسبی ۳۷،۱ درصد، دما $2 \pm$ ۳۰ درجه سلسیوس) واقع در شهرستان جهرم انجام شد.

قطر ساقه دانه‌های نارنج سه برگ را تحت هر دو شرایط تنش خشکی و آب مناسب افزایش داده است. تعداد برگ در گیاه و وزن خشک ریشه در گیاهان غیر میکوریزی تحت شرایط آب مناسب بالاتر بوده است (وو^۱، 2006). پژوهشگران تأثیر ۵ گونه قارچ گلوموس را روی دانه‌های نارنجی در شرایط تنش خشکی بررسی و مشاهده کردند که پارامترهای رشدی و جذب عناصر غذایی در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان بدون میکوریز بود و تنش خشکی سبب کاهش این پارامترها شد (وو و همکاران، 2006). مانجونات^۲ و همکاران (1983) اظهار داشتند که تلقیح مرکبات با قارچ میکوریزی گلوموس فسیکولاتوم^۳ سبب افزایش وزن ماده خشک اندام‌های هوایی و ریشه‌های گیاه شده است. در مطالعه دیگری پاسخ پایه نارنج سه برگ با ۱۸ گونه قارچ میکوریز مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص گردید که گونه‌های ولوم^۴، ماکروکارپوم^۵، مردوم^۶ و کالدونیکوم^۷ مؤثرترین گونه‌ها در بهبود شاخص‌های رشد، مانند ارتفاع گیاه، قطر ساقه، وزن زیست توده و نیز جذب عناصر غذایی فسفر، روی و مس بوده‌اند (وینیک و باگیاراج^۸، 1990). این واکنش‌های مثبت ایجاد شده توسط همزیستی میکوریز آربسکولار را به افزایش جذب یون‌های کم‌تحرک خاک از قبیل فسفر، مس، منگنز، منیزیم، کلسیم، پتاسیم، روی، آهن و گوگرد توسط قارچ میکوریز آربسکولار و انتقال آن‌ها به گیاه میزبان نسبت می‌دهند (لیو^۹ و همکاران، 2000). همچنین این همزیستی سبب افزایش جذب و انتقال عناصر متحرک نظیر نیتروژن معدنی به‌ویژه در شرایط تنش خشکی نیز می‌شود (ازکن^{۱۰} و همکاران، 2003). از آنجایی که تحرک عناصر غذایی در شرایط تنش خشکی پایین می‌باشد میکوریز آربسکولار، می‌تواند تأثیر زیادی روی رشد و نمو تمام اندام‌های گیاه در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط آبیاری نرمال داشته باشد (بوم/اسما و وین^{۱۱}، 2008). تورک^{۱۲} و همکاران (2006) اظهار نمودند که نقش اصلی قارچ‌های میکوریزی تأمین فسفر برای ریشه گیاه است، زیرا فسفر در خاک عنصری فوق‌العاده کم‌تحرک است. حتی در صورتی که فسفر به شکل محلول به خاک

1. Wu
2. Manjunath
3. *Glomus fasciculatum*
4. *velum*
5. *Macrocarpum*
6. *Merredum*
7. *Caledonicum*
8. Vinayak and Bagyaraj
9. Liu
10. Azcon
11. Boomsma and Vyn
12. Turk

به منظور اجرای آزمایش، ابتدا بین نهال‌های رشد یافته، دو دانهال که از لحاظ ظاهری یکسان و هم‌اندازه بودند به گلدان‌های پنج کیلوگرمی حاوی خاک سترون منتقل و همزمان، عمل تلقیح قارچ میکوریز آربوسکولار (۷۰ گرم از مایه تلقیح قارچ گلوموس موسه شامل اسپور، هیف و قطعات ریشه‌ای و بستر) انجام شد. بعد از گذشت هفت ماه از کاشت، تست آلودگی ریشه دانهال‌ها جهت اطمینان از آلوده بودن ریشه‌ها قبل از اعمال تیمارهای خشکی با استفاده از روش بیرمن و لیندرمن^۱ (1981) انجام و میزان آلودگی ریشه دانهال‌های نارنج و رافلمون به ترتیب ۸۰ و ۸۵ درصد تشخیص داده شد. سپس دوره‌های مختلف آبیاری (۲، ۴، ۶، ۸ روز در میان) به مدت ۷۰ روز بر روی گلدان‌ها انجام و در هر دوره، آبیاری تا حد ظرفیت مزرعه صورت گرفت. برای تعیین ظرفیت مزرعه، ابتدا سه گلدان هر گلدان حاوی پنج کیلوگرم خاک آزمایش (بدون وزن گلدان) آبیاری شده و روی آن‌ها با نایلون پوشانیده گردید تا تبخیر صورت نگیرد و پس از خروج آب اضافی (۲۴ ساعت بعد)، گلدان‌ها مجدداً توزین شده و میانگین اعداد به دست آمده به عنوان وزن گلدان در حالت ظرفیت مزرعه در نظر گرفته شد. در پایان آزمایش پس از اندازه‌گیری پارامترهای رویشی (تعداد و سطح برگ در هر گلدان، ارتفاع و قطر ساقه)، شاخساره و ریشه‌ها در داخل آون (در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) قرار داده شدند و در نهایت وزن خشک کل (در هر گلدان) آن‌ها محاسبه گردید.

جهت اندازه‌گیری فسفر شاخساره، ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه خشک و آسیاب شده را وزن کرده و سپس در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده شد تا نمونه‌ها تبدیل به خاکستر شدند و سپس ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به هر نمونه اضافه گردید و توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. در نهایت از این عصاره به‌طور مستقیم و به روش رنگ‌سنجی (رنگ زرد آمونیوم مولیبدات و وانادات) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (در طول موج ۴۷۰ نانومتر) میزان فسفر شاخساره قرائت گردید (اولسن^۲ و همکاران، 1954).

جهت تعیین درصد همزیستی ریشه مرکبات در محیط آزمایشگاه، با استفاده از روش فیلیپس و هیمن^۳ (1970) رنگ‌آمیزی ریشه‌ای صورت گرفت و سپس برای تعیین درصد آلودگی از روش بیرمن و لیندرمن^۴ (1981) استفاده گردید. بر اساس این روش ۱۰۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده، به‌طور تصادفی انتخاب و روی لام قرار داده شدند و سپس زیر میکروسکوپ آلودگی براساس مشاهده وزیکول، آربسکول و ریشه‌های قارچ محاسبه و بر مبنای درصد بیان گردید.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد محاسبه گردید و نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

جدول ۱: برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده در آزمایش

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

پتاسیم	آهن	فسفر	درصد رس	درصد شن	درصد سیلت	درصد ظرفیت زراعی	درصد کربن آلی	شوری	pH	بافت
(میلی‌گرم در کیلوگرم)	(میلی‌گرم در کیلوگرم)	(میلی‌گرم در کیلوگرم)	Clay (%)	Sand (%)	Silt (%)	FC (%)	O.C. (%)	(دسی‌زیمنس بر متر)		Texture
K (mg/kg)	Fe (mg/kg)	P (mg/kg)						EC (ds/m)		
205	2.4	9.7	21.4	52.1	26.5	13.9	0.78	0.7	7.8	شنی لوم رسی Clay loam sandy

2. Olsen

3. Phillips and Hayman

4. Bierman and Linderman

1. Bierman and Linderman

تنش خشکی توسط کاهش میزان آب، فشار تورژانس، پژمردگی و بسته شدن روزنه‌ها در اثر ساخته شدن اسیدآسیزیک در ریشه‌ها در شرایط تنش خشکی، اختلال در ساختار غشاء تیلاکوئیدها، تأثیر روی تولید ای‌تی‌پی^۱ توسط ای‌تی‌پی‌آز^۲، تأثیر روی فعالیت آنزیم روبیسکو، تأثیر روی تنفس و متابولیسم کربوهیدرات‌ها و کاهش در انتقال مواد فتوسنتزی به صورت کاهش رشد و توسعه گیاهان نمایان می‌شود (آمارحیت^۳ و همکاران، 2005؛ لیو و همکاران، 2000). کاهش قطر ساقه و ارتفاع ساقه در دانهال‌های مرکبات می‌تواند ناشی از کاهش تقسیم سلولی در مریستم نوک ساقه و رشد سلول‌ها در شرایط خشکی باشد (داندریا^۴ و همکاران، 1995). محققین علت کاهش تعداد برگ و سطح برگ را در زمان تنش خشکی، کاهش سرعت تقسیم سلولی و فشار تورژانس می‌دانند که به کم کردن سطح تبخیر و تعرق گیاه برای جلوگیری از هدر روی آب کمک می‌نماید و این عمل با ترشح هورمون‌های مؤثر در ریزش برگ و هورمون‌های مؤثر در کاهش تقسیم سلولی صورت می‌گیرد (شلیپی و نارندرا^۵، 2005). وو^۶ (2011) ضمن تحقیق بر روی نارنج سه برگ گزارش کرد که با افزایش تنش خشکی، رشد گیاه کاهش معنی‌داری یافت و گیاهانی که تحت آبیاری مطلوب قرار داشتند وزن تر و خشک بیشتری تولید کردند. یک اثر رایج تنش خشکی روی گیاهان، کاهش وزن تر و خشک گیاه می‌باشد (انجوم^۷ و همکاران، 2011). نتایج مشابهی در نارنگی (وو و همکاران، 2006) و آویشن (دونفورد^۸ و همکاران، 2005) نیز گزارش شده است.

استفاده از قارچ‌های میکوریزی باعث افزایش پارامترهای رویشی (تعداد برگ در هر گلدان، سطح برگ...) دانهال‌های مرکبات در مقایسه با شاهد (دور آبیاری ۲ روز) گردید. طوری که گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان بدون میکوریز از رشد بیشتری برخوردار بودند (شکل ۱). طبق نتایج در پایه نارنج بین گیاهان میکوریز و بدون میکوریز از نظر وزن خشک کل تفاوتی مشاهده نشد؛ اما در پایه رافلمون وزن خشک کل گیاهان میکوریزی ۲۰/۹۶ درصد بیشتر از گیاهان بدون میکوریز بود (شکل ۴- ح). با افزایش سطوح خشکی از میزان قطر بالای ساقه کاسته شد و بیشترین میزان قطر بالا در گیاهان میکوریزی و در سطح شاهد (دور آبیاری ۲ روز در

1. ATP
2. ATPase
3. Amrijit
4. Dandria
5. Shilpi and Narendra
6. Wu
7. Anjum
8. Dunford

میان) در هر دو پایه نارنج و رافلمون (۱/۵۳ و ۱/۹۳ میلی‌متر) و کمترین میزان قطر بالا در هر دو پایه در گیاهان بدون میکوریزی و در دور آبیاری ۸ روز در میان (۰/۹۴ و ۱/۰۲ میلی‌متر) مشاهده گردید (شکل ۱- د). دلایل مختلفی برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر شاخص‌های رشد گیاهان میکوریزی عنوان گردیده است. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به اصلاح تغذیه‌ای گیاه میزبان به‌ویژه فسفر (وو و همکاران، 2007)، افزایش گسترش ریشه‌های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان و افزایش سطح جذب ریشه (جیمس^۹ و همکاران، 2008) اشاره کرد. نتایج این آزمایش نیز با نتایج تحقیقات بر روی مرکبات تلفیح شده با قارچ میکوریز و در شرایط خشکی مطابقت دارد اشاره کرد (گراهام و سیورتنسن، 1985؛ وو و همکاران، 2006؛ 2009).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، تیمارهای خشکی، میکوریز و پایه بر فسفر شاخساره در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. میزان فسفر شاخساره در پایه نارنج و رافلمون با افزایش سطوح خشکی کاهش یافت به‌گونه‌ای که کمترین میزان فسفر شاخساره در هر دو پایه در تیمار با دور آبیاری ۸ روز در میان و در دانهال‌های بدون میکوریز مشاهده شد که نسبت به شاهد ۴۱/۷۷ و ۱۶/۵ درصد کاهش داشت در حالی که میزان کاهش در گیاهان بدون میکوریز بیشتر از گیاهان میکوریزی بود و نیز در سطوح مختلف خشکی از نظر کاهش میزان فسفر شاخساره در بین گیاهان میکوریزی و غیر میکوریزی در پایه نارنج تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۲- الف).

برخی محققین معتقدند تحرک فسفر در خاک کم می‌باشد و زمانی که تنش خشکی ایجاد می‌شود، از تحرک این عنصر به دلیل کاهش رشد ریشه، بیشتر کاسته شده و سرعت انتشار آن در خاک محدود می‌شود (جیمس و همکاران، 2008). تورک و همکاران (2006) بیان نمودند قارچ‌های میکوریزی در افزایش جذب مواد معدنی، به‌ویژه فسفر در خاک‌های با فسفر کم، تأثیر مثبت دارند. قارچ‌های میکوریز قادرند با استفاده از گسترش ریشه‌های خارجی سطح جذب فسفر ریشه را افزایش دهند (سونگ^{۱۰}، 2005). محققین در رابطه با افزایش میزان فسفر در گیاهان میکوریز نسبت به گیاهان بدون میکوریز چند مکانیسم بیان کردند: ۱- از آنجایی که انتشار فسفات در خاک بسیار کند بوده و در مقابل، سرعت جذب آن توسط ریشه گیاهان بسیار بالا می‌باشد، محیط اطراف ریشه به سرعت از فسفات تخلیه می‌گردد و پیوسته بر وسعت این ناحیه از خاک

9. James
10. Song

توسعه قارچ میکوریز در گیاه میزبان تأثیر سوء داشت (وو و همکاران، 2006؛ 2007) که با نتایج آزمایش ما مطابقت داشت.

افزوده می‌شود. استقرار میکوریز بر روی ریشه گیاه میزبان باعث می‌گردد که هیف‌های قارچ به سمت ورای ناحیه تخلیه فسفر گسترش یافته، بنابراین ریشه‌های میکوریزی نسبت به ریشه‌های بدون میکوریز، به حجم بیشتری از خاک دسترسی پیدا می‌کنند (اسمیت و رد، 1997). ۲- ریشه گیاهان میکوریزی از طریق افزایش تراوش پروتون، ریزوسفر را اسیدی کرده و باعث متحرک شدن فسفر و افزایش جذب آن در خاک‌های آهکی می‌گردد (کیوی و کالدول، 1992). ۳- میکوریز آنزیم فسفاتاز تولید می‌کند که می‌تواند فسفر آلی را به شکل قابل جذب آن تبدیل نماید (طرفدار و مارشنر، 1994). ناظری اردکانی (۱۳۸۲) بیان کرد که گیاهان یونجه تلقیح شده با میکوریز به میزان ۱۵۳ درصد، فسفر بالاتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزی داشتند. بیشترین غلظت فسفر در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان بدون میکوریز در سطوح خشکی در مکزیکن لایم توسط حقیقت‌نیا و همکاران (2011) گزارش شده است. مطالعات منافی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی گوجه‌فرنگی نشان می‌دهد با افزایش تنش رطوبتی غلظت فسفر بخش هوایی کاهش پیدا می‌کند به طوری که بیشترین غلظت فسفر بخش هوایی در تیمار قارچی گلوموس اینترادیسز و سطح رطوبت D0 (رطوبتی FC ۰/۹) ۴۲/۶ درصد بیشتر از تیمار بدون قارچ در همان رطوبت بود. نتایج حاصل از پژوهش وو و همکاران (2009) افزایش جذب فسفر در دانه‌های نارنج سه‌برگ تلقیح شده با قارچ گلوموس موسه در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان بدون قارچ را نشان داد که با نتایج این آزمایش در ارتباط با میزان فسفر در پایه نارنج مطابقت دارد.

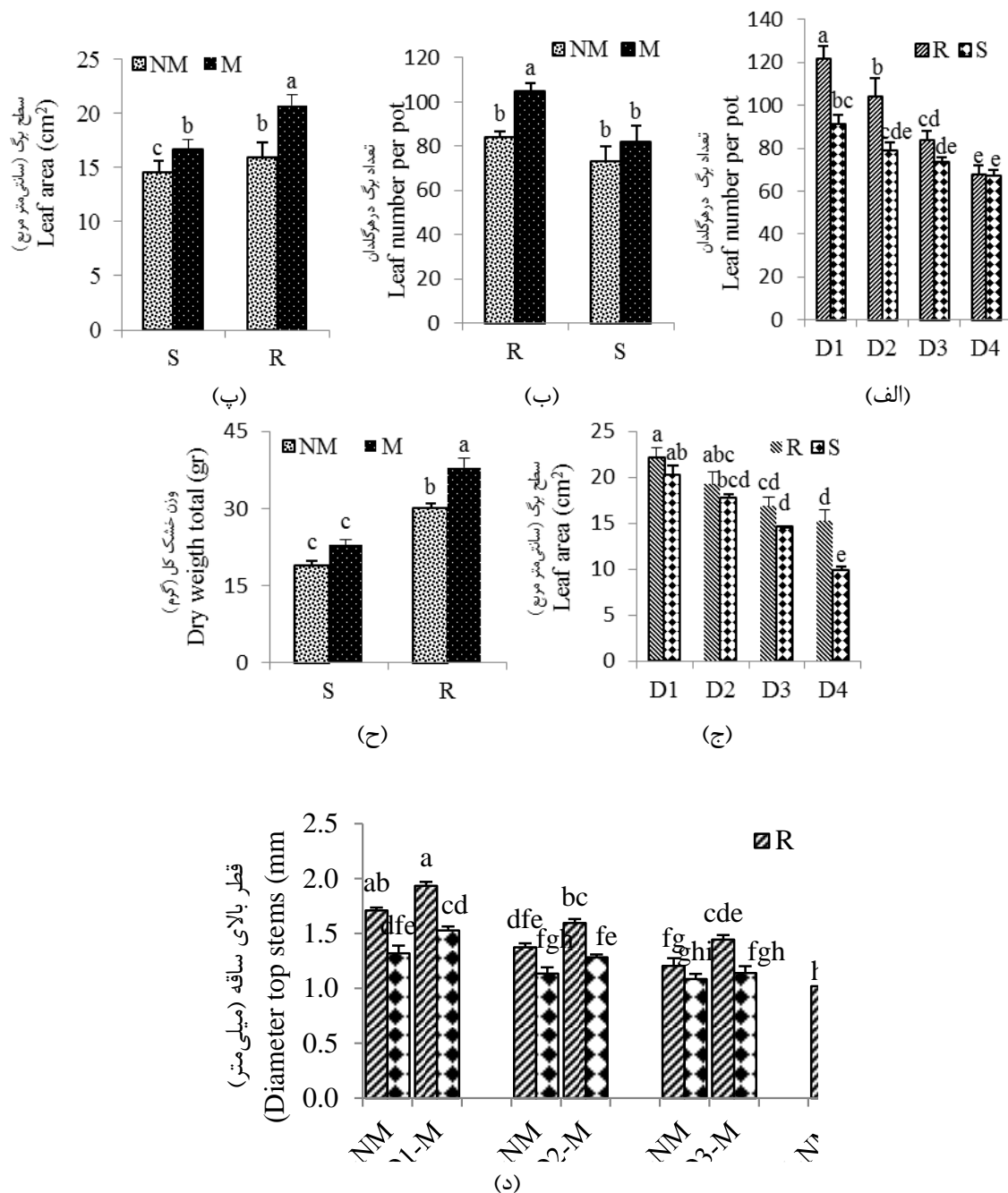
نتایج به‌دست آمده نشان داد درصد ریشه‌های آلوده به میکوریز به‌طور معنی‌داری با افزایش تنش خشکی کاهش یافت به طوری که بیشترین همزیستی میکوریزی در سطح شاهد (۷۸/۲۳ درصد) و کمترین همزیستی در دور آبیاری ۸ روز در میان (۴۳/۱۶ درصد) بود (شکل ۲-ب). کاهش میزان آلودگی ریشه دانه‌های مرکبات در شرایط تنش خشکی را می‌توان به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و میزان ترشحات ریشه (مواد آلی) دانست (اسمیت و رد، 2008). تنش خشکی، کلنیزاسیون میکوریزی با قارچ گلوموس ورسيفرم را روی پایه سیتروس تانجرین^۴ به‌طور معنی‌داری کاهش داد. آن‌ها پیشنهاد نمودند که محیط خشک و نیمه خشک بر

1. Cui and Caldwell
2. Tarafdar and Marschner
3. Smith and Read
4. *Citrus tangerine*

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس شاخص های رشد و فسفر شاخساره تحت تأثیر یک قارچ میکوریز آریسکولار و تنش خشکی در دو پایه مرکبات
 Table 2: Analysis of variance of the growth indices and phosphorus in shoots affected by AM fungi and drought in two citrus rootstocks

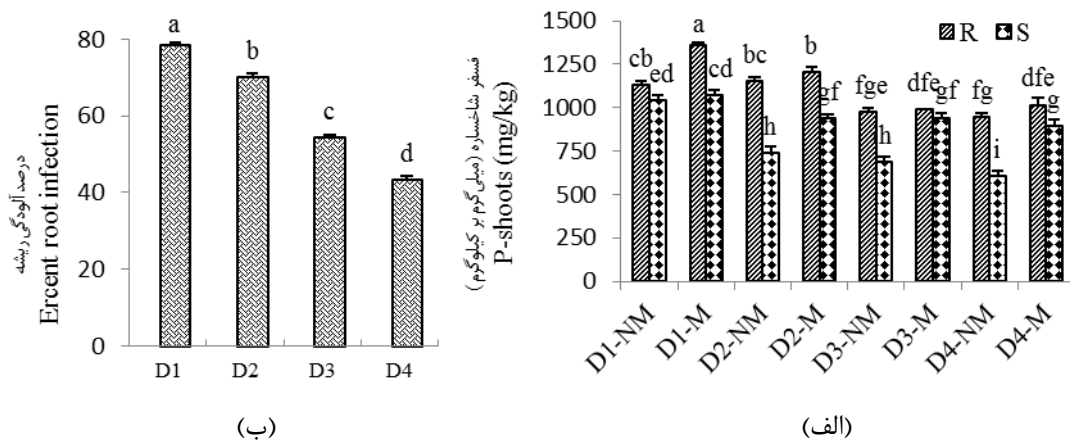
میانگین مربعات Mean squares								منابع تغییرات S.O.V.
فسفر شاخساره P in shoots	وزن خشک کل Total dry weight	قطر پایین ساقه (ارتفاع ۲ سانتی متری) Down diameter stems	قطر بالای ساقه (ارتفاع ۲ سانتی متری) Top diameter stems	سطح برگ Leaf area	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع دانهال Stem height	درجه آزادی df	
199314***	770.6***	7.5***	0.49***	166***	3380.5***	1054.2***	3	تنش خشکی Drought
236645***	582.6***	9.4***	0.56***	137.1***	2610.7***	459.4***	1	میکوریز Mycorrhiza
636947***	985.5***	20***	1***	90.8***	3333***	751.2***	1	پایه Rootstock
9.3	5	5.9	8.12	9.4	9.4	9.02		درصد ضریب تغییرات CV (%)

ns: غیرمعنی دار، *، **، ***: به ترتیب معنی دار در سطوح ۵، ۱ و ۰/۱ درصد
 ns: non-significant, *, ** and ***: significant at the levels of 5, 1 and 0.1%, respectively



شکل ۱: تأثیر برهم کنش خشکی و پایه و همزیستی میکوریزی و پایه به ترتیب بر روی تعداد برگ (الف و ب)، سطح برگ (پ و ج)، وزن خشک کل (ح) و قطر ساقه (د). NM: بدون میکوریز و M: میکوریزی. S: نارنج و R: رافلمون. D₁, D₂, D₃ و D₄: به ترتیب دور آبیاری ۲ (شاهد)، ۴، ۶ و ۸ روز در میان. شاخص بالای هر ستون نشان دهنده خطای استاندارد (\pm SE) می باشد

Fig. 1: Interaction effect of drought and rootstock, and mycorrhizal symbiosis and rootstock, respectively on the number of leaves (A and B), leaf area (p and g), total dry weight (h) and stem diameter (D). NM: no inoculation and M: mycorrhizal. S: Sour orange and R: Raf lemon. D₁, D₂, D₃ and D₄, respectively irrigation 2 (control), 4, 6 and 8 days. Indexes in the top of each column indicate the standard error (\pm SE)



شکل ۲: تأثیر برهم کنش خشکی، پایه و همزیستی میکوریزی بر روی فسفر شاخساره (الف) و اثر خشکی (ب) بر درصد آلودگی ریشه. NM: بدون میکوریز و M: میکوریزی. S: نارنج و R: رافلمون. D1, D2, D3 و D4: به ترتیب دور آبیاری ۲ (شاهد)، ۴، ۶ و ۸ روز در میان. شاخص بالای هر ستون نشان دهنده خطای استاندارد (\pm SE) می باشد

Fig. 2: Interaction effects of drought, the rootstock and mycorrhizal symbiosis on shoot's phosphorous (A), and the effect of drought (b) on the percentage of root infection. NM: no inoculation and: M mycorrhizal. S: Sour orange and R: Raflemon. D1, D2, D3 and D4, respectively irrigation 2 (control), 4, 6 and 8 days. Indexes in the top of each column indicate the standard error (\pm SE)

۱ و ۲) اما میزان کاهش در گیاه نارنج کمتر بود که نشان از تحمل بیشتر این پایه به تنش خشکی است. همچنین نتایج آزمایش نشان داد قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با برقراری رابطه همزیست با پایه‌های نارنج و رافلمون باعث بهبود رشد و عملکرد این پایه‌ها در برابر تنش خشکی گردیدند اما بین دو پایه، پایه رافلمون نسبت به پایه نارنج از رشد بهتری برخوردار بود.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، مشخص شد که تنش خشکی بر رشد رویشی، میزان فسفر گیاه و درصد همزیستی میکوریزی دو پایه اثرگذار بوده است و با افزایش سطوح خشکی از میزان پارامترهای ذکر شده کاسته شد، به طوری که کمترین مقدار شاخص‌های رویشی در شدیدترین سطح تنش (۸ روز در میان) در هر دو پایه مشاهده شد (شکل

منابع

- جیحونی، م. ۱۳۹۰. اصول تغذیه درختان مرکبات ایران. شرکت کشاورزی حاصل نوین، ۱۷۵ صفحه.
- حکمت‌شعار، ح. ۱۳۷۲. فیزیولوژی گیاهان در شرایط دشوار. انتشارات نیکنام، ۴۷۹ صفحه.
- رادنیا، ح. ۱۳۷۵. پایه‌های درختان میوه (ترجمه). چاپ اول. نشر آموزش کشاورزی، ۱۴۵ صفحه.
- رضوانی، م. ۱۳۹۱. مدیریت مصرف انرژی در ایستگاه‌های پمپاژ آبیاری. اولین کارگاه فنی و آموزشی آبیاری و انرژی، کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران، تهران.
- زنگنه، س.، شیروانی، ع. ب.، علیان، ی. م.، نجفی‌نیا، م.، کرمپور، ف. و قلعه‌دزدانی، ح. ا. ۱۳۸۴. معرفی گونه‌های جدیدی از قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا از ریزوسفر مرکبات ایران. رستنی‌ها، ۶: ۹۰-۷۷.
- منافی، ح.، علی‌اصغرزاد، ن.، نیشابوری، م. ر. و رجالی، ف. ۱۳۹۱. تحمل تنش کمبود آب در گوجه‌فرنگی در همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار. نشریه دانش آب و خاک، ۲۲ (۲): ۱-۱۷.
- ناظری‌اردکانی، و. ۱۳۸۲. حضور و فراوانی میکوریزی آربوسکولار در خاک‌های زراعی استان خراسان و بررسی همزیستی آن‌ها با گیاه یونجه در یک خاک شور. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲۸۳.
- Allen, E. B. and Allen, M. F. 1986. Water relations of xeric grasses in the field: interactions of mycorrhizas and competition. *New Phytologist*, 104: 559-71.
- Allen, M. F. 2000. Encyclopedia of microbiology. *Encyclopedia of Microbiology*, 3: 328-336.
- Amrijit, K. N., Kumari, S. and Sharma, D. R. 2005. In vitro selection and characterization of water stress tolerance culture of bell pepper. *Plant Physiology*, 10: 14-19.
- Anjum, S., Xie, X., Wang, L., Man, C. and Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plant to drought stress. *Agricultural Research*, 6: 2026-2032.
- Auge, R. M. 2001. Water relation drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3-42.

- Azcon, R., Ambrosano, E. and Charestand, C. 2003. Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. *Plant Science*, 165: 1137-1145.
- Bierman, B. and Linderman, R. G. 1981. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization. *New Phytology*, 87: 63-67.
- Boomsma, C. R. and Vyn, T. J. 2008. Maize drought tolerance: Potential improvements through arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Field Crops Research*, 108: 14-31.
- Davies, F. T., Potter, J. R. and Linderman, R. G. 1994. *Citrus*. CAB International, Wallingford, University of Kassel, 45-55.
- Dunford, N. and Vasquez, R. 2005. Effects of water stress on plants growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano under controlled conditions. *Journal of Applied Agricultural Sciences*, 7: 20-22.
- Graham, J. H. and Syvertsen, J. P. 1985. Host determinants of mycorrhizal dependency of citrus rootstock seedlings. *New Phytologist*, 101: 667-676.
- Haghighatnia, H., Nadian, H. A. and Rejali, F. 2011. Effects of mycorrhizal colonization on growth, nutrients uptake and some other characteristics of *Citrus volkameriana* rootstock under drought stress. *World Applied Sciences Journal*, 13 (5): 1077-1084.
- Hsiao, T. C. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 519-570.
- James, B., Rodel, D., Loretto, U., Reynaldo, E. and Tariq, H. 2008. Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of *cassia floribunda*. *Pakistan Journal of Botany*, 40 (5): 2217-2224.
- 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.
- Linderman, R. G. 1994. Role of VAM in biocontrol, In *Mycorrhizae and Plant health-Pfleger FL*, Linderman. American Phytopathological Society, 1-26.
- Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R. I. and Ma, B. L. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza*, 9: 331-336.
- 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.
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S. and Dean, L. A. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate. *Publication*, 125: 67-96.
- Oweis, T. 1997. Supplemental Irrigation: A highly efficient water-use center for practice. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, 843-856.
- Phillips, J. and Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining and parasitic vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment infection. *British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Shilpi, M. and Narendra, T. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Journal of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158.
- Smith, S. E. and Read, D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. *Biologia Plantarum*, 40: 154-164.
- Song, H. 2005. Effects of VAM on host plant in condition of drought stress and its mechanisms. *Biology*, 1: 44-48.
- Storey, R. and Walker, R. R. 1999. *Citrus and salinity*. *Scientia Horticulturae*, 78: 39-81.
- 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.
- Wu, Q. S. 2011. Mycorrhizal efficacy of trifoliolate orange seedlings on alleviating temperature stress. *Plant, Soil and Environment*, 57 (10): 459-464.
- Wu, Q. S. and Xia, R. X. and Hu, Z. J. 2005. Effects of arbuscular mycorrhiza on drought tolerance of *Poncirus trifoliata*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 16: 459-463.
- Wu, Q. S. and Xia, R. X. and Hu, Z. J. 2006. Effect of arbuscular mycorrhiza on the drought tolerance of *Poncirus trifoliata* seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1: 100-104.
- Wu, Q. S. and Zou, Y. N., Xia, R. X. and Wang, M. Y. 2007. Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. *Botanical Studies*, 48: 147-154.
- Wu, Q. S., Zou, Y. N., Xia, R. X. and Wang, M. Y. 2009. Mycorrhiza has a direct effect on reactive oxygen metabolism of drought-stressed citrus. *Soil, Environmental and Atmospheric Sciences*, 55 (10): 436-442.
- Yordanov, I., Velikova, V. and Tsonev, T. 2003. Plant response to drought and stress tolerance. *Journal Plant Physiology*, 187-206.

Effect of Arbuscular Mycorrhizae on Vegetative Growth and Phosphorous Uptake of Two Rootstocks Under Drought Stress of Sour Orange and Rough Lemon

Heidarian Pour^{1*}, Z., Shamshiri², M. H. and Esmailizadeh³, M.

Abstract

Drought is one of the most restricting factor affecting plants growth and development in arid and semi-arid regions. Evaluation of plant yield under stress condition and the use of soil microorganisms to reduce stress damages is a new strategy for sustainable agriculture in these regions. The effect of an arbuscular mycorrhizal fungus and four irrigation interval (2, 4, 6 and 8 days) on the symbiotic root, and growth parameters (leaf number and area per pot, stem height and diameter, total dry weight) and concentration of P in shoots of two rootstocks (Sour orange and Rrough lemon) was studied through a factorial experiment based on a completely randomized design, with three replications in a greenhouse located in Jahrom. Evaluation of growth parameters (leaf number and area per pot, stem height and diameter, total dry weight) showed that these parameters were significantly reduced with increasing drought levels but mycorrhizal symbiosis decreased the adverse effects of drought on both rootstocks. Uptake of phosphorous was increased under stress in mycorrhizal plants. Drought stress reduced root colonization of both rootstocks for about 44.8%.

Keywords: Growth index, Citrus, Symbiosis, Microorganism

1, 2 and 3. MSc Student, Associate Professor and Assistant Professor, Respectively, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Rafsanjan

*: Corresponding author

Email: yalda.heidarian1029@yahoo.com