نشریه زراعت شماره ۱۰۶، بهار ۱۳۹۴

(پژوهش و سازندگی)

اثرات همزیستی میکوریزا بر برخی ویژگی های فیزیولوژیکی سسبانیا درتنش کم آبی

- الهام فغانی، استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات پنبه کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران (نویسنده مسئول)
- معصومه گودرزی، دبیر آموزش و پرورش کردکوی- استان گلستان
- عطیه صفرنژاد، کارشناس آمار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان- استان گلستان

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۹۲

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۱۳۷۵۶۵۱۷

پست الکترونیک نویسنده مسئول: faghani@khu.ac.ir

چکیده:

خشکی از مهمترین تنش های غیرزیستی و از عمده ترین فاکتورهای محیطی محدود کننده نمو گیاه و تولید محصول می باشد. واکنش دفاعی گیاه در مقابل کمبود آب، یک مقابله پیچیده است. در این تحقیق نقش تلقیح میکوریزا در تنش کم آبی بر گیاه سسبانیا اکولیتا در جذب نیتروژن، فسفر،فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ریشه ، محتوی پروتئین در دانه ها، غلظت پرولین ریشه و غلظت کربوهیدرات برگ و ساقه بررسی شد. این آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی در مکان (سطوح تنش کم آبی به عنوان مکان در نظر گرفته شدند) در سه تکرار و در شرایط گلخانه ای اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل، سه عامل تنش کم آبی (آبیاری دو روز درمیان(آبیاری مطلوب، S0)، چهار روز درمیان (تنش آبی متوسط ،S1) و شش روز درمیان (تنش آبی شدید، S2) و دو سطح استفاده از قارچ، M0 (بدون میکوریزا) و M1(با میکوریزا) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در مرحله پرشدن دانه، محتوی پروتئین دانه و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ریشه در همزیستی با میکوریزا نسبت به غیر همزیستی به ترتیب حدود ۱۱ درصد و ۴درصد به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین در این مرحله، بین تیمارهای تلقیح شده با میکوریزا و بدون تلقیح، اختلاف معنی داری در محتوی نیتروژن و فسفر ریشه وجود نداشت. در مراحل رویشی، گلدهی و پرشدن دانه تفاوت معنی داری درغلظت پرولین ریشه، در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت. همچنین در مرحله گلدهی ، غلظت قندهای محلول برگ و ساقه در گیاهان همزیست با میکوریزا معنی داری درسطح احتمال ۵ درصد نشان داد.

کلمات کلیدی: سسبانیا- شاخص های فیزیولوژیکی- کم آبی- میکوریزا

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No:104 pp: 37-44

Effects of Mycorrhizal Symbiosism on some physiological characters of Sesbania aculeta against water deficient stress

By:

- *E. Faghani, (Corresponding Author; Tel: 09113756517), Assistant Professor of Cotton Research Institute of Iran (CRI)*
- *M. Godarzi,Education Department of Kordkoy- Golestan*
- *A. Safarnezhad, Statistic expert of Agriculture and Natural Resources research Center of Gorgan- Golestan*

Received: September 2011 **Accepted: July 2013**

Drought is one of the most important abiotic stress and major limiting environmental factors for plant development and plant production. A plant defense reaction against water deficient is a complex endeavor. This experiment was conducted to investigate effects of mycorrhiza symbiosis on nitrogen and phosphorus absorption, nitrate reductase activity of root and protein content in seed, prolin content of root and carbohydrate of leaf and stem in *Sesbania aculeta* under drought stress. This study was carried out in Randomized Completely Block Design (RCBD) with three replications in green house conditions. Treatments were three levels of drought stress (location) and two levels of mycorrhiza, M0 (without fungi) and M1 (with fungi). Results showed that Protein content of seed and nitrate reductase activity in root of mycorrhizal symbiosis in comparison with non-mycorrhizal symbiosis plants were increased significantly in arrangement about 11% and 4%. Also there were no significant differences between phosphorous and nitrogen content in root of mycorrhizal plants in comparison with non-mycorrhizal plants. During growth, flowering and filling seed, mycorrhizal symbiosis showed significantly difference in prolin content of root. Also in flowering stage, soluble carbohydrate of leaf and stem in mycorrhizal symbiosis plant were significantly higher than control ($p<0.05$).

key Words:*Drought, Mycorrhiza, physiological indices, Sesbania aculeta*

مقدمه:

کم آبی، امروزه یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصول در نواحی خشک و نیمه خشک می باشد و کاهش رشد در اثر تنش خشکی به مراتب بیشتر از سایر تنش های محیطی است (۲۰۰۶ ,Rodringuez). این تنش می تواند تولید محصولات کشاورزی را حتی به نصف برساند (۱۹۸۰ , Larcher). امروزه تقریبا ۷۰ درصد آب کره زمین به مصرف کشاورزی می رسد و ۴۰ درصد غذای مردم جهان نیز در زمین های کشاورزی تولید می شود . (Somerville, 2001) ایران نیز از نظر منابع و عوامل تولید کشاورزی از وضعیت خاصی برخوردار است. بدین معنی که از ۱۶۵ میلیون هکتار مساحت کل کشور، تنها حدود ۳۷ میلیون هکتار اراضی مناسب کشت و زرع، می باشد.در حال حاضربه علت محدودیت آب فقط ۷/۸ میلیون هکتار از این اراضی به صورت فاریاب ،۶ میلیون هکتار دیم و ۴/۵ میلیون هکتار دیگر نیز به صورت آیش استفاده می شود (کشاورز و صادق زاده، ۱۳۷۹). بنابراین یکی از مسائل مهم و جدی زیست بوم های کشاورزی و طبیعی ، تنش خشکی است.گیاه سسبانیا اکولیتا، از خانواده لگوم ها بوده وتثبیت نیتروژن بالای این گیاه در خاک سبب شده است که در تقویت زمین های زراعی مورد استفاده قرار گیرند. این گیاه نسبت به بسیاری از گونه های لگوم ، مقاومت زیادی به خشکی دارد و دوران بی آبی را تحمل می کند، بنابراین در کویرزدایی از این گیاه می توان استفاده کرد (Iram,2005). اثرات کمبود آب در چندین لگوم مانند یونجه(Becana et al ,1986) و لوبیا (Guerin et al, 1991) نشان داد که تنش خشکی تغییراتی در فرآیندهای فیزیولوژی وبیوشیمیایی گرهک های تثبیت کننده ازت ایجاد می نماید و توانایی گرهک زایی و تثبیت نیتروژن را کاهش می دهد(Sperent, 1981). قارچ آربوسکولار میکوریزا بخش کلیدی میکروبهای خاک بوده و همزیست اجباری ریشه گیاهان می باشند. آنها در بهبود رشد و تغذیه معدنی گیاه به خصوص جذب فسفر نقش مهمی دارند (توسلی، ۱۳۷۹). قابلیت جذب فسفر، نیاز گیاه را جهت دریافت فسفر خارجی مرتفع می سازد. فسفر زیاد در خاک باعث آلودگی آب و فرسایش خاک شده و بدین گونه میکوریزا در کشاورزی اهمیت زیست محیطی دارد. یکی از مهمترین نقش های قارچ میکوریزا افزایش عملکرد گیاهان زراعی خصوصاً در خاک هایی با حاصلخیزی پایین می باشد که به دلیل افزایش سطح جذب ریشه ها از طریق میسلیوم قارچ در خاک ایجاد می شود(Ortas ، ۱۹۹۶). همزیستی میکوریزایی نه تنها جذب

فسفر، ازت و پتاسیم را افزایش می دهد بلکه میزان گره زایی و تثبیت ازت را هم بهبود می بخشد(۱۹۹۹ ، Bowen). و می تواند به عنوان یک عامل محافظت کننده خاک نیز باشد (مستاجران ، ۱۳۷۸). به طور کلی تلقیح خاک با *Glomus intraradices*، فیزیولوژی ریشه میکوریزی گیاهان به ویژه سنتز گلوتامین سنتاز(GS)، آرژینیناز و فعالیت اوره آز را تحت تاثیرقرار می دهد. آرژینیناز و اوره آز دو آنزیم کلیدی در انتقال نیتروژن از میسیلیوم به ریشه گیاه همزیست با میکوریزا هستند (Bagoet et al 2001;Cruze et al,2007) . تحقیق حاضر به منظور بررسی اثرات قارچ میکوریز، بر جذب عناصر غذایی نظیر فسفر و ازت، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ،غلظت پرولین ریشه، غلظت کربوهیدرات ریشه و ساقه همچنین غلظت پروتئین دانه های گیاه سسبانیا در تنش خشکی انجام شد.

مواد وروش ها

به منظور مطالعه تاثیرات همزیستی قارچ میکوریزا روی جذب عناصر نیتروژن و فسفر ریشه ،فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ریشه،غلظت پرولین ریشه وبرگ، محتوای پروتئین دانه وغلظت کربوهیدرات ساقه وبرگ گیاه سسبانیا اکولیتا تحت تنش کم آبی، این آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی در مکان (سطوح تنش کم آبی به عنوان مکان در نظر گرفته شدند) در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا شد. پس از تعیین نیاز آبی خاک، تیمارهای آزمایش، سه سطح تنش کم آبی و دو سطح تلقیح قارچ مایکوریزا بود. تنش های کم آبی در حوضچه های لایسیمتری با آبیاری دو روز درمیان (آبیاری مطلوب، S0)، چهار روز درمیان (تنش آبی متوسط ، S1) و شش روز درمیان(تنش آبی شدید، S2) اعمال شد. قارچ میکوریزایی تلقیح شده، *Glomus intradensis* بود. در مراحل مختلف گلدهی و پرشدن دانه، از ریشه ،برگ ،ساقه و دانه جهت انجام آزمایشات ، نمونه گیری صورت گرفت. سنجش نیترات ردوکتاز ریشه مطابق روش Sym (1984) انجام شد.به این ترتیب که ۰/۵ گرم نمونه ریشه، در لوله آزمایش حاوی محلول انکوباسیون (پروپانول ۳٪ حجمی و تامپون فسفات ۱۰۰ میلی مولار) قرار داده شد. پس از بستن دهانه لوله با درب پلاستیکی، نمونه ها به مدت ۱ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از صاف کردن، بلافاصله ۲ میلی لیتر از محلول بالا برداشته و به ترتیب ۱ میلی لیتر گریس I (حل کردن ۰/۵ گرم اسید سولفانیلیک در اسید استیک ۵۰ درصد) و گریسII (حل کردن ۰/۲ آلفا نفتیل آمین در اسید استیک ۵۰ درصد) اضافه شد و در نهایت جذب آن در ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. پس از ترسیم منحنی استاندارد معادله خط تعیین و سپس مقدار نیتریت تولید شده به ازای هر گرم وزن تر ماده (M) محاسبه شد. برای سنجش محتویات پروتئین دانه ها از روش Lawry و همکاران(۱۹۵۱) استفاده شد . بعد از تهیه نمونه های خشک، همگن سازی نمونه ها در بافر تریس -اسید کلریدریک صورت گرفت. نمونه ها سانتریفیوژشدند بعد از برداشتن ۰/۰۵سی سی از محلول بالایی، یک میلی لیتر معرف D به نمونه ها افزوده شد، ۳ میلی لیتر معرفE (فولین) اضافه شد بعداز قرار گرفتن در بن ماری در دمای ۵۰درجه به مدت ۱۵ دقیقه، جذب نوری آنها در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد سپس بااستفاده ازمنحنی استاندارد میزان پروتئن دانه مشخص شد. در این آزمایش معرف D ترکیبی ازمعرف) Aکربنات سدیم و سود ۰/۵ نرمال)، معرف B (سولفات مس یک درصد) و معرف C (تارتارات سدیم وپتاسیم ۲ درصد) بود.برای سنجش محتویات نیتروژن بعد از هضم شدن نمونه ها در بالن ژوژه با اسید سولفوریک ،اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه از روش کجل تک اتوآنالیزر استفاده شد. جهت تعیین درصد فسفر در ریشه از روش Chapman و) Pratt1961) استفاده شد. ابتدا نمونه های خشک گیاهی در بالن ژوژه با اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه هضم شدند پس از تهیه عصاره ، معرف وانادات – مولیبدات به نمونه اضافه گردید و پس از رساندن حجم نمونه به ۵۰ میلی لیتر شدت جذب نور توسط محلول ها در nm470 به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه گرفته شد. با استفاده از منحنی استاندارد میزان فسفر موجود در بافتهای گیاهی محاسبه گردید. برای سنجش پرولین از روش Bates وهمکاران (۱۹۷۳)استفاده شد ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه تر در ۱۰سی سی محلول ۳ درصد اسید سالفوسالسیلیک ساییده شد، بعد از صاف کردن محلول، دو سی سی از محلول برداشته و به آن۲ سی سی معرف نینهیدرین و۲ سی سی اسید استیک خالص اضافه شد، بعد از قرار دادن نمونه ها در بن ماری در دمای ۱۰۰درجه به مدت یک ساعت آنگاه ۰/۵ ساعت در حمام یخ قرار گرفتند سپس ۴ سی سی تولوئن به نمونه ها اضافه شده بعد از تکان دادن در طول موج ۵۲۰ نانومتر، جذب لایه رنگی فوقانی خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد غلظت پرولین مشخص شد. برای سنجش کربوهیدرات از روش Nandi و همکاران(۲۰۰۱) استفاده شد. ابتدایک گرم نمونه خشک در ده سی سی الکل ۷۰درصد به مدت یک هفته در دمای چهار درجه قرار گرفت. بعد از صاف کردن و هموژن کردن نمونه ها در ده سی سی آب مقطر، آنگاه در بن ماری ۱۰۰درجه به آنهاحرارت داده شد. بعد از سانتریفیوژ و جداسازی عصاره آبی، به ۰/۵ سی سی از عصاره آبی ،نیم سی سی الکل ،نیم سی سی آب، یک سی سی فنل وپنج سی سی اسید سولفوریک غلیظ به نمونه ها اضافه شد. سپس جذب نوری آنها در ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. بعد از رسم منحنی استاندارد، غلظت قند های محلول مشخص شد. درنهایت داده های به دست آمده بر اساس طرح آماری و با استفاده از نرم افزارهای SAS و مقایسه میانگین ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج و بحث

همانطور که در شکل ۱- الف نشان داده شده است در برهم کنش آبی با میکوریزا مقادیر فسفر گیاه تغییر معنی داری نداشته است. شیرانی و همکاران (۱۳۷۹) در تحقیقات خود بر روی گیاه ذرت گزارش دادند همزیستی میکوریزایی سبب افزایش معنی دار فسفر می شود. Body و همکاران (۱۹۸۹) بیان کردند افزایش جذب فسفات توسط ریشه های میکوریزی به علت توسعه هیف های خارجی قارچ در خاک و در داخل بافت های ریشه می باشد، Reid و(Bowen 1979) گزارش کردند قارچ میکوریزا از طریق انشعابات میسیلیومی و ریسه ای خود سبب توسعه ریشه گیاه شده و از این طریق باعث استفاده ریشه گیاه از ریزوسفر بیشتر شده است از طرف دیگر (Tarafdar and Marschner 1995)، بیان کردند قارچ میکوریز با تولید آنزیم فسفاتاز سبب تجزیه فسفات های آلی و پیرو فسفات های غیر آلی شده و به ترتیب موجب فراهم کردن فسفر غیر قابل جذب برای گیاه گردیده است بنابراین باعث افزایش جذب فسفر و بالا رفتن مقدار فسفر کل گیاه شده است، (Reid and Bowen 1979) گزارش دادند همزیستی میکوریزا حتی در تنش شدید نیز سبب افزایش غلظت فسفر نسبت به تیمارهای بدون تلقیح می شود زیرا در تنش خشکی شدید نیز انشعابات میسیلیومی

این میکروارگانیسم قادرند به درون خاک و منافذی که برای ریشه و تارهای کشنده گیاه قابل دسترس نیستند راه یابند و بدین ترتیب حجم بیشتری از خاک را مورد استفاده قرار داده و نقش مهمی را در جذب وانتقال آب و عناصر ایفا کنند که این یافته ها با نتایج ما مطابقت نداشت. شکل ۱- ب نشان می دهد در برهم کنش کم آبی با میکوریزا مقادیر نیتروژن ریشه گیاه در سطح ۱ درصد تغییر معنی داری داشت(جدول۲). محمودی وهمکاران (۱۳۸۲)، گزارش دادند که همزیستی میکوریزی، غلظت نیتروژن موجود در اندام هوایی گیاه پسته را افزایش داد. گیاهان پسته پرورش یافته در فسفر نسبتاً زیاد، نیتروژن بیشتری در ریشه و اندام هوایی خود داشتند در صورتی که غلظت نیتروژن در این بخش ها تحت شرایط فسفر کم ، پایین تر بود. Oliver و همکاران (۱۹۸۳) ، دریافتند در شرایط کمبود فسفر گیاهان میکوریزی توانایی بیشتری برای احیاء نیترات از طریق نیترات ردوکتاز نسبت به گیاهان بدون میکوریزی دارند.افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز به بهبود تغذیه فسفری ناشی از آغشتگی میکوریزا نیز نسبت داده شده است. بنابراین کمبود فسفر می تواند مانع از احیاء نیترات شود . شیرانی راد وهمکاران (۱۳۷۹)، در تحقیقات خود بر روی گیاه ذرت به این نتیجه رسیدند که بین کاربرد و عدم کاربرد میکوریزا در کارایی جذب نیتروژن تفاوت معنی داری وجود ندارد. Robert (2001) ، گزارش داد که همزیستی با میکوریزا در تنش خشکی بر میزان نیتروژن گیاهان تاثیر کمی دارد و این یافته ها با نتایج ما مطابقت داشت. مطابق شکل ۲الف، تلقیح قارچ میکوریزایی در ریشه سبب شد فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، افزایشی حدود ۰/۱۱درصد نسبت به ریشه گیاهان بدون تلقیح در سطوح آبیاری مطلوب نشان دهد(جدول۲). در تنش خشکی متوسط و شدید، فعالیت این آنزیم بین تیمارهای تلقیح شده و بدون تلقیح، اختلاف معنی داری نداشت. Stewart و (1993) Cliquet، گزارش دادند که فعالیت نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در ریشه ها و اندام هوایی گیاهان ذرت بدنبال آغشته شدن با *Glomus fasciculatum* افزایش می یابد. همچنین Subramanian و(۱۹۹۸) Charest ، نشان دادند که با کلونیزاسیون میکوریزا در ذرت، فعالیت آنزیم های کلیدی موثر در احیاء نیترات مانند نیترات ردوکتاز ،گلوتامین سنتتاز و گلوتامات سنتتاز به ویژه در شرایط خشکی تحریک می شود. پژوهش های متعددی دلالت بر پاسخ های متفاوت آنزیم نیترات ردوکتاز همراه با تغییر شرایط محیطی موجود است ((Werner ,1995,Huber, 1998. برای نمونه فعالیت این آنزیم در برگ به تغییرات وضعیت آبی حساس بوده و زمانی که پتانسیل آبی کاهش می یابد، فعالیت آنزیم نیز مهار می شود (Christine et al,1998; Huber et al,1998; Tejo and Diaz,1987). به نظر برخی محققان این کاهش ناشی از میزان سنتز این آنزیم است . در توجیه بی معنی بودن فعالیت نیترات ردوکتاز بین تیمارهای تلقیح شده با میکوریزا و بدون تلقیح در سطوح تنش خشکی متوسط و شدید می توان گفت چون میزان جذب فسفر در ریشه آنها اختلاف معنی داری نداشت، بنابراین کمبود جذب فسفر در تنش خشکی می تواند مانع از فعالیت نیترات ردوکتاز شده باشد.Oliver و همکاران (۱۹۸۳) نیز افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاهان همزیست را به بهبود تغذیه فسفری ناشی از آغشتگی میکوریزا نسبت داده اند ولی در شرایط آبیاری مطلوب می توان گفت به دلیل آنکه همزیستی با میکوریزا سبب افزایش جذب آهن می شود(۲۰۰۴ ، Ghazi) و چون نیترات ردوکتاز در ساختار خود نیاز به یون آهن دارد (et al,1989 Vaucheret,) بنابراین شاید بتوان گفت که افزایش جذب یون آهن سبب افزایش فعالیت این آنزیم در تیمارهای همزیست و در شرایط آبیاری مطلوب شد. همانطور که در شکل ۲- ب نشان داده شده است تلقیح میکوریزایی سبب افزایش ۴درصدی ذخایر پروتئین دانه در سطح آبیاری مطلوب شد ولی در تنش خشکی متوسط و شدید، بین تیمارهای همزیست و غیر همزیست از نظر این صفت اختلاف معنی داری وجود نداشت. در توجیه افزایش پروتئین دانه در تیمارهای تلقیح شده با میکوریزا و در شرایط آبیاری مطلوب، می توان گفت به دلیل آنکه فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه گیاه سسبانیا بدنبال آغشته شدن با میکوریزا افزایش یافت. بنابراین سرعت جا به جایی نیترات و آمونیوم خاک در آنها افزایش می یابد (Douds et al, 2000). اهمیت اندوختن آمونیوم ونیترات در گیاهان این است که توسط گلوتامین سنتتاز و نیترات ردوکتاز به اسید امینه تبدیل می شود(Britto and kronzucker, 2002). در شرایط تنش خشکی متوسط و شدید در مرحله رسیدگی، چون فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بین تیمارهای تلقیح شده و بدون تلقیح اختلاف معنی داری مشاهده نشد، بنابراین میزان پروتئین دانه نیز در آنها اختلاف معنی داری نداشت. Robert در (۲۰۰۱) گزارش داد که همزیستی با میکوریزا در تنش خشکی، میزان پروتیین کل گیاهان را افزایش می دهد که با نتایج ما مطابقت نداشت. همانطور که در شکل های ۳- الف و ب مشخص است ،غلظت پرولین ریشه در اثر متقابل دوره های زمانی مختلف آبیاری و سطوح تلقیح مایکوریزایی، در مراحل رویشی، گلدهی و پرشدن دانه اختلاف معنی داری در سطح ۱ درصد داشت (جدول۱). با افزایش تنش، غلظت پرولین در همه مراحل نمونه برداری افزایش یافت در مراحل رویشی و گلدهی(شکل۳-الف و ۳- ب) غلظت پرولین در تیمارهای تلقیح شده نسبت به تیمارهای بدون تلقیح بیشتر بود. در توجیه افزایش بیشتر پرولین در تیمارهای تلقیح شده در مراحل رویشی و گلدهی می توان اشاره کرد این گیاهان توانایی اسمولتیکی بیشتری برای سازگاری با تنش آب دارند گیاهان با افزایش پرولین ، فشار اسمزی شیره سلولی بافت های خود را تغییر می دهند. تا با اثر تنش مقابله کنند. لازم به ذکر است پرولین علاوه بر اینکه ، به عنوان یک محلول سازگار که باعث افزایش پتانسیل آب گیاه می باشد بیوسنتز آن می تواند باعث کاهش اکسیداسیون سلولی و تولید مجددNADP لازم برای فرایندهای فتوسنتزی و تنفسی شود. پرولین همچنین می تواند به عنوان منبعی از کربن و نیتروژن در شرایط تنشی برای گیاه محسوب شود(خواجوی،۱۳۸۶). در توجیه کاهش میزان پرولین در تیمارهای تلقیح شده نسبت به تیمارهای تلقیح نشده در مرحله پرشدن دانه(شکل ۳ب) می توان اشاره کرد این گیاهان در این مرحله با موفقیت بیشتری از خشکی اجتناب می کنند و بنابراین احتیاج کمتری دارند تا از نظر اسمولتیکی سیمپلاست یا آنزیم های حمایت کننده اسمزی را تنظیم کنند (Ruiz-Lozano ,2003) ممکن است در این مرحله سایرمحلول های سازگار مانند گلایسین بتائین و یا کربوهیدرات در گیاهان تلقیح شده تجمع کرده باشدو یا پرولین در این مرحله برای ساخت پروتئین دانه مصرف شده باشد. شکل های ۴- الف و ب نشان دادند بین غلظت قندهای محلول در برگ و ساقه تیمارهای تلقیح شده با میکوریزا و بدون تلقیح در مرحله گلدهی ، اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجودداشت، غلظت قند در هردو شکل در تیمارهای تلقیح شده بیشتر بوداین امر رامی توان این طور توجیه کرد گیاهان تلقیح شده با میکوریزا، بیشتر فتوسنتز انجام می دهند Robert در (۲۰۰۱) بیان کرد

که همزیستی با میکوریزا تعداد واحد های فتوسنتزی را افزایش می دهد همچنین در گیاهان آکاسیاو رز تلقیح شده با میکوریزا طول برگ بیشتری می باشد این گیاهان همزیست با سرعت بیشتری پژمردگی برگ ها را بهبود می بخشند.در شکل ۴-الف غلظت قند در تنش کم آبی شدید در تیماربدون تلقیح بیشتر بود اما معنی دار نبود.در توجیه این مطلب Schellenbaum و همکاران (۱۹۹۸) پیشنهاد دادند که وقتی فتوسنتز محدود انجام شود قارچ ها رقیب قوی برای اختصاص یافتن کربن به ریشه هستند قارچ ها برای انتقال آمونیوم به ریشه و باکتروئیدگرهک ریشه برای تثبیت ازت، نیاز به اسکلت کربنی دارند.در گرهک ها ساکارز اول بوسیله اینورتاز هیدرولیز می شوند. کمبود آب به شدت فعالیت اینورتاز را کاهش می دهد، این عمل می تواند تجمع کربوهیدرات محلول ریشه ،درطول تنش آب را توجیه نماید. بنابراین میزان صادرات قند های محلول بوسیله قارچ وزیکولار آربوسکولار مایکوریزا به ریشه افزایش پیدا می کنند(Wang eta,1989). شکل ۴ب نیز نشان می دهد مقدار زیادی از قندها به ساقه انتقال یافتند تا بتوانند به ریشه رفته و غذای قارچ را در شرایط تنش تامین کنند و یا می توان گفت قند ها برای استفاده در مرحله پرشدن دانه در ساقه انباشته شدند.

جدول۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه سسبانیا در حضور و عدم حضور مایکوریزا در تیمارهای مختلف کم آبی

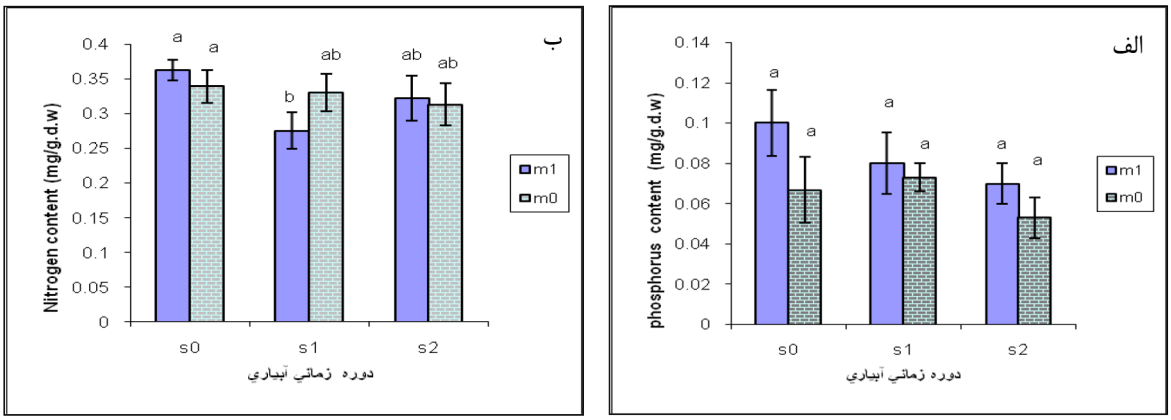
منابع تغییر	درجه آزادی	غلظت کربوهیدرات برگ در مرحله ی گلدهی	غلظت کربوهیدرات ساقه در مرحله ی گلدهی	غلظت پرولین ریشه در مرحله ی گلدهی	غلظت پرولین ریشه در مرحله ی پرشدن دانه
کم آبی	2	0.0914^{ns}	0.4334^{ns}	$<.0001^{**}$	0.858^{ns}
تکرار* کم آبی	6	0.9796	0.7849	0.1927	0.3484
مایکوریزا	1	0.0049^{**}	0.0077^{**}	0.4611^{ns}	0.0003^{**}
مایکوریزا* کم آبی	2	0.0035^{**}	0.1362^{ns}	$<.0001^{**}$	0.1265^{ns}

(معنی داری در سطح ۵٪=*، معنی داری در سطح ۱٪=**، بی معنی= ns)

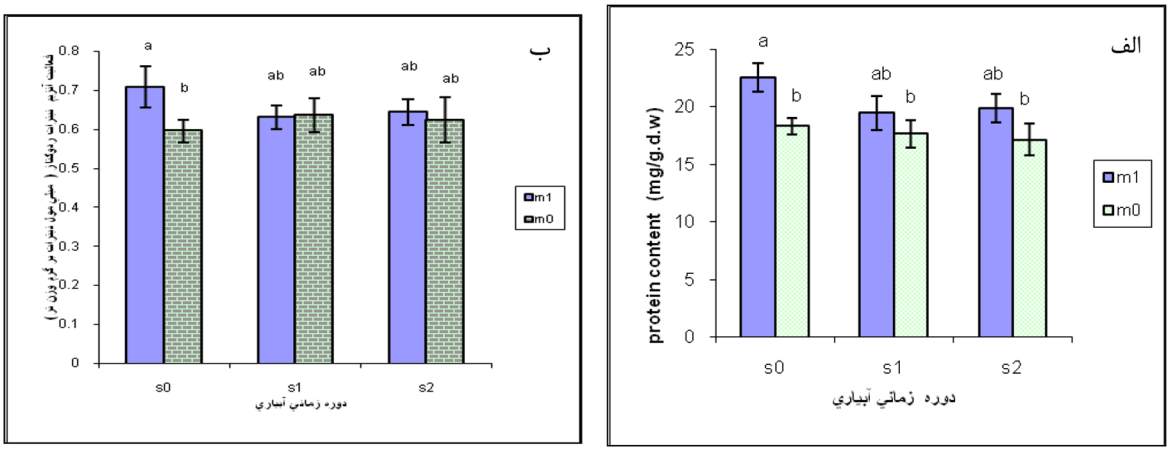
جدول۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه سسبانیا در حضور و عدم حضور مایکوریزا در تیمارهای مختلف کم آبی

منابع تغییر	درجه آزادی	فسفر ریشه	نیتروژن ریشه	نیترات ردوکتاز ریشه	پروتئین دانه
کم آبی	2	0.0005^{**}	0.0002^{*}	0.46^{ns}	19.5^{**}
تکرار* کم آبی	6	0.0002	0.001	0.69	0.73
مایکوریزا	1	0.000005^{ns}	0.003^{**}	0.11^{ns}	13.34^{**}
مایکوریزا* کم آبی	2	0.001^{**}	0.004^{**}	0.96^{*}	2.51^{ns}

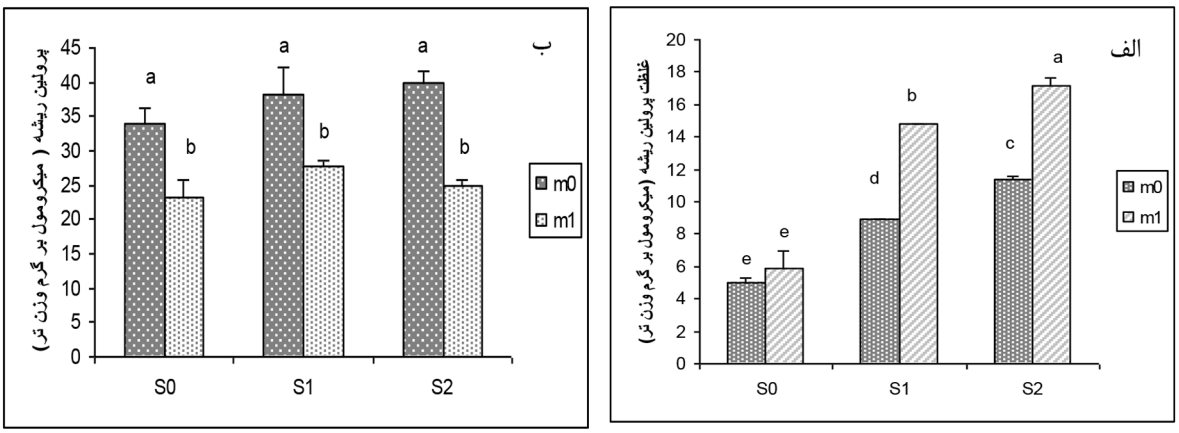
(معنی داری در سطح ۵٪=*، معنی داری در سطح ۱٪=**، بی معنی= ns)



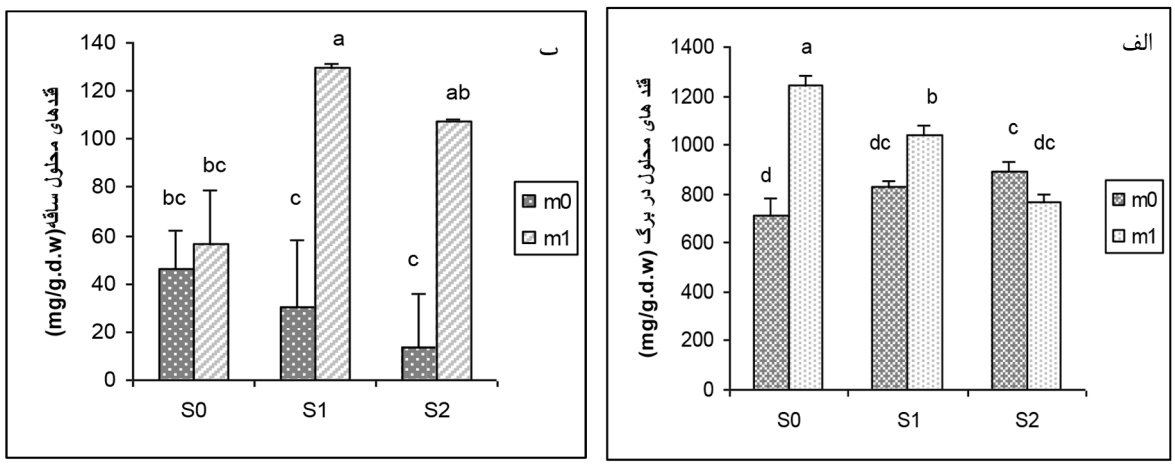
شکل۱-الف) میزان فسفر ریشه ب) میزان نیتروژن ریشه سسبانیا در تلقیح میکوریزا در در دوره های زمانی مختلف آبیاری درمرحله پرشدن دانه



شکل۲- الف) فعالیت نیترات ردوکتاز ریشه ب) میزان پروتئین دانه سسبانیا در تلقیح میکوریزا در دوره های زمانی مختلف آبیاری درمرحله پرشدن دانه



شکل۳- غلظت پرولین ریشه الف) در مرحله گلدهی ب) پر شدن دانه سسبانیا در تلقیح میکوریزا در دوره های زمانی مختلف آبیاری



شکل۴- قندهای محلول – الف) برگ ب) ساقه سسبانیا در مرحله گلدهی در تلقیح میکوریزا در دوره های زمانی مختلف آبیاری

منابع مورد استفاده

۱. امامی،ع.(۱۳۷۵) اندازه گیری نیتروزن با روش کجل تک اتوآنالیزر ،موسسه تحقیقات خاک و آب، نشریه فنی شماره ۹۸۲: ۳۴-۲۸

۲. توسلی، ع. صالح راستین ، ن. و علی اصغر زاده ، ن. (۱۳۷۹) اثر قارچ های میکوریز وزیکولار – آرباسکولار دررشد ذرت- جذب فسفربرخی عناصر کم مصرف ، ویژه نامه بیولوژیکی، ج ۱۲، صفحات ۴۵ – ۵۴.

۳. خواجوی،م.(۱۳۸۶)بررسی اثر شوری و تنش اسمزی در دماهای مختلف بر جوانه زنی ،پارامترهای رشد و پارامترهای بیوشیمیایی سسبانیا اکیولیتا، گرگان:دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی .

۴. شیرانی راد ،الف،علیزاده،ع،هاشمی دزفولی،الف .(۱۳۷۹) بررسی اثر قارچ های وزیکولار آرباسکولار میکوریزا،فسفر وتنش خشکی بر کارایی جذب عناصر غذایی در گیاه گندم،نهال وبذر۱۶: ۳۴۹-۳۲۷.

۵. کشاورز، ع و صادق زاده، ک. (۱۳۷۹) کم آبیاری بهینه و تجزیه و تحلیل ریاضی و اقتصادی آن، مجله تحقیقات فنی ،مهندسی و کشاورزی، جلد ۵، شماره ۱۷، صفحات ۱ – ۱۵.

۶. مستاجران، ض. (۱۳۷۸) همزیستی مایکوریزایی، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان

۷. محمودی،م،فهیمی،ح. خوشرو،م .(۱۳۸۲) بررسی اثر تغذیه فسفری و قارچ میکوریزی وزیکولار – آرباسکولار بر روی رشد و جذب عناصر P و N در پسته (Pistacia vera L) ،پژوهش و سازندگی ،شماره ۵۸.

8. 8- Bagoet, B.,pfeffer, P. and Shachar-HILL, Y.(2001) Could the urea cycle be translocating nitrogen in the arbusclar mycorrhizal symbiosis? New phytol.149:4-8.

9. 9- Bates, L. S., R.P. Waldron., I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and soil. 39: 205-207.

10. 10-Becana, M., Aparicio-tejo ,P.,Pena, P., Aguirreolfa ,J., and Sanchez-Diaz, M.(1986) N2 fixation(C2H2-reducing activity) and leghaemoglobin content during nitrate and water stress induced senescence of Medicago sativa root nodules. J. Exp, Bot .37:547-605

11. 11-Body,L., Marschner,R., and Read,D.(1989) Nitrogen,phosphorus and sulphur untilization by fungi. Cambridge University Press.181-204

12. 12-Bowen, G.D and Rovira A.D. (1999) The rhizosphere and its management to improve plant growth. Adv. Agron. 66: 1–102.

13. 13-Bowen, G.D.(1973) Mineral nutrition of ectomycorrhizae.pp.77-86.In:Marks,G.C., and Kozlowski,T.T. Ectomycorrhiza.Academic Press,London. New York.

14. 14-Britto, D.T,Kronzucker ,H.J.(2002)NH4 Toxicity in higher plants:a critical review.j plant physiol 159:567-584

15. 15-Chapman,H.D, and Pratt,P,F.(1961) Methods of analysis for soils , plants and waters , university of California, Division of Agricultural Sciences.

16. 16-Christine, H.F., Valadier, M.H.,Migge, A., and Becker, Th.(1998) Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA on the coordingation of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves.Plant Physiol.117:283-292.

17. 17-Chaves, M.M., and Oliveira, M.M.(2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits:prospects for water – saving agriculture.J.of Experimental Botany . 55(407):2365 – 2384.

18. 18-Cliquet ,J-B.,Stewart, G.R.(1993) Ammonia assimilation in Zea mays L.infected with a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus Glomus fasciculation.plant physiol .101:865-871

19. 19-Cruz, C.,Egsgaard ,H.,Trujillo, C.,Ambus, P.,Requena, N,Martins-Loucao ,M.A.,Jakobsen ,I.(2007)Enzymatic evidence for the key role of arginine in nitrogen translocation by arbuscular mycorrhizal fungi.plant physiol. 144:782-792.

20. 20.Douds DD, Pfeffer P .(2000) Carbon metabolism. In: Kapulnik Y, Douds DD (eds) Arbuscular mycorrhizas: molecular biology and physiology. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands

21. 21-Ghazi.A.K.,McMichael.B.,Zak.J.(2004) Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress.14:263-269.

22. 22-Guerin, V.,Plady, D.,Trinchant J-C.,Rigaud ,J.(1991) Proteolysis and nitrogen fixation in faba bean (Vica faba) nodules under water stress. physiol plant.82:360-366

23. 23-Huber, S,C.,Israel. D,W., Foyer, CH., Valadier, M.H., Migge ,A., and Becker, T.W.(1998) Drought induced effects on nitrate reductase activity on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. Plant Physiol.117 283-292.

24. 24-IPCC.(2001) Climate change 2001:The scientific basis. Contribution of working group to the third assessment report of the intergovernment panel of climate change (IPCC).in:Houghton J T,Dingy, Griggs D J,N oguer M,Van der linden P J,Xiaosa D,eds. Cambridge,UK: Cambridge University Press.881.

25. 26-Iram, M.A.(2005). Drought stress induced changes in some organic substances in nodules.n

26. 27-Larcher, W.(1980) physiological plant ecology. Spring – verlag publisher.1

27. 28-Lawry, O.H., Rosebrough N.J., and Rand, R.J.(1951) Protein measurment with the folin phenol reagent.J.Biol. Chem,vol.193 : 265-273.

28. 29-McArthur,D,A,J, and Knowles, N.R .(1992) Resistance responses of potato to vesicular – arbuscular fungi under varing abiotic phosphorus levels , Plant physio.100:341-351

29. 30.Nandi et al. (2001)High temperature induced free proline accumulation in Gracilavia tenuistipitata(Rhodophta).Bot. Bul. Acad. Sin(1999)40:289-294.

30. 31-Oliver , A.J.,Smith ,S.E.,Nicholas ,D.J,D.,Wallace,W., and Smith ,F.A.(1983) Activity of nitrate reductase in Trifolium subterranum :effects of mycorrhizal infection and

phosphate nutrition,New phytologist.94:63-79.
31. 32-Ortas,I.(1996) The influence of use of different rates of mycorrhizal inoculum on root infection
32. plant growth,and phosphorus uptake. Commun soil. Sci. plant.Anal.27:2935-2946
33. 33-Reid, C.P.P., and Bown,G.D.(1979) Effect of Water Stress On Phosporus Uptake by Mycorrhiza of Pinus radiate, New Phytologist. 83:103-108.
34. 34-Robert M.A.(2001)Water relation, drough and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis Mycorrhiza .11:3-42
35. 35-Rodringuez,L.(2006) Drougnt and drought stress on south Texas landscape plants. San Antonio Express News. Avilable at (http:bexar – Tx.T.Tamu.edu).
36. 36.Ruiz-Lozno.J.M.2003,Arbuscular mycorrhiza symbiosis and alleviationof osmotic stress . new perspectives for molecular studies. Mycorrhiza.13:p:309-317
37. 37-Somerville,C., and Brisco,J. (2001) Genetic engineering and water. Science.2,1,2217.
38. 38-Sprent, J.I.(1981) Nitrogen fixation. In:Paleg LG,Aspinall D(eds) The physiology and biochemistry of drough resistance in plants.Academic Press,New York.131-154
39. 39-Subramanian ,K.S., 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
40. 40-Rufty,T,W., Mackown, C,T., and Israil ,D.W.(1990) phosphorus Stress effects on assimilation of nitrate ,plant physiol. 94:328-333
41. 41-Schellenbaum L, Muller J, Boller T, Wiemken A, Schüepp H .(1998) Effects of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: changes in the pools of non-structural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in the pools of amino acids and imino acids. New Phytol 138:59–66
42. 42-Sym, G.L.(1984)Optimisation of the invivo assay conditions for nitrate reductase in barly.J .Science,Food, Agricalture.35:725-730
43. 43-Tejo, P.A., and Diaz, M.s.(1987) Nodule and leaf nitrate reductase and nitrogen fixation in Medicago sativa L.under water stress, Plant.Physiol.69 : 479-482
44. 44-Trafdar ,J.C.,and Marschner,H.(1995) Dual inoculation with Aspergillus fumigatus and Glomus mossea enhances biomass production and nutrient uptake in wheat (Triticum aestivum L)Supplied with organic phosphorus as Na-phytate,plant and soil .173:97-102.
45. 45-Vaucheret, H., Vincentz ,M., Kronenberger. J, Caboche. M., Rouze, P.(1989) Molecular cloning and characterization of the two homologous genes coding for nitrate reductase in tobacco. Mol GenGenet 216:10-15.
46. Wang, G.M., Coleman ,D.C., Freckman, D.W., Dyer, M.I., McNaughton ,S.J., Acra, M.A., Goeschl ,J.D.(1989) Carbon partitioning patterns of mycorrhizal versus non-mycorrhizal plants: real time dynamic measurements using 11CO2. New Phytol 112:489– 493
47. 47-Werner , M., Kaiser, E., and Behnisch, N. (1995) Acid- base modulation of nitrate reductase in leaf tissue .Planta,vol. 196 :1-6.