

## تغییرات کانی‌شناسی فلوگوپیت و موسکویت در اندازه رس در اثر همزیستی قارچ اندوفایت با فسکیوی بلند

فاطمه خیامیم<sup>۱</sup> - حسین خادمی<sup>۲\*</sup> - محمد حسن صالحی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۲۵

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۲/۲

### چکیده

همراهی قارچ‌های اندوفایت با گراس‌های سردسیری به‌ویژه فسکیوی بلند یکی از مهمترین همزیستی‌ها در طبیعت است. بررسی‌های فراوانی در رابطه با نقش مثبت این همزیستی در مقاومت گیاه به تنش‌های متفاوت انجام شده، لیکن تأثیر آن در جذب عناصر غذایی متفاوت به ویژه پتاسیم و تحولات کانی‌های پتاسیم‌دار ناشناخته است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر قارچ اندوفایت بر تغییر و تحول کانی‌های میکایی در اندازه رس انجام شد. این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. محیط کشت مخلوطی از شن کوارتزی (به عنوان ماده پرکننده) و کانی‌های میکایی فلوگوپیت و موسکویت بود. جهت انجام کشت، از ژنوتیپ 75B فسکیوی بلند در دو نوع حاوی و عاری از اندوفایت استفاده شد. در طول دوره ۱۴۰ روزه کشت گلدان‌ها به‌وسیله آب مقطر و محلول غذایی در دو نوع حاوی و عاری از پتاسیم، آبیاری و تغذیه شدند. در پایان دوره کشت گیاه برداشت و به روش خاکستر خشک تجزیه و مقدار پتاسیم آن توسط شعله‌سنج تعیین شد. تجزیه بخش رس کانی‌ها، توسط پراش پرتو ایکس انجام گردید. نتایج بدست آمده ورمی‌کولیتی شدن کانی فلوگوپیت را در هر دو شرایط تغذیه‌ای نشان داد. شدت تغییرات کانی‌شناسی در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم بسیار بیشتر از شرایط تغذیه‌ای با پتاسیم بود. علاوه بر تشکیل کانی ورمی‌کولیت، کانی‌های کلریت و اسمکتیت نیز به مقدار کم در بستر کشت فلوگوپیت مشاهده گردید. در بستر کشت موسکویت، قله بسیار ضعیف ورمی‌کولیت مشاهده شد. طولانی بودن دوره کشت و شرایط محیط ریزوسفر تغییر کانی‌شناسی کانی دی‌اکتاهدرال موسکویت را موجب شده است. در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم و در کانی فلوگوپیت، نسبت قله ۱/۴ به ۱/۰ نانومتر تقریباً ۴ برابر بیشتر از شرایط عدم حضور اندوفایت بود. این اختلاف معنی‌دار را می‌توان به تأثیر رابطه همزیستی قارچ اندوفایت بر میزان و نوع تراوه‌های ریشه و در نهایت، تغییر کانی فلوگوپیت مرتبط دانست. کاهش معنی‌دار مقادیر pH ریزوسفر در شرایط حضور قارچ نیز این فرضیه را تأیید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: قارچ اندوفایت، فلوگوپیت، موسکویت، ورمی‌کولیت، تغییر کانی‌شناسی

### مقدمه

طوریکه به تنهایی و همراه با گراس‌های دیگر بیش از ۱۶/۵ میلیون هکتار از مراتع نیمه شرقی آمریکای شمالی از کانادا تا خلیج مکزیک را شامل شده و در ایالات متحده بیش از ۱۴ میلیون هکتار از سطح مراتع را به خود اختصاص داده است (۵). زراعت فسکیوی بلند در ایران مرسوم نیست ولی در آذربایجان غربی، تالش، لنکران، دامنه الوند، درود، فارس، خراسان، تهران، کرج و اصفهان به طور طبیعی رویش دارد (۱).

رابطه همزیستی فسکیوی بلند با قارچ‌های اندوفایت در نیمه دوم قرن بیستم مورد توجه قرار گرفت. قارچ‌های اندوفایت عضو خانواده *Pooideae Clavicipitaceae* هستند که با گراس‌های زیر خانواده همزیست می‌باشند (۱۱). این قارچ‌ها در گراس‌ها به صورت بین سلولی و بدون علائم بیماری‌زایی در درون گیاه رشد می‌کنند. میسلیوم

فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb) یکی از گراس‌های چند ساله و سردسیری است که به دلیل ویژگی‌هایی همچون توان سازگاری با شرایط گوناگون محیطی و تولید بالا از اهمیت خاصی برخوردار است (۳۲). این گیاه به طور وسیعی برای احداث چراگاه، تهیه علوفه خشک و حفاظت خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد. فسکیوی بلند یکی از مهمترین علوفه‌های دنیاست به-

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان  
\* - نویسنده مسئول: (Email: khademi@cc.iut.ac.ir)

۳- استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

قارچ در تمام اندامها به جز ریشه یافت می‌شود ولی میزان آن در غلاف برگ بیشتر است (۲۰). این قارچ‌ها مواد مورد نیاز خود را در گیاه از طریق دیواره سلولی خود جذب کرده و ضمن انجام تولید مثل و تکثیر توسط گیاه میزبان محافظت می‌شوند (۲۷). قارچ‌های اندوفایت خصوصیات مهمی همچون بهبود عملکرد و مقاومت به انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی را به گیاه میزبان خود اعطا می‌کنند (۱۶). بنابراین، گیاهان حاوی اندوفایت قدرت سازگاری و ثبات بیشتری نسبت به گیاهان عاری از اندوفایت دارند، که می‌توان به مواردی از جمله مقاومت به حشرات و نماتدها، پاتوژن‌های خارجی، تنش خشکی، شوری، سرما و کمبود عناصر غذایی اشاره کرد (۲، ۴، ۸، ۱۰ و ۳۷). بخشی از مزیت‌های این رابطه همزیستی مربوط به وجود متابولیت‌های ثانویه از قبیل آکالوئیدها و ترکیبات فنولی است که توسط قارچ‌ها در گیاه میزبان تولید می‌شود (۱۰، ۱۲ و ۲۱).

اندوفایت‌ها معمولاً از طریق ارسال پیام‌های شیمیایی و تغییر در روابط بین منبع و محل مصرف عنصر، به جذب عناصر غذایی در گیاه کمک می‌کنند (۲۲). مالینوسکی و بلسکی (۲۰۰۰) نشان داده‌اند که ژنوتیپ DN2 فسکیوی بلند حاوی قارچ اندوفایت قادرند مقادیر بیشتری کلسیم، منیزیم، فسفر و برخی از عناصر غذایی کم‌مصرف را نسبت به گیاهان عاری از اندوفایت جذب کنند، در حالیکه این روند در ژنوتیپ DN4 مشاهده نشده است (۲۱). پژوهشگران از مطالعات انجام شده بر روی تأثیر اندوفایت‌ها بر جذب عناصر غذایی نتیجه گرفتند که جذب عناصر غذایی توسط گیاهان همزیست با اندوفایت به وسیله مجموعه‌ای از عوامل شامل ژنوتیپ فسکیوی بلند، سوبه قارچ و شرایط محیطی کنترل می‌شود (۲۱). نتایج پژوهش دیگری نیز نشان داد که تأثیر اندوفایت بر افزایش جذب عناصری مانند فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در شرایط کمبود فسفر معنی‌دار است در حالیکه در خاک با وضعیت حاصلخیزی مناسب نتایج کاملاً معکوس بود (۲۹).

پتاسیم به عنوان یکی از ترکیبات اصلی پوسته زمین به طور متوسط ۲/۵۸ درصد جرم پوسته را تشکیل می‌دهد. میانگین مقدار پتاسیم در خاک‌ها ۱/۲ درصد است و از نظر فراوانی عنصری، هفتمین و به عنوان عنصر غذایی برای گیاه، چهارمین عنصر شیمیایی موجود در سنگ‌کره محسوب می‌شود (۳۱). پتاسیم خاک بر اساس میزان سهل‌الوصول بودن برای گیاه به چهار شکل محلول، تبادل، غیرتبادلی و ساختمانی تقسیم می‌شود. تعادل موجود بین اشکال مختلف پتاسیم خاک باعث تداوم تأمین پتاسیم مورد نیاز گیاه شده و این روابط تعادلی در تغذیه گیاه از اهمیت بالایی برخوردارند (۶). ۹۰ تا ۹۹ درصد پتاسیم خاک درون کانی‌ها به‌ویژه میکاها، فلدسپارها و فرآورده‌های بدست آمده از هوازدگی آنها واقع شده است (۱۷). پتاسیم غیرتبادلی در تغذیه گیاه در شرایط کشت متراکم به‌ویژه در شرایطی که پتاسیم تبادلی کمتر از حد کفایت گیاه است، نقش مهمی

ایفا می‌نماید (۲۴). زمانیکه پتاسیم محلول و تبادل خاک به کمتر از حد کفایت گیاه کاهش می‌یابد، پتاسیم غیرتبادلی می‌تواند از بین لایه‌های کانی‌های رسی آزاد شود (۳۵). مقدار پتاسیم آزادشده در این شرایط زیر تأثیر مقدار و نوع کانی‌های پتاسیم‌دار مانند میکاها، فلدسپارهای پتاسیم و ورمی کولیت می‌باشد (۳۳).

تعدادی از پژوهشگران در آزمایش‌های گلدانی نشان داده‌اند که آزادسازی پتاسیم غیرتبادلی و ساختمانی می‌تواند رابطه نزدیکی با جذب و فعالیت گیاه داشته باشد. این پژوهشگران در بعضی موارد تغییر شکل کانی‌های محیط کشت را نیز گزارش کرده‌اند. ملکوری (۱۹۷۵) گیاه گندم را در شرایطی که بیوتیت تنها منبع تأمین پتاسیم بود کشت کرده و تغییر شکل بیوتیت به ورمی کولیت را در اثر جذب پتاسیم توسط گیاه گزارش نموده است (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر تغییر کانی‌شناسی ایلیت به اسمکتیت و کانی‌های مختلط در خاک‌های تحت کشت متراکم بدون کاربرد کود پتاسه گزارش شده است (۳۵). هینسنینجر و جیلارد (۱۹۹۳) ورمی کولیتی شدن فلوگوپیت را در ریزوسفر رای‌گراس در فاصله ۰/۵ میلی‌متری سطح ریشه ۸ روز و در فاصله ۲ میلی‌متری آن ۳۲ روز پس از کشت گزارش کردند (۱۸). برتلین و لیوال (۱۹۸۲) هوازدگی بیوتیت را در ریزوسفر ذرت به علت آزادسازی پتاسیم ساختمانی کانی گزارش کردند (۹). مجلی و وید (۱۹۷۸) ورمی کولیتی شدن کانی‌های تری‌اکتاهدرال بیوتیت و فلوگوپیت را بعد از چند هفته در ناحیه ریزوسفر سویا نشان دادند (۲۶). در مطالعات گذشته به نقش گیاهان تلقیح شده به وسیله میکروارگانیسم‌ها از جمله قارچ‌های میکوریزا پرداخته شده است (۹) و (۲۶). با توجه به اهمیت همزیستی قارچ‌های اندوفایت با گراس‌های سردسیری به‌ویژه فسکیوی بلند و سابقه مطالعات انجام شده در آزادسازی پتاسیم از کانی‌های میکایی و تغییر و تحولات آن‌ها با قاطعیت می‌توان گفت که تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با تأثیر این قارچ‌ها در آزادسازی پتاسیم ساختمانی کانی‌های میکایی و تغییر و تحولات آن‌ها صورت نگرفته است لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر قارچ‌های اندوفایت بر تغییر و تحولات فلوگوپیت و موسکویت و میزان جذب پتاسیم از این کانی‌ها به وسیله گیاه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد. فاکتورهای آزمایش شامل: نوع کانی پتاسیم دار در سه سطح فلوگوپیت، موسکویت و شن کوارتزی (شاهد)، نوع محلول غذایی در دو سطح بدون پتاسیم و محلول غذایی کامل و دو نوع فسکیوی بلند شامل فسکیوی بلند حاوی اندوفایت ( $E^+$ ) و عاری از اندوفایت ( $E^-$ ) بود.

آزمایش گلدانی در گلدان‌های ۷۰۰ گرمی حاوی مخلوط شن

منظور برای هر گلدان دو گیاهچه که به خوبی از خاک جدا شده و با آب مقطر شستشو شده بود به گلدان‌های آزمایشی منتقل و آبیاری با آب مقطر انجام شد. پس از دو هفته استقرار گیاهچه‌ها در گلدان‌های اصلی آن‌ها را از دو سانتی‌متری بالای طوقه قطع کرده تا تمامی وزن خشک تولیدی گیاه به محیط کشت جدید مرتبط باشد. در طول دوره ۱۴۰ روزه کشت از آب مقطر به منظور آبیاری و از محلول غذایی در دو نوع کامل یا بدون پتاسیم (۳۴) بر حسب نوع تیمار، برای تغذیه گیاهان استفاده شد. به منظور ارزیابی وضعیت محیط کشت در طول دوره کشت سه مرتبه زهکش گلدان‌ها در فواصل ۵۰، ۸۰ و ۱۲۰ روز پس از کشت جمع‌آوری شد. بدین گونه که ابتدا گلدان‌ها را از لحاظ رطوبتی به حد اشباع رسانده و پس از خروج مقدار مشابه آب از تمام گلدان‌ها به میزان مساوی آب به گلدان‌ها اضافه و عصاره محیط کشت از ته گلدان جمع‌آوری شد و در عصاره بدست آمده مقدار pH مورد ارزیابی قرار گرفت.

برداشت فسکیوی بلند در ۳ مرحله در طول دوره کشت انجام شد. در هر مرحله وزن خشک گیاه اندازه‌گیری و عصاره‌گیری از آن به روش خاکستر خشک (۳) انجام و غلظت پتاسیم موجود در عصاره به وسیله شعله‌سنج تعیین شد. در پایان جذب کل مجموع چین‌ها محاسبه گردید. همچنین ریشه نیز در پایان دوره کشت از بستر کشت جدا شده و با آب مقطر شستشو و به روش مشابه اندام‌هوایی تجزیه گردید.

به منظور بررسی تغییر و تحولات کانی‌های میکایی تحت کشت، نمونه‌برداری از محیط کشت پس از اتمام دوره کشت به عمل آمد. بدین منظور از تیمارهای حاوی کانی میکایی (فلوگوپیت و موسکویت) نمونه‌برداری انجام شد. برای نمونه‌برداری از بستر کشت، تمامی محتویات گلدان خارج گردید و پس از برش دادن قسمت‌های رویی و انتهایی که حاوی شن کوارتزی خالص بوده، از قسمت وسط گلدان به ویژه از اطراف ریشه اصلی نمونه‌برداری انجام شد. سپس، نمونه تهیه شده را بر روی الک ۲۳۰ مش قرار داده شد تا ذرات کانی که کوچک‌تر از ۶۳ میکرون بودند جدا شود و پس از حذف ماده آلی، جداسازی بخش سیلنت از رس کانی‌ها انجام شد. عمل اشباع‌سازی رس با منیزیم و پتاسیم انجام شد.

کوارتزی (به عنوان ماده پرکننده) و کانی میکایی انجام شد. شن کوارتزی و کانی میکایی از معادنی در همدان تهیه گردید و به منظور بررسی ترکیب عنصری هر کدام از مواد ذکر شده تجزیه عنصری فلورسانس پرتو ایکس (XRF) قبلاً انجام شده بود (جدول ۱). همچنین نوروزی و خادمی (۲۰۰۹)، با انجام مطالعات پراش پرتو ایکس (XRD) کانی‌های میکایی، خلوص کانی‌شناسی آن‌ها و در نتیجه مناسب بودن آن‌ها جهت بررسی آزمایشگاهی را به اثبات رسانیده بودند (۲۸). پس از اطمینان از وجود مقادیر ناچیز پتاسیم در شن کوارتزی تهیه شده، از این ماده به عنوان ماده پرکننده بستر کشت استفاده شد. از شن کوارتزی در اندازه بزرگ‌تر از ۲۰۰ مش و کانی‌های میکایی در اندازه کوچک‌تر از ۲۳۰ مش استفاده شد. برای حذف ناخالصی‌های موجود در سطوح تبادل کانی‌های میکایی و همچنین اطمینان از عدم وجود پتاسیم محلول و تبادل، کانی‌های میکایی ابتدا با کلرور کلسیم ۰/۵ نرمال اشباع شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. طبق جدول ۱ مقدار  $K_2O$  موجود در فلوگوپیت و موسکویت به ترتیب ۹/۲۹ و ۹/۹۸ درصد می‌باشد. مقدار کانی اضافه شده به هر گلدان به گونه‌ای بود که به میزان مساوی ۰/۲۵ درصد  $K_2O$  تأمین نماید. به این ترتیب طبق محاسبه برای تأمین ۰/۲۵ درصد  $K_2O$  در محیط ۶۰۰ گرمی وسط گلدان، ۱۶/۱۴ گرم فلوگوپیت و ۱۵/۰۳ گرم موسکویت برای هر یک از تیمارهای مربوطه لازم بود. کوکوپیت نیز به عنوان ماده آلی جهت بهسازی محیط کشت به میزان ۰/۲ درصد به بستر کشت اضافه گردید. نتایج تجزیه کوکوپیت مورد استفاده نشان داد که این ماده آلی به ترتیب حاوی ۰/۰۰۰۲۵، ۰/۸۰ و ۴۸ درصد پتاسیم، نیتروژن و کربن می‌باشد. بنابراین با توجه به مقدار ناچیز پتاسیم موجود در کوکوپیت از آن به عنوان بهساز محیط کشت استفاده گردید.

برای کشت فسکیوی بلند از کلون‌های حاوی و عاری از اندوفایت ژنوتیپ 75B استفاده گردید. کلون‌های ذکر شده از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان به گلخانه منتقل شد و به مدت یک ماه در خاک سبک لومی کشت گردید. آلوده بودن کامل کلون‌های  $E^+$  به قارچ اندوفایت توسط روش رنگ‌آمیزی غلاف برگ تعیین گردید (۳۰). پس از مشاهده میکروسکوپی و اطمینان از آلوده بودن گیاهان با قارچ اندوفایت در گروه  $E^+$  (تصویر ۱) و اطمینان از عدم وجود آلودگی در گروه  $E^-$ ، انتقال آن‌ها به گلدان‌های اصلی انجام شد. بدین

جدول ۱- تجزیه عنصری شن کوارتزی و کانی‌های میکایی مورد استفاده در پژوهش بر حسب درصد با استفاده از فلورسانس پرتو ایکس (۲۸)

| Total | LOI* | TiO <sub>2</sub> | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | MnO  | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | CaO  | K <sub>2</sub> O | SiO <sub>2</sub> | Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | MgO   | Na <sub>2</sub> O | نوع کانی   |
|-------|------|------------------|-------------------------------|------|--------------------------------|------|------------------|------------------|--------------------------------|-------|-------------------|------------|
| ۹۹/۵۴ | ۴/۵  | ۰/۰۶             | ۰/۰۳                          | ۰/۰۶ | ۱/۷۶                           | ۰/۱۷ | ۹/۹۸             | ۴۸/۳۴            | ۳۳/۹۲                          | ۰/۰۸  | ۰/۶۴              | موسکویت    |
| ۹۹/۶۳ | ۰/۹۰ | ۰/۵۶             | ۰/۰۳۷                         | ۰/۱۱ | ۴/۶۹                           | ۴/۲۱ | ۹/۲۹             | ۴۲/۲۴            | ۱۴/۶۰                          | ۲۲/۵۴ | ۰/۴۵              | فلوگوپیت   |
| ۹۹/۸۶ | ۰/۴۸ | -                | -                             | -    | ۰/۵۷                           | ۰/۶۱ | <۰/۱۰            | ۹۷/۵۰            | ۰/۳۶                           | ۰/۱۱  | <۰/۱۰             | شن کوارتزی |

LOI: کاهش وزن در دمای بالا

دو نوع گیاه، در بسترهای مختلف کشت و به تفکیک شرایط تغذیه‌ای نشان می‌دهد. بیشترین مقدار جذب گیاه در گلدان‌های تغذیه شده با محلول غذایی کامل دیده می‌شود که امری کاملاً بدیهی است. در شرایط تغذیه‌ای با پتاسیم اختلاف معنی‌دار در بین گیاهان حاوی و عاری از اندوفایت در بسترهای مختلف مشاهده نمی‌شود. در بین بسترهای کشت در دو حالت تغذیه‌ای بیشترین مقدار جذب به بستر کشت فلوگوپیت اختصاص دارد و پس از آن موسکویت و شن کوارتزی قرار می‌گیرند. در تیمار فلوگوپیت و شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم گیاهان حاوی اندوفایت جذب پتاسیم بالاتری در مقایسه با گیاهان عاری از اندوفایت دارند که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) است. در تیمار موسکویت و تغذیه شده با محلول غذایی بدون پتاسیم جذب پتاسیم در گیاه بسیار کم بوده به طوری که اختلاف معنی‌داری با بستر شن کوارتزی (شاهد) نشان نمی‌دهد و علائم کمبود پتاسیم نیز در گیاهان در این بستر کشت به وضوح قابل رویت بود.

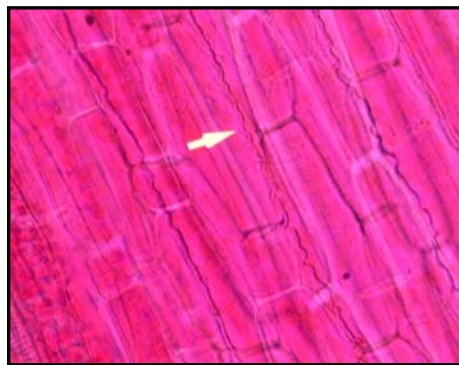
بعلاوه تیمار اتیلن گلیکول برای نمونه‌های اشباع با منیزیم و تیمار حرارت برای نمونه‌های اشباع با پتاسیم اعمال گردید. نمونه‌ها با دستگاه پراش سنج پرتو ایکس از نوع بروکر مدل D8 دارای تکفام-ساز و تابش  $Cu-K_{\alpha}$  با جریان ۳۰ میلی‌آمپر و ولتاژ ۴۰ کیلوولت مورد تجزیه کانی‌شناسی قرار گرفته و تفسیر شدند. از شدت نسبی قله‌های پراش‌نگاشت پرتو ایکس جهت تحلیل کمی کانی‌شناسی استفاده گردید.

داده‌های بدست آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت همچنین آزمون مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام شد. از نرم‌افزار Origin 7 جهت رسم پراش‌نگاشت‌های پرتو ایکس استفاده شد.

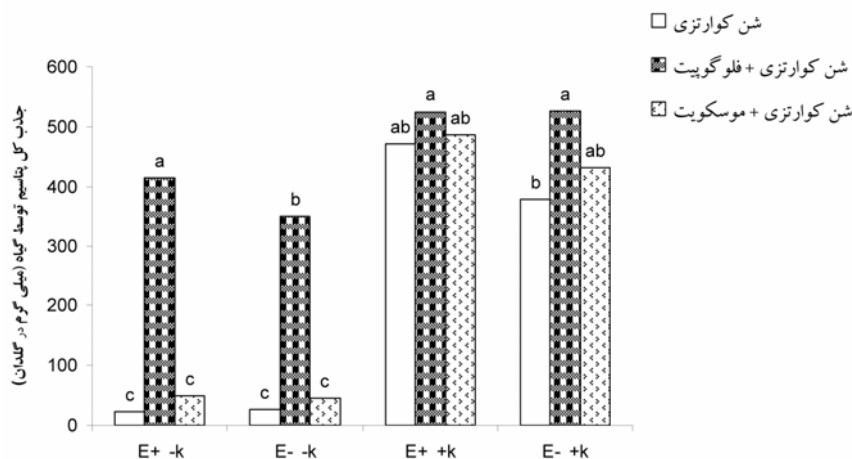
## نتایج و بحث

### جذب کل پتاسیم توسط گیاه

شکل ۱ کل پتاسیم جذب شده (اندام هوایی + ریشه) را به وسیله



تصویر ۱- تصویر میکروسکوپی قارچ اندوفایت. فلش میسلیم مارپیچی قارچ را در بین دیواره‌های سلولی نشان می‌دهد.



شکل ۱- نمودار جذب کل پتاسیم گیاه در تیمارهای متفاوت.  $E^+$  و  $E^-$  به ترتیب حضور و عدم حضور اندوفایت و  $K^+$  و  $K^-$  به ترتیب محلول غذایی حاوی و عاری از پتاسیم را نشان می‌دهند. حروف مشابه در هر نوع محلول غذایی نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۲- شدت نسبی قله ۱/۴ به ۱/۰ نانومتر به تفکیک نوع کانی، نوع محلول غذایی و نوع گیاه حاوی و عاری از اندوفایت

| نوع کانی     | شاهد (قبل از آزمایش) | حاوی اندوفایت     |                   | بدون اندوفایت     |                   |
|--------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|              |                      | بدون پتاسیم       | پتاسیم دار        | بدون پتاسیم       | پتاسیم دار        |
| فلوگوپیت     | ۰/۰۰۵                | <sup>a</sup> ۴/۰۶ | <sup>c</sup> ۰/۱۵ | <sup>b</sup> ۱/۱  | <sup>c</sup> ۰/۰۸ |
| انحراف معیار |                      | ۰/۳۷              | ۰/۰۳              | ۰/۳۷              | ۰/۰۱              |
| موسکویت      | ۰/۰۰۷                | <sup>c</sup> ۰/۰۷ | <sup>c</sup> ۰/۰۵ | <sup>c</sup> ۰/۱۴ | <sup>c</sup> ۰/۰۳ |
| انحراف معیار |                      | ۰/۰۲              | ۰/۰۱              | ۰/۱۰              | ۰/۰۰۴             |

میانگین‌های با حروف مشترک در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

۲/۲۵۰ و ۳/۳۷۵ گرم پتاسیم در گلدان کشت کردند و در پایان دوره کشت درصد تخلیه پتاسیم توسط گیاه در هر یک از بسترهای کشت محاسبه گردید. نتایج نشان داد که بیشترین تخلیه در بستر ورمی-کولیت زمانیکه پتاسیم اضافه شده ۰/۵۶۲ گرم در گلدان بود رخ داد. در این شرایط گیاه قادر به تخلیه ۷۴/۸ درصد از پتاسیم اضافه شده به محیط کشت بوده است (۳۶).

#### آنالیز پراش پرتو ایکس کانی‌های میکایی قبل از انجام کشت

شکل‌های ۳ - الف و ۳ - ب به ترتیب پراش‌نگاشت‌های پرتو ایکس کانی‌های فلوگوپیت و موسکویت در اندازه رس را قبل از انجام کشت نشان می‌دهد. در نمونه فلوگوپیت قله‌های رده اول (۰۰۱) و رده سوم (۰۰۳) به ترتیب ۱/۰ و ۰/۳۳ نانومتر به وضوح قابل مشاهده است. این دو قله در تمامی میکاها وجود دارد. البته در نمونه اشباع با منیزیم فلوگوپیت قله بسیار ضعیف ۰/۵ نانومتر که رده دوم (۰۰۲) میکاهای دی‌اکتاهدرال است، بسیار ضعیف دیده می‌شود. در نمونه‌های اشباع با منیزیم و اتیلن گلیکول، اشباع از پتاسیم و تیمار حرارتی ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد هیچ تغییری در قله‌های ۱/۰ و ۰/۳۳ نانومتر مشاهده نشد. بنابراین نمونه فلوگوپیت مورد استفاده نسبتاً خالص می‌باشد و مقدار ناچیز موسکویت همراه دارد. شکل ۳ - ب، پراش-نگاشت‌های پرتو ایکس مربوط به بخش رس کانی موسکویت را نشان می‌دهد. در این شکل در تیمار اشباع با منیزیم علاوه بر دو قله معمولی کانی‌های میکایی یعنی قله‌های رده اول و سوم ۱/۰ و ۰/۳۳ نانومتر قله رده دوم (۰/۵ نانومتر) به طور واضح مشاهده می‌شود. در واقع این یک روش معمولی در تشخیص کانی‌های میکایی دی و تری‌اکتاهدرال است، به طوری‌که اگر قله ۰/۵ نانومتر به طور واضح در میکا وجود داشته باشد نشان دهنده دی‌اکتاهدرال بودن آن است و اگر این قله وجود نداشته باشد یا ضعیف باشد آن میکا تری‌اکتاهدرال است (۱۴). نمونه موسکویت قبل از انجام کشت در تیمارهای اشباع با منیزیم و اتیلن گلیکول، اشباع با پتاسیم و تیمار حرارت بدون تغییر مانده و نمونه موسکویت مورد استفاده خالص به نظر می‌رسد.

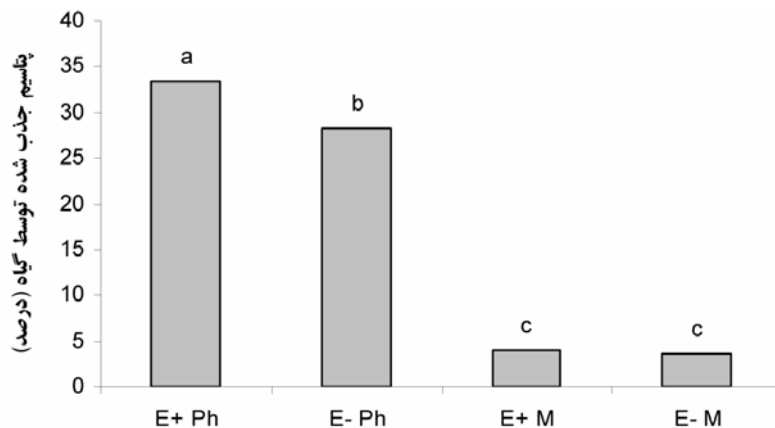
علاوه بر مطالعات XRD نتایج مطالعات XRF (جدول ۱) نیز اطلاعات مفیدی در رابطه با کانی‌های مورد استفاده در آزمایش نشان

این مسئله به اختلاف دو کانی، فلوگوپیت به عنوان میکای تری-اکتاهدرال و موسکویت به عنوان میکای دی‌اکتاهدرال در آزادسازی پتاسیم برمی‌گردد. خالی بودن یک موقعیت از سه موقعیت ورقه اکتاهدرال در موسکویت، باعث می‌شود، یون هیدروژن از موقعیت عمودی فاصله گرفته و به طرف موضع خالی متمایل شود. این امر باعث می‌شود که پتاسیم در این نوع از میکا نسبت به میکاهای تری-اکتاهدرال (فلوگوپیت) بیشتر زیر تأثیر میدان الکتریکی مربوط به یون هیدروکسیل قرار گرفته و آزادسازی پتاسیم بین لایه‌ای مشکل‌تر شود (۱۴).

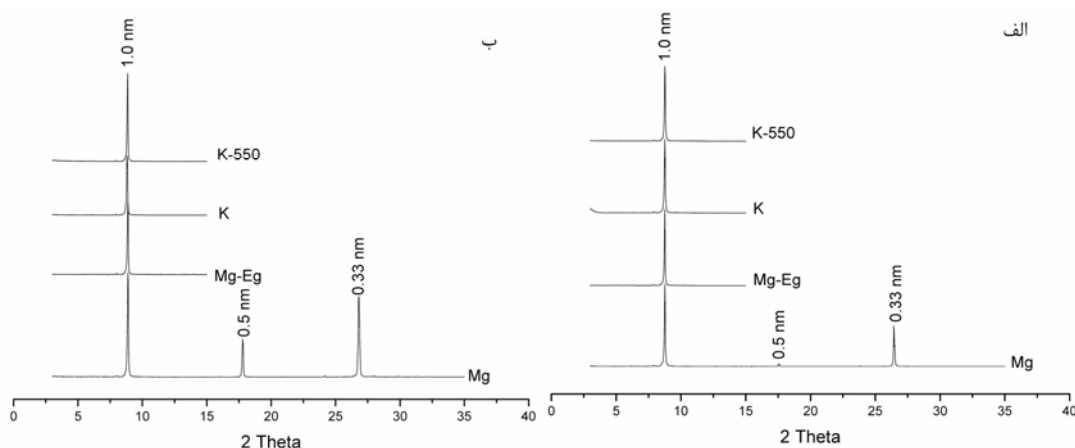
#### میزان تخلیه پتاسیم کانی‌ها در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم

شکل ۲ درصد تخلیه پتاسیم غیرتبادلی و ساختمانی فلوگوپیت و موسکویت را به تفکیک حضور یا عدم حضور اندوفایت نشان می‌دهد. در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم، گیاه تمامی پتاسیم مورد نیاز خود را از طریق کانی تأمین کرده است و با انجام محاسبه و تعیین درصد تخلیه پتاسیم می‌توان دریافت که گیاهان در حضور قارچ اندوفایت قادر به تخلیه ۳۳/۳۵ درصد از پتاسیم موجود در کانی فلوگوپیت بوده‌اند. در حالیکه در شرایط بدون اندوفایت میزان تخلیه ۲۸/۱۷ درصد بوده است که این اختلاف بین گیاهان حاوی و عاری از اندوفایت از نظر آماری معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) است. درصد تخلیه پتاسیم کانی موسکویت در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم بسیار محدود و برابر با ۳/۸۹ و ۳/۶۵ درصد به ترتیب برای گیاهان حاوی و عاری از اندوفایت می‌باشد. این نشان می‌دهد که موسکویت در آزادسازی پتاسیم در محیط ریزوسفر مقاومت نشان داده و مسلماً چنین درصد تخلیه‌ای پاسخگوی نیاز گیاهان در طول دوره کشت نبوده است. ونت‌ورت و روسی (۱۹۷۲) گیاه جو را در شرایط گلخانه‌ای به مدت ده هفته در بستر شن کوارتزی و کانی‌های موسکویت، فلوگوپیت، بیوتیت، ایلیت، و ورمی‌کولیت تحت کشت قرار دادند. نتایج نشان داد که بیشترین جذب پتاسیم توسط گیاه به بسترهای ورمی‌کولیت، ایلیت و بیوتیت اختصاص دارد و کمترین جذب پتاسیم در بسترهای موسکویت و فلوگوپیت ایجاد شد. در این تحقیق همچنین گیاه را با همان بسترهای کشت در چهار سطح پتاسیم شامل ۰/۵۶۲، ۰/۱۲۵،

می‌دهند. بالا بودن درصد اکسید منیزیم در نمونه فلوگوپیت تری- اکتاهدرا ل بودن این کانی را تأیید می‌کند. مقدار ناچیز منیزیم موجود در موسکویت و از سوی دیگر مقدار بالای آلومینیوم موجود در این کانی دلایل دیگری بر دی‌اکتاهدرا ل بودن آن است.



شکل ۲- درصد پتاسیم جذب شده توسط گیاه از کل پتاسیم اضافه شده در گلدان‌های حاوی فلوگوپیت و موسکویت تغذیه شده با محلول غذایی بدون پتاسیم،  $E^+$  و  $E^-$  به ترتیب حضور و عدم حضور اندوفایت و Ph و M به ترتیب کانی‌های فلوگوپیت و موسکویت را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حروف مشترک در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند



شکل ۳- پراش‌نگاشت پرتو ایکس تیمارهای مختلف بخش رس کانی‌های فلوگوپیت (الف) و موسکویت (ب) مورد استفاده در پژوهش قبل از انجام کشت. K-550 و K، Mg-Eg، Mg به ترتیب نشان دهنده تیمارهای اشباع با منیزیم، منیزیم و اتیلن گلیکول، پتاسیم و پتاسیم و حرارت ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشند.

جدول ۳- میانگین مقادیر pH ریزوسفر گیاهان در سه مرحله نمونه‌برداری از زهکش در کل تیمارهای با و بدون پتاسیم

| میانگین           | نوع گیاه | زمان نمونه‌گیری از زهکش |
|-------------------|----------|-------------------------|
| <sup>b</sup> ۷/۴۴ | $E^+$    | ۵۰ روز پس از کشت        |
| <sup>a</sup> ۷/۶۷ | $E^-$    |                         |
| <sup>b</sup> ۷/۱۶ | $E^+$    | ۸۰ روز پس از کشت        |
| <sup>a</sup> ۷/۳۷ | $E^-$    |                         |
| <sup>a</sup> ۷/۲۲ | $E^+$    | ۱۲۰ روز پس از کشت       |
| <sup>a</sup> ۷/۱۵ | $E^-$    |                         |

میانگین‌های با حروف مشترک در هر یک از زهکش‌ها در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

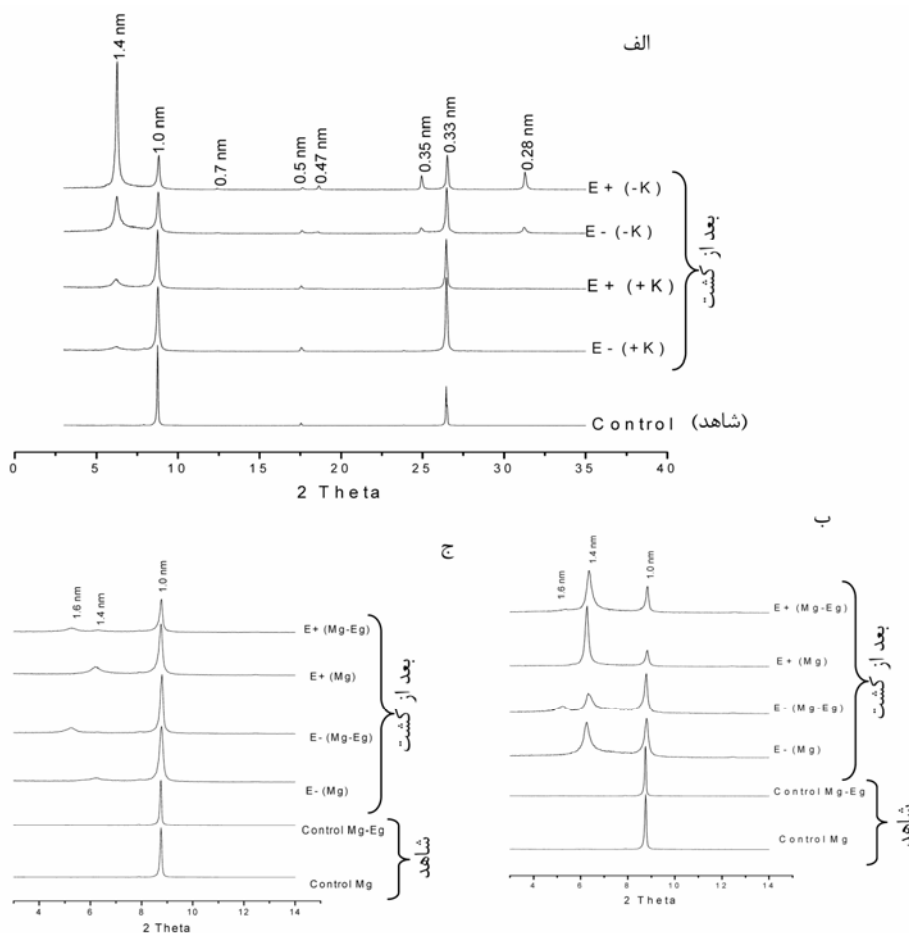
کانی‌های میکایی و قله  $1/4$  نانومتر که پس از دوره کشت تشکیل شده است، قله‌های  $0/7$ ،  $0/47$ ،  $0/35$  و  $0/28$  نانومتر نیز وجود دارند که در کنار قله  $1/4$  نانومتر می‌توانند تشکیل مقادیر بسیار ناچیز کانی کلریت را نشان دهند. البته گزارش تشکیل کانی کلریت با بررسی دقیق سایر تیمارها صورت گرفته است، (پراش‌نگاشت‌های سایر تیمارها نشان داده نشده است). زیرا پایداری بخش کوچکی از قله  $1/4$  نانومتر در تیمارهای پتاسیم اشباع و تیمار حرارت  $550$  درجه به مدت  $2$  ساعت و حضور قله‌های یاد شده در تیمار اشباع با پتاسیم می‌تواند دلیلی محکم بر حضور این کانی باشد.

در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم، حضور قله  $1/6$  نانومتر در تیمار اشباع با منیزیم و اتیلن گلیکول از تشکیل مقدار کمی کانی اسمکتیت حکایت دارد (شکل ۴ - ب). لازم به ذکر است که در شرایط عدم حضور قارچ اندوفایت شدت قله  $1/6$  نانومتر بیشتر از حالتی است که قارچ اندوفایت حضور دارد. در شرایط حضور قارچ اندوفایت تبدیل فلوگوپیت به کانی ورمی کولیت بیشتر صورت گرفته و در شرایط عدم حضور اندوفایت ورمی کولیت کمتر و اسمکتیت بیشتر به وجود آمده است. در تیمارهای اشباع با منیزیم و اتیلن گلیکول و در شرایط تغذیه با محلول غذایی با پتاسیم نیز از شدت قله  $1/4$  نانومتر کاسته و قله  $1/6$  نانومتر تشکیل شده است (شکل ۴ - ج). در این شرایط نیز همانند شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم شدت قله  $1/6$  حاصله در تیمار بدون قارچ بیشتر از شرایطی است که قارچ اندوفایت حضور دارد. این در حالیست که نسبت قله  $1/4$  به  $1/0$  نانومتر در شرایط حضور قارچ در این تیمار بیشتر است. در مجموع می‌توان تشکیل کانی‌های ورمی - کولیت، اسمکتیت و کلریت در بستر کشت فلوگوپیت را گزارش نمود. تفاوت در گونه‌های گیاهی باعث تفاوت در انواع و کیفیت تراوه - های رها شده می‌شود که اثرات متفاوت بر خاک و جامعه میکروبی خواهد داشت (۷). مطالعات فاجریا و استون (۲۰۰۵) نشان می‌دهد، شرایط کمبود پتاسیم در ریزوسفر ذرت، باعث افزایش تراوش قندها، اسیدهای آلی و آمینواسیدها شده و آزادسازی پتاسیم غیرتبادلی فلدسپار به علت ترشح اسیدهای مانند سیتریک و اگزالیک در ریزوسفر رخ می‌دهد (۱۳). مقیمی و همکاران (۱۹۷۸) ذکر می‌کنند که در خانواده گرامینه مکانیسم‌های تحصیل برخی از عناصر غذایی اسیدی کردن ریزوسفر می‌باشد (۲۵). گرکه و همکاران (۱۹۹۴) افزایش خروج پروتون‌ها و کاهش ترشح ترکیبات کربوکسیلات را در اثر کمبود پتاسیم در گندم، چغندر قند و کلزا گزارش نمود (۱۵). هینسینجر و همکاران (۱۹۹۳) از گیاه کلزا به عنوان گونه گیاهی شناخته شده با توانمندی بالا در تولید پروتون استفاده کرده و آزادسازی پتاسیم از کانی فلوگوپیت را در محیط ریزوسفری این گیاه مورد بررسی قرار دادند. رهاسازی قابل توجه پتاسیم و منیزیم به ترتیب  $4$  و  $8$  روز پس از کشت مشاهده شد. این پژوهشگران مقادیر pH ریزوسفر را مورد بررسی قرار داده و ذکر نمودند که مقادیر pH از حدود خنثی به حدود  $4$  کاهش یافته است.

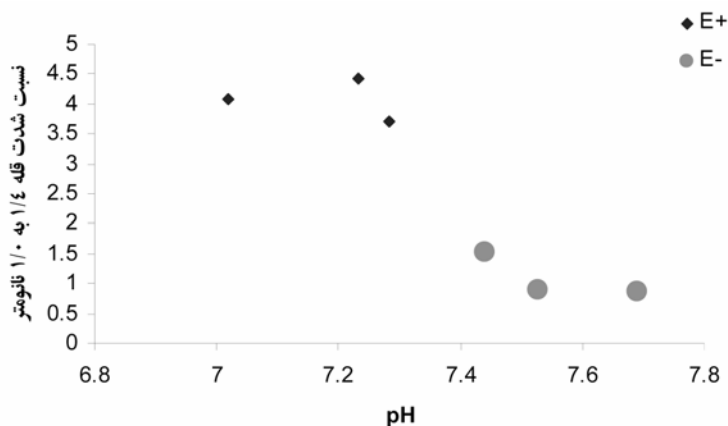
## کانی‌شناسی بخش رس بسترهای حاوی فلوگوپیت در پایان دوره کشت

شکل ۴ - الف پراش‌نگاشت پرتو ایکس نمونه‌های اشباع با منیزیم کانی فلوگوپیت را در دو حالت تغذیه‌ای و به تفکیک حضور و عدم حضور قارچ اندوفایت نشان می‌دهد. در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم که فلوگوپیت تنها منبع تأمین پتاسیم مورد نیاز گیاه بوده است، در هر دو شرایط حضور و عدم حضور قارچ اندوفایت از شدت قله  $1/0$  نانومتر کاسته شده و قله  $1/4$  نانومتر تشکیل شده است. اما همانطور که جدول ۲ نشان می‌دهد نسبت شدت قله  $1/4$  به  $1/0$  نانومتر در تیمار حاوی اندوفایت  $4/06$  و در شرایط بدون اندوفایت  $1/1$  است. در واقع تأثیر قارچ بر نسبت قله  $1/4$  به  $1/0$  نانومتر از نظر آماری در سطح  $95$  درصد معنی‌دار بوده است. مجللی و وید (۱۹۷۸) گزارش کردند ریشه‌های سویا که با میکوریزای وزیکولار آربسکولار (vesicular arbuscular) همزیست شده و روی بیوتیت، فلوگوپیت و موسکویت کشت گردیدند، فرآیند آزاد شدن و خارج کردن پتاسیم از بیوتیت و سپس فلوگوپیت را تشدید می‌کنند و منجر به ورمی کولیتی شدن بیوتیت و تا حدی فلوگوپیت می‌شوند، اما هیچ تغییر کانی‌شناسی در موسکویت تحت کشت گیاه و همزیستی با میکوریزا دیده نشد (۲۶). در همین شکل (۴ - الف) در شرایط تغذیه‌ای با پتاسیم نیز همانند شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم از شدت قله  $1/0$  نانومتر کاسته و قله  $1/4$  نانومتر تشکیل شده است. البته همانطور که جدول ۲ نیز نشان می‌دهد نسبت شدت قله  $1/4$  به  $1/0$  نانومتر در این حالت در مقایسه با شرایط بدون پتاسیم کمتر بوده و اختلاف معنی‌دار از این لحاظ وجود دارد. در این حالت نیز نسبت شدت قله  $1/4$  به  $1/0$  نانومتر در شرایط حضور قارچ بیشتر از شرایط عدم حضور آن است. در شرایط تغذیه با محلول غذایی با پتاسیم اگرچه پتاسیم مورد نیاز گیاه از طریق محلول غذایی تأمین می‌شود اما شرایط ریزوسفری و تراوه - های ریشه گیاه، سرعت رشد، نیاز و مقدار جذب گیاه باعث می‌شوند که مقداری از پتاسیم موجود در کانی نیز آزاد گردد و تغییر شکل کانی فلوگوپیت به کانی جدید رخ دهد. در طول دوره کشت ریشه گیاهان با ترشح اسیدهای آلی و سایر ترکیبات به ویژه در منطقه ریزوسفر موجب هوادهی شدن کانی فلوگوپیت در هر دو شرایط تغذیه‌ای شده و پتاسیم بین لایه‌ای کانی را آزاد نموده و در نتیجه فلوگوپیت به یکی از کانی‌های منبسط‌شونده (ورمی کولیت یا اسمکتیت) تبدیل شده است. نوروزی و خادمی (۲۰۰۹) ورمی کولیتی شدن دو کانی فلوگوپیت و بیوتیت را پس از  $90$  روز کشت در ناحیه ریزوسفر یونجه نشان دادند (۲۸). آن‌ها بیشترین نسبت شدت قله  $1/4$  به  $1/0$  نانومتر را در نمونه فلوگوپیت تغذیه شده با محلول غذایی بدون پتاسیم و تحت کشت یونجه به میزان  $1/57$  گزارش کردند.

حضور قله  $1/4$  نانومتر می‌تواند نشان‌دهنده حضور یکی یا چند کانی شامل ورمی کولیت، اسمکتیت و یا کلریت باشد. در شکل ۴ - الف در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم علاوه بر قله‌های معمول



شکل ۴- پراش نگاشت پرتو ایکس بخش رس کانی فلوگوپیت و محصولات هوادیدگی احتمالی آن در پایان دوره کشت (الف) تیمار منیزیم اشباع به تفکیک حضور اندوفایت و شرایط تغذیه‌ای، (ب) تیمارهای منیزیم اشباع و منیزیم و اتیلن گلیکول اشباع در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم و (ج) تیمارهای منیزیم اشباع و منیزیم و اتیلن گلیکول اشباع در شرایط تغذیه‌ای با پتاسیم.  $E^+$  و  $E^-$  به ترتیب حضور و عدم حضور اندوفایت و  $+K$  و  $-K$  به ترتیب شرایط تغذیه‌ای با و بدون پتاسیم را نشان می‌دهند. همچنین  $Mg-Eg$  و  $Mg$  به ترتیب شرایط اشباع با منیزیم و اشباع با منیزیم و اتیلن گلیکول را نشان می‌دهند.



شکل ۵- رابطه بین میانگین مقدار pH ریزوسفر و نسبت شدت قله ۱/۴ به ۱/۰ نانومتر پراش نگاشت پرتو ایکس بستر فلوگوپیت در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم



با توجه به اینکه در تیمار اشباع با اتیلن گلیکول هیچ تغییری در قله ۱/۴ نانومتر حاصل نشده است می‌توان گفت که کانی حاصله ورمی-کولیت می‌باشد. هیچ یک از تحقیقات گذشته تغییر کانی‌شناسی موسکویت را به یکی از کانی‌های منبسط شونده گزارش نکرده‌اند. به نظر می‌رسد طولانی بودن دوره کشت و نیاز شدید گیاه به پتاسیم این تغییر کانی‌شناسی مختصر را ایجاد کرده است. در هر حال موسکویت یک میکای دی‌اکتاهدرال و مقاوم به هوازدگی است و حتی تراوه‌های ریشه‌ای ریزوسفر گیاه قادر به هوازدگی نمودن آن نبوده‌اند و به همین دلیل در طول دوره رشد گیاهان از کمبود پتاسیم رنج برده و در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم عملکرد بسیار پایینی در مقایسه با گیاهان کشت شده در بستر کشت فلوگوپیت تولید نموده‌اند.

### جمع‌بندی نتایج

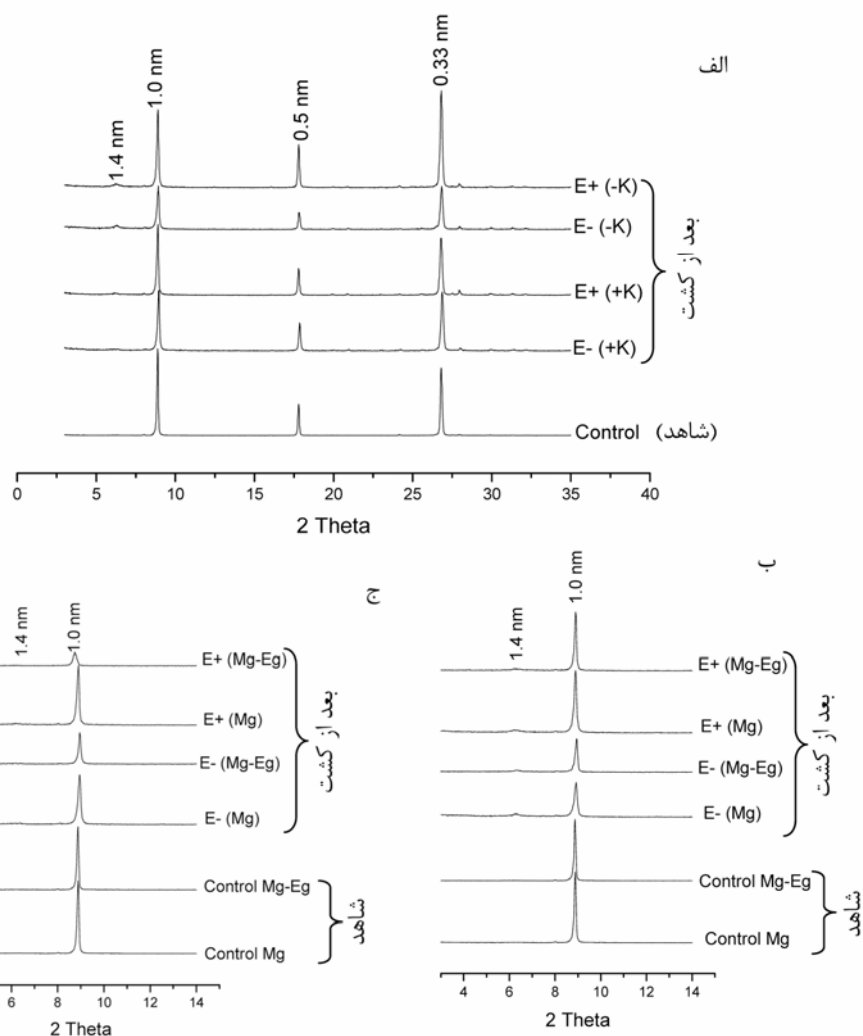
پس از ۱۴۰ روز کشت، ورمی‌کولیتی شدن شدید کانی فلوگوپیت در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم در ریزوسفر فسکیوی بلند حاوی اندوفایت مشاهده شد. در حالیکه در ریزوسفر گیاهان عاری از اندوفایت شدت ورمی‌کولیتی شدن فلوگوپیت با شدت بسیار کمتر اتفاق افتاد. در محیط کشت حاوی فلوگوپیت، کانی اسمکتیت نیز تشکیل گردید. و شدت قله اسمکتیت در تیمارهای بدون اندوفایت بیشتر از شرایط حضور اندوفایت است. با توجه به کاهش pH محیط ریزوسفر در شرایط حضور اندوفایت می‌توان دریافت که همزیستی این قارچ با گیاه بر تراوه‌های ریشه تأثیر گذاشته و ترشح ترکیباتی همچون اسیدهای آلی را افزایش و هوازدگی کانی فلوگوپیت را تسریع کرده است. کانی کلریت نیز به مقدار بسیار کم در بستر فلوگوپیت در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم تشکیل شد و به جرأت می‌توان گفت که این اولین گزارش تشکیل کلریت در محیط ریزوسفری است. در شرایط تغذیه‌ای پتاسیم‌دار نیز علی‌رغم تأمین پتاسیم توسط محلول غذایی، قله بسیار ضعیف ورمی‌کولیت و اسمکتیت مشاهده گردید که این مسئله به علت نیاز بالای گیاه و تراوه‌های محیط ریزوسفر می‌باشد. در بستر کشت موسکویت نیز با توجه به دی‌اکتاهدرال بودن کانی و مقاومت آن به هوازدگی، ورمی-کولیتی شدن بسیار ضعیف در هر دو شرایط تغذیه‌ای و در هر دو نوع گیاه رخ داده است.

بنابراین آن‌ها بخشی از تغییرات رخ داده در ساختمان میکا را به خروج هیدروژن از ریشه‌های گیاه کلزا و کاهش pH ریزوسفر نسبت دادند (۱۹). مالدینوسکی و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که در شرایط کمبود فسفر، غلظت ترکیبات شبه فنولی در ریشه و اندام هوایی فسکیوی بلند حاوی اندوفایت بسیار بیشتر از گیاهان بدون اندوفایت است. ترکیبات شبه فنولی تراویده به وسیله ریشه گیاهان حاوی اندوفایت می‌تواند قابلیت جذب فسفر را از طریق اتصال با آهن و آلومینیوم محلول افزایش داده و به رشد گیاه در شرایط کمبود فسفر کمک کند (۲۲).

بنابراین، با توجه به آنچه که گفته شد، شرایط محیط ریزوسفر مانند کمبود پتاسیم، گونه گیاهی و همزیستی با قارچ اندوفایت همه از عواملی هستند که تراوه‌های ریزوسفری را زیر تأثیر قرار می‌دهند. اما با توجه به بررسی‌های pH محیط ریزوسفر که سه مرتبه در طول دوره کشت اندازه‌گیری شد و در جدول ۳ نشان داده شده است، می‌توان دریافت که در شرایط حضور قارچ اندوفایت مقادیر pH کاهش یافته و با نمونه بدون اندوفایت اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) نشان می‌دهد. همانطور که شکل ۵ نشان می‌دهد، در pH کمتر نسبت قله ۱/۴ به ۱/۰ نانومتر افزایش یافته است. بنابراین، از بین مکانیسم‌های ذکر شده، ترشح ترکیبات اسیدی از جمله تولید پروتون و یا اسیدهای آلی بیشتر، در شرایط حضور اندوفایت و کاهش اسیدیته ریزوسفر در توجیه تغییرات کانی‌شناسی محتمل‌تر است.

### کانی‌شناسی بخش رس بسترهای حاوی موسکویت در پایان دوره کشت

شکل ۶ - الف پراش‌نگاشت پرتو ایکس بخش رس کانی موسکویت و فرآورده‌های بدست آمده از هوازدگی آن را در تیمار اشباع با منیزیم به تفکیک حضور و عدم حضور اندوفایت و شرایط تغذیه‌ای مختلف نشان می‌دهد. در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم و در هر دو شرایط حاوی و عاری از اندوفایت مقدار کمی از شدت قله ۱/۰ نانومتر کاسته و قله بسیار ضعیف ۱/۴ نانومتر تشکیل شده است. حضور و عدم حضور اندوفایت در نسبت قله ۱/۴ به ۱/۰ نانومتر تأثیر معنی‌داری نداشته است. در شرایط تغذیه‌ای با پتاسیم نیز قله بسیار ضعیف ۱/۴ نانومتر تشکیل شده است. اشکال ۶ - ب و ۶ - ج پراش‌نگاشت پرتو ایکس تیمارهای اشباع با منیزیم و منیزیم و اتیلن گلیکول را به ترتیب در شرایط حاوی و عاری از پتاسیم نشان می‌دهند.



شکل ۶- پراش‌نگاشت پرتو ایکس بخش رس کانی موسکویت و محصولات هوادیدی احتمالی آن (الف) تیمار منیزیم اشباع به تفکیک حضور اندوفایت و شرایط تغذیه‌ای، (ب) تیمارهای منیزیم اشباع و منیزیم و اتیلن گلیکول اشباع در شرایط تغذیه‌ای بدون پتاسیم و (ج) تیمارهای منیزیم اشباع و منیزیم و اتیلن گلیکول اشباع در شرایط تغذیه‌ای با پتاسیم.  $E^+$  و  $E^-$  به ترتیب حضور و عدم حضور اندوفایت و  $+K$  و  $-K$  به ترتیب شرایط تغذیه‌ای با و بدون پتاسیم را نشان می‌دهند. همچنین  $Mg-Eg$  و  $Mg$  به ترتیب شرایط اشباع با منیزیم و اشباع با منیزیم و اتیلن گلیکول را نشان می‌دهند.

## منابع

- ۱- آهک‌پز، ف. ۱۳۷۹. تجزیه و تحلیل کاربوتیمی جمعیت‌های بومی گیاه فستوکا آروندیناسه، پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۱۵۰ صفحه.
- ۲- پارسائیان، م. ۱۳۸۲. تأثیر اندوفایت در بروز مقاومت به سرما در دو گونه فستوکا. پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۱۱۹ صفحه.
- ۳- خوشگفتارمنش، ا. ح. ۱۳۸۶. ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای گیاه و مدیریت بهینه کودی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۱۵۸ صفحه.
- ۴- سبزیلیان، م. ر. ۱۳۸۲. بررسی مقاومت به شوری القایی توسط اندوفایت در گیاه فسکیوی بلند. پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۸۶ صفحه.
- ۵- کوچکی، ع. ح. خیابانی و ح. سردنیا. ۱۳۶۹. تولید محصولات زراعی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۶۳۸ صفحه.
- ۶- ملکوتی، م. ع. ا. شهبابی و ک. بازرگان. ۱۳۸۴. پتاسیم در کشاورزی ایران. انتشارات سنا. ۲۹۲ صفحه.

- 7- Alvey, S., C. H. Yang., A. Buerkert and D. E. Crowley. 2003. Cereal/legume rotation effects on rhizosphere bacterial community structure in West African soils. *Biol. Fertil. Soils*. 37: 73-82.
- 8- Arachevaleta, M., C. W. Bacon, C. S. Hoveland and D. E. Radcliffe. 1989. Effect of the tall fescue endophyte on plant response to environmental stress. *Agron. J.* 81: 83-90.
- 9- Berthelin, J. and C. Leyval. 1982. Ability of symbiotic and nonsymbiotic rhizospheric microflora of maize (*Zea mays*) to weather micas and to promote plant growth and plant nutrition. *Plant Soil*. 68: 369-377.
- 10- Breen, J. P. 1994. Acremonium endophytic interactions with enhanced plant resistance to insects. *Annu. Rev. Entomol.* 3: 401-423.
- 11- Christensen, M. J., A. Leuchtmann., D. D. Rowan and B. A. Tapper. 1977. Taxonomy of Acremonium endophytes of tall fescue (*Festuca arundinacea*), meadow fescue (*F. prantensis*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Mycol. Res.* 97: 1083-1092.
- 12- Easton, H. S., G. C. M. Latch., B. A. Tapper and O. J. P. Ball. 2002. Ryegrass Host genetic control of concentration of Endophyte-derived Alkaloids. *Crop Sci.* 42: 51-57.
- 13- Fageria, N. K. and L. Stone. 2006. Physical chemical biological changes in the rhizosphere and nutrient availability. *J. Plant Nutr.* 29: 1327-1356.
- 14- Fanning, D. S., V. Z. Keramidas and M. A. El-Desoky. 1989. Micas. PP. 551-634. In: J. B. Dixon and S. B. Weed (Eds.), *Minerals in Soil Environments*. Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI.
- 15- Gerke, J., W. Romer and A. Jungk. 1994. The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *luinus albus* L., effects on soil solutions concentrations of phosphate, iron and aluminum in the proteoid rhizosphere in samples of an Oxisol and Luvisol. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 157: 289-294.
- 16- Hill, N. S. 1994. Ecological relationships of Balansiae-infected graminoids. In *Biotechnology of Endophytic Fungi of Grasses*. Eds. C. W. Bacon and J. F. White, Jr. pp 59–71. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- 17- Hinsinger, P. 2002. Potassium. In: Lal R (Ed) *Encyclopedia of Soil Science*. Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- 18- Hinsinger, P. and B. Jaillard. 1993. Root-induced release of interlayer potassium and vermiculitization of phlogopite as related to potassium depletion in the rhizosphere of ryegrass. *J. Soil Sci.* 44: 525-534.
- 19- Hinsinger, P., F. Elsass, B. Jaillard and M. Robert. 1993. Root-induced irreversible transformation of a trioctahedral mica in rhizosphere of rape. *J. Soil Sci.* 44: 535-545.
- 20- Jong, V. N. D., E. K. M. Guthridge., G. C. Spangenberg and J.W. Forster. 2003. Development and characterization of Est – derived simple sequence repeat (SSR) markers for pasture grass endophytes. *Genome.* 14: 277-290.
- 21- Malinowski, D. P. and D. P. Belesky. 2000. Adaptation of endophyte infected cool-season grasses to environmental stresses: Mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Sci.* 40: 923-940.
- 22- Malinowski, D. P., G. A. Alloush and D. P. Belesky. 1998. Evidence for chemical changes on the root surface of tall fescue in response to infection with the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum*. *Plant Soil.* 205: 1–12.
- 23- Malquori, A., G. Ristori and V. Vidrich. 1975. Biological weathering of potassium silicates. I. Biotite, Potash Review. 3: 1–7.
- 24- McLean, E. O. and M. E. Watson. 1980. Soil measurements of plant available potassium. In: Munson RD (Ed.) *Potassium in agriculture*. SSSA, Madison, pp 278–309 pp
- 25- Moghimi, A., M. E. Tate and J. M. Oades. 1978. Characterization of rhizosphere products especially 2-ketogluconic acid. *Soil Biol. Biochem.* 1: 283–287.
- 26- Mojallali, H. and S. B. Weed. 1978. Weathering of micas by mycorrhizal soybean plants. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42: 367–372.
- 27- Muller, C. B. and J. Krauss. 2005. Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8: 450-456.
- 28- Norouzi, S. and H. Khademi. 2009. Ability of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to take up potassium from different micaceous minerals and consequent vermiculitization. *Plant Soil*. (In Press).
- 29- Rahman, M. H. and S. Saiga. 2005. Endophytic fungi (*Neotyphodium Coenophialum*) affect the growth and mineral uptake, transport and efficiency ratios in tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Plant Soil.* 272: 163-171.
- 30- Saha, D. C., M. A. Janchson and J. M. Johnson-Cicalese. 1988. A rapid staining method for detection of endophyte fungi in turf and forage grasses. *Phytopatol.* 78: 273-239.
- 31- Schraedar, D. 1978. Structure and weathering potassium containing minerals. *Proc. Congr. Int. Potash. Inst.* 11: 43-63.
- 32- Sleper, D. A. 1985. Breeding tall fescue. *J. Plant Breed. Rev.* 3: 313-342.
- 33- Steffens, D. and D. L. Sparks. 1997. Kinetics of non-exchangeable ammonium release from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:455–462.
- 34- Stegner, R. 2002. *Plant Nutrition Studies*. Lamotte Company, Maryland, USA.
- 35- Tributh, H., E. V. Boguslawski., A. V. Lieres., D. Steffens and K. Mengel. 1987. Effect of potassium removal by crops on transformation of illitic clay mineral. *J. Soil Sci.* 143: 404–409.
- 36- Wentworth, S. A. and N. Rossi. 1972. Release of potassium from layer silicates by plant growth and by NaTPB extraction. *Soil Sci.* 113: 410–416.
- 37- West, C. P. 1994. Physiology and drought tolerance of endophyte infected grasses. In: C. W. Bacon and J. F. White. (Eds.), *Biotechnology of Endophytic Fungi of Grasses*. Jr. pp 87–99. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

## Mineralogical Changes in Clay-sized Phlogopite and Muscovite as Affected by Endophyte Fungi-tall Fescue Symbiosis

F. Khayamim<sup>1</sup> - H. Khademi<sup>2\*</sup> - M.H. Salehi<sup>3</sup>

### Abstract

The association of *Neotyphodium spp.* endophytes and cool-season grasses, particularly tall fescue (*Festuca arundinacea*, Schreb), represents a widespread type of symbiosis in nature. Numerous studies have been conducted on the positive effects of this symbiosis on plant resistance to different stresses but its role on potassium uptake and the transformation of K-bearing minerals is not known. The objective of this research was to investigate the effect of endophyte fungi-tall fescue symbiosis on the transformation of clay-sized micaceous minerals. A pot experiment was carried out in a completely randomized design with factorial combinations and three replicates under green house conditions. The growth medium was a mixture of quartz sand (as the filling material) and phlogopite or muscovite. Tall fescue 75B genotype either infected or non-infected by the natural endophyte *Neotyphodium* was used. Pots were irrigated with distilled water and complete or K-free nutrient solutions during a period of 140 days. At the end of the experiment, shoots and roots were harvested, dry ashed and their K concentration was determined using a flame photometer. The clay-sized particles in each pot were mineralogically studied using an X-ray diffractometer. The results showed the vermiculitization of phlogopite under both nutrient solutions conditions, but with a much higher rate in pots treated with K-free nutrient solution. In addition to vermiculite, a low quantity of smectite and chlorite was detected as newly formed minerals in phlogopite amended pots. Also, a very low intensity peak of vermiculite was observed in XRD patterns of muscovite treated media. Under the K-free nutrient solution and in phlogopite amended treatments, the 1.4/1.0 nm peak ratio for endophyte infected plants was 4 times greater than that under non-infected plants. Such a significant difference in phlogopite vermiculitization is attributed to endophyte symbiosis and its positive effects on the type and quantity of tall fescue roots secretions. A significant decrease in pH values under the rhizosphere of infected plants further confirms this hypothesis.

**Keywords:** Endophyte fungi, Phlogopite, Muscovite, Vermiculite, Mineral transformation

---

1,2- Msc Student and Professor, Dept. of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology  
(\*- Corresponding author Email: hkhademi@cc.iut.ac.ir)  
3- Assistant Prof., College of Agriculture, University of Shahre Kord