دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"
دوره اول، شماره سوم، پاییز ۹۳
http://arpe.gonbad.ac.ir

اثر کاربرد قارچ میکوریزا بر محتوای فسفر اندام‌های هوایی شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum* L.) و تنفس میکروبی خاک

*اسماعیل ارازی[۱]، عبداللطیف قلی‌زاده[۲]، عباس بیابانی[۳] و محمود قوللرعطا[۴]

[۱]دانش آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران
[۲]استادیار گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
[۳]دانشیار گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
[۴]دانش آموخته کارشناسی‌ارشد بیولوژی خاک، شرکت خاک آب پژوه شهرستان کلاله، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۱

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تلقیح گیاه شبدر با قارچ میکوریزا در سه نوع خاک مختلف، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس اجرا گردید. عامل اول، قارچ میکوریزا در سه سطح شامل عدم تلقیح خاک با میکوریزا، تلقیح خاک با *Glomus mossea* و تلقیح خاک با *Glomus intraradices* و عامل دوم، انواع مختلف خاک در سه سطح شامل زراعی، شور و جنگلی بود. صفات اندازه‌گیری شده شامل وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، حجم ریشه، میزان فسفر اندام هوایی گیاه شبدر برسیم و تنفس میکروبی خاک بود. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در سطوح مختلف میکوریزا نشان داد که تمام صفات اندازه‌گیری‌شده به جز تنفس میکروبی خاک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($P\leq$۰/۰۵). در سطوح مختلف خاک تمام صفات اندازه‌گیری‌شده به جز صفت حجم ریشه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($P\leq$۰/۰۱). در بررسی مقایسه میانگین اثرات ساده در سطوح مختلف خاک، صفت تنفس میکروبی در خاک جنگل و بقیه صفات در خاک زراعی بیشترین میانگین را به خود اختصاص دادند ولی همه صفات در خاک شور کمترین مقدار را داشتند. در سطوح مختلف میکوریزا، سویه‌های میکوریزایی *G. mossea* و *G. intraradices* تأثیر مثبت و معنی‌داری نسبت به شاهد بر تمامی صفات به جز صفت تنفس میکروبی داشتند. بنابراین قارچ‌های میکوریزا تأثیر مثبت و مفیدی در جذب آسان‌تر مواد غذایی از جمله فسفر داشته و از طرفی باعث افزایش رشد ریشه و اندام هوایی گیاه شبدر برسیم در خاک‌های مختلف شد.

***واژه‌های کلیدی*: تلقیح خاک، خاک شور، میکوریزا ، حجم ریشه**

*نویسنده مسئول: arazi_2020@yahoo.com

مقدمه

همزیستی میکوریزایی از وسیع‌ترین روابط همزیستی شناخته‌شده بین گیاهان و ریزجانداران است که در تمامی اکوسیستم‌ها وجود دارد. به‌طوری‌که حدود ۹۵ درصد گونه‌های گیاهان آوندی حداقل یکی از تیپ‌های میکوریزا را دارا می‌باشند که از دیرباز در طبیعت رواج داشته است (Shiranirad, 1998). قارچ‌های میکوریزا از عوامل ضروری در سیستم پایدار خاک گیاه محسوب می‌شوند، که با ریشهٔ بیش از ۹۷ درصد گیاهان همزیستی دارند (Schreiner *et al.,* 2003; Smith and Read, 2008). قدمت قارچ‌های میکوریزا در اکوسیستم خشکی به بیش از ۴۶۰ میلیون سال می‌رسد (Rillig, 2004). اهمیت میکوریزا در کشاورزی بر پایهٔ نقش ویژه آن به‌عنوان حلقهٔ ارتباطی بین خاک و گیاه استوار است. قارچ‌های میکوریزا به‌دلیل افزایش مؤثر سطح جذب ریشه از طریق ایجاد هیف، سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی به‌وسیلهٔ گیاهان می‌شوند. همچنین، این قارچ سبب بهبود جذب نیتروژن، پتاسیم، منیزیم، مس و روی در خاک‌های فقیر می‌شود (Smith and Read, 2008). مزیت قارچ میکوریزا افزایش منطقهٔ تخلیه عناصر غذایی به‌وسیله ریشه‌های میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی می‌باشد (Smith and Read, 2008).

استفاده از میکوریزا سبب افزایش ماده خشک گیاه به‌دلیل افزایش جذب آب و مواد غذایی می‌شود. در نتیجه آن میکوریزا سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی و تثبیت دی‌اکسید کربن و تولید شاخص سطح برگ بیشتر می‌شود، که سرانجام سبب افزایش تثبیت دی‌اکسید کربن و تولید زیست‌توده اندام هوایی می‌شود (Smith and Read, 2008). در این راستا گزارش شده است که تلقیح با *G. intraradices* سبب افزایش ماده خشک اندام هوایی و ریشه گیاه آکاسیا شد (Duponnois *et al.,* 2005). اما نتایج آنتونس و همکاران (Antunes *et al.,* 2007) نشان داد که در گیاهان تیمارشده با منابع مختلف کود فسفات بدون تلقیح با میکوریزا، وزن خشک ریشه، طول ریشه و وزن خشک اندام هوایی بیش از گیاهانی بود که با منابع مختلف کود فسفات همراه با تلقیح *G. intraradices* تیمار شده بودند. این کاهش رشد در گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا توسط جونز و اسمیت (Jones and Smith, 2004) نیز مشاهده شد. آن‌ها همچنین اشاره کردند که این یک پدیده عمومی می‌باشد که مکانیزم آن مشخص نیست. اما آنتونس و همکاران (Antunes *et al.,* 2007) گزارش کردند که عدم تأثیر تلقیح با *G. intraradices* روی وزن خشک گیاه می‌تواند ناشی از عدم توانایی این سویه در همزیستی با سویا و رهاسازی H^+ یا اسیدهای آلی باشد. اما برخلاف آنتونس و همکاران (Antunes *et al.,* 2007)، پژوهشگران دیگر مانند باگو و همکاران (Bago *et al.,* 1996) و ویلگاس و همکاران (Villegas *et al.,*1996) گزارش کردند که تلقیح با میکوریزا سبب افزایش فعالیت میکوریزا آربسکولار در محیط ریشه می‌شود.

شوری از طریق کاهش پتانسیل اسمزی خاک، بر جذب آب و تجمع ماده خشک گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (Prasad, 1997). کاهش وزن خشک بافت‌های گیاهی به‌دلیل افزایش هزینه متابولیک و کاهش استفاده از کربن توسط گیاه برای تطابق با شوری می‌باشد (Netondo *et al*., 2004). میکوریزا از طریق بهبود جذب عناصر غذایی سبب افزایش رشد و وزن گیاهان می‌شود (Jeffries *et al.,* 2003). وجود شبکه گسترده هیف‌های قارچ، افزایش جذب آب و عناصر غذایی را برای گیاه مهیا می‌کند (Malakuti, 1989).

کریمی‌نژاد و نادیان (Kariminejad and Nadeian, 2003) بیان نمودند که در تیمارهای میکوریزایی وزن خشک ریشه شبدر بیشتر از تیمارهای شاهد است. این امر به دلیل گسترش میسلیوم قارچ‌های VAM در خاک و بهبود جذب رطوبت و عناصر غذایی و لذا افزایش سنتز آسیمیلات‌های مختلف مانند گلوکز، فروکتوز و اسیدهای آمینه در گیاه و حفاظت ریشه در مقابل استرس‌های محیطی است (Bowen and Rovira, 1976; Schellenbaum *et al.,* 1998).

پاتاک و رآئو (Pathak and Rao, 1998) نشان دادند که کاهش رشد میکروب‌ها در خاک‌های سدیمی به‌دلیل کاهش فراهمی سوبسترا و در خاک‌های شور به‌دلیل تنش ناشی از فزونی نمک می‌باشد. با این وجود، احتمال دارد که شوری موجب کاهش کارآیی مصرف سوبسترا توسط زیست‌توده میکروبی گردد و در نتیجه جمعیت میکروبی را کاهش دهد. ساردینا و همکاران (Sardinha *et al.,* 2003) در مطالعات خود فعالیت‌های میکروبی محدودی را در خاک‌های تحت تأثیر شوری گزارش نمودند.

پاس و همکاران (Poss *et al.* 1985) طی آزمایشی که بر روی گیاه پیاز و گوجه‌فرنگی داشتند، نقش میکوریزا در جذب عنصر فسفر و انتقال آن به گیاه را گزارش کردند. کریمی‌نژاد و نادیان (Kariminejad and Nadeian, 2003) نیز گزارش کردند که غلظت فسفر در اندام‌های هوایی گیاه شبدر میکوریزایی بسیار بیشتر از گیاه غیرمیکوریزایی بود. محمد و همکاران (Mohammad *et al.,*2003) گزارش کردند که تلقیح جو با *G. interaradices* سبب افزایش غلظت فسفر بوته‌ها شد. غلامی (Gholami, 2000) گزارش کرد که تلقیح ذرت با میکوریزا گونه *G. mossea* و *G. caledonium* به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب بر درصد فسفر و نیتروژن بافت گیاهی تأثیر داشت. ناظری‌اردکانی (Nazeriardekani, 2003) گزارش کرد که گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا به میزان ۱۵۳ درصد، غلظت فسفر بالاتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی داشتند. بنابراین هدف از انجام این آزمایش بررسی اثرات تلقیح قارچ میکوریزا بر برخی شاخص‌های زراعی و میزان جذب فسفر گیاه شبدر برسیم و تنفس میکروبی در خاک‌های مختلف تحت شرایط گلخانه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس تحت شرایط کنترل‌شده (گلخانه‌ای) انجام گرفت. آزمایش شامل دو عامل می‌باشد که عامل اول میکوریزا در سه سطح بدون میکوریزا (شاهد)، *G. mossea* و *G. intraradices* و عامل دوم نوع خاک در سه سطح خاک جنگل، خاک زراعی و خاک شور در چهار تکرار به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید.

حدود ۱۰۰ کیلوگرم نمونه خاک‌های زراعی، شور و جنگل از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری به ترتیب از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس، بخش هفت واقع در گنبد کاووس و شهرستان کلاله تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از خشک شدن در معرض هوا و عبور از غربال ۲ میلی‌متری، یک نمونه معرف از هر خاکی برای تجزیه شیمیایی برداشته و مابقی آن به نسبت ۱:۲ با ماسه بادی مخلوط گردید. نتایج تجزیه شیمیایی و فیزیکی خاک‌های مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. بافت خاک به روش هیدرومتری[1] (ISRIC[2], 1986)، کربن آلی به روش والکی‌بلاک[3] (Nelson and Sommer, 1982)، نیتروژن خاک با روش میکروکجلدال[4] (Nelson and Sommer, 1973)، فسفر قابل جذب به روش اولسن (Olsen, 1953) و پتاسیم قابل جذب به روش استات آمونیوم[5] یک مولار (Haby, 1990) اندازه‌گیری شد. مقدار ۱/۵ کیلوگرم از خاک مخلوط‌شده با ماسه بادی را به داخل گلدان‌های دو کیلویی اضافه و سپس مایه تلقیح میکوریزایی به ضخامت ۱/۵ سانتی‌متری اضافه گردید. برای تلقیح خاک از پروپاگول (که شامل مخلوط اسپور قارچ، میسیلیوم‌های خارجی و قطعات ریشه کلونیزه‌شده بود) استفاده شد و در نهایت دوباره لایه‌ای از خاک در گلدان‌ها ریخته شد. بذور شبدر برسیم به تعداد ۶۰ عدد در هر گلدان در عمق ۲ سانتی‌متری خاک کاشته شد.

1- Hydrometric
2- International Soil Reference and Information Center
3- Walkley -Black
4- Kjeldahl
5 -Ammonium acetate

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های زراعی، جنگلی و شور مورد آزمایش

خصوصیات خاک / نوع خاک	شن (درصد)	سیلت (درصد)	رس (درصد)	بافت	pH	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	کربن آلی (درصد)	نیتروژن (درصد)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
شور	۱۱	۶۲	۲۷	لوم‌سیلتی	۷/۶۵	۶/۵	۰/۲۱	۰/۰۲	۱۲/۲	۲۵۳
زراعی	۲۱	۶۴	۱۵	لوم‌سیلتی	۷/۹	۱/۱۹	۰/۶۸	۰/۰۷	۱۳/۴	۳۵۶
جنگل	۲۱	۶۵	۱۳	سیلتی‌لوم	۷/۶۷	۱/۵۵	۲/۷۱	۰/۲۷۱	۱۵/۸	۵۰۰

در این آزمایش صفاتی مثل وزن تر و خشک اندام هوایی، غلظت فسفر اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، حجم ریشه و تنفس میکروبی خاک بعد از برداشت اندام هوایی گیاه شبدر برسیم اندازه‌گیری شدند. قسمت‌های هوایی گیاه از سطح خاک قطع گردید و به قطعات ۴-۳ سانتی‌متر تقسیم شد. وزن تر قسمت هوائی هر گلدان به‌طور جداگانه‌ای اندازه‌گیری و در داخل پاکت‌های کاغذی قرار داده شد. برای خشک کردن گیاهان، پاکت‌های حاوی قسمت هوائی گیاه را در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در آون قرار داده شدند. پس از خشک شدن قسمت هوایی، وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری گردید. ریشه‌های موجود در گلدان‌ها به دقت جدا و بعد از شستشو به استوانه مدرج انتقال داده شد و سپس حجم تغییر یافته استوانه مدرج یادداشت گردید و ریشه‌ها روی پارچه‌ای به‌مدت ۱۰ دقیقه گذاشته شدند تا رطوبت اطراف ریشه‌ها جذب شود؛ سپس اقدام به توزین ریشه گردید.

برای اندازه‌گیری تنفس میکروبی، مقدار ۱۰۰ گرم از خاک را به دقت وزن نموده و در ظرف یک لیتری پلاستیکی ریخته و سپس ۲۰ سی سی آب مقطر جهت حفظ رطوبت خاک به میزان ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به هر کدام از ظرف‌های دارای خاک اضافه گردید. دی‌اکسید کربن ناشی از تنفس میکروبی در سود ($NaOH$) ۰/۱ نرمال جمع‌آوری گردید. برای این کار مقدار ۱۰ سی سی از سود ۰/۱ نرمال در یک قوطی کوچک (قوطی فیلم) ریخته و در سطح خاک گذاشته شد. ظروف حاوی خاک در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه قرار گرفتند. مراحل تیتراسیون نمونه‌ها به مدت ۶ هفته به طول انجامید. در هفته اول آزمایش تیتراسیون نمونه‌ها هر دو روز یک‌بار و به ترتیب در هفته‌های بعدی یک روز نسبت به هفته قبل اضافه می‌شد که در نهایت در هفته ششم، تیتراسیون نمونه‌ها ۷ روزه انجام شد. البته قبل از تیتراسیون مقدار ۵ سی‌سی کلرید باریم ($BaCl_2$) ۱۰ درصد اضافه شد تا یون کربنات (CO_3^{-2}) به صورت کربنات باریم ($BaCO_3$) رسوب کند و سود باقیمانده با اسید کلریدریک (HCl) ۰/۱ نرمال تیتر گردید. ظروف بدون خاک ولی با سود به عنوان شاهد در این آزمایش لحاظ گردید (Anderson, 1982).

مجموعه واکنش‌های انجام شده به شرح زیر بودند:

$$CO_2 + 2NaOH \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O$$
$$Na_2CO_3 + BaCl_2 \longrightarrow BaCO_3 + 2NaCl$$

در نهایت مقدار CO_2 ناشی از تنفس میکروبی با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید:

معادله (۱) $mgCO_2$ یا $C= (B-S) \times N \times E$

B = میلی‌لیتر اسید مصرفی برای شاهد

S = میلی‌لیتر اسید مصرفی برای نمونه خاک

N = نرمالیته اسید

E = وزن اکی‌والان (۲۲ برای CO_2 و ۶ برای C)

چون مقدار خاک مصرفی ۱۰۰ گرم بود برای تبدیل آن به یک کیلوگرم؛ مقدار محاسبه‌شده در عدد ۱۰ ضرب تا مقدار تنفس براساس میلی‌گرم CO_2 یا C در کیلوگرم خاک محاسبه و گزارش شود.

اندازه‌گیری غلظت فسفر در دو مرحله انجام گرفت. مرحله اول؛ هضم به روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید کلریدریک (Benton, 2001): در این مرحله یک گرم نمونه گیاه خشک شده توزین و در بوته چینی ریخته و در کوره در حرارت معمولی قرار داده شد. دمای کوره به تدریج و در عرض دو ساعت به ۵۵۰ درجه رسانده شد. حدود ۸ ساعت در این حرارت نگهداری و بعد از اتمام این مدت کوره خاموش و بوته‌ها از کوره خارج گردید. بعد از خنک شدن خاکستر با کمی آب خیس شده و با شیشه ساعت پوشانده شد. در همان حال و به آرامی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک دو مولار اضافه و بعد از تمام شدن واکنش‌ها، بوته‌ها روی حمام آبی تا ۸۰ درجه حرارت داده تا اولین بخارات سفید خارج شود. محتویات بوته با استفاده از کاغذ صافی ریز صاف شده و به بالنی با ظرفیت ۱۰۰ میلی‌لیتر منتقل شد. بوته و کاغذ صافی چندین بار با آب مقطر نیم گرم شسته و به حجم رسانده شد. مرحله دوم؛ اندازه‌گیری فسفر به روش کالریمتری (رنگ زرد مولیبدات وانادات) (Page, 1982): میزان ۵ میلی‌لیتر از محلول‌های عصاره و شاهد به بالن حجمی و یا لوله آزمایش ۲۵ میلی‌لیتر منتقل و سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول آمونیوم مولیبدات-وانادات افزوده و به حجم رسانده شد. میزان فسفر موجود در نمونه خشک گیاه با استفاده از معادله (۲) محاسبه شد.

معادله (۲) $P\ (\%) = (a-b) \times (v/2000w) \times (100/D.M)$

a= غلظت فسفر در نمونه بر حسب میلی‌گرم در لیتر

b= غلظت فسفر در شاهد بر حسب میلی‌گرم در لیتر

v= حجم نهایی عصاره در مرحله هضم بر حسب میلی‌لیتر

w= وزن نمونه گیاه خشک مورد استفاده جهت هضم بر حسب گرم

D.M= درصد ماده خشک گیاه

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار LSD در سطح ۵ درصد انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

وزن‌تر و خشک اندام هوایی: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، صفات وزن‌تر و خشک اندام هوایی در سطوح مختلف خاک در سطح آماری ($P\leq ۰/۰۱$) و در سطوح مختلف میکوریزا در سطح آماری ($P\leq ۰/۰۵$) اختلاف معنی‌داری داشتند. اثرات متقابل بین میکوریزا و خاک برای صفات وزن تر و خشک اندام هوایی فاقد اختلاف معنی‌داری شد. در مقایسه میانگین اثرات ساده، در بین سطوح مختلف خاک، خاک زراعی بیشترین و خاک شور کمترین مقدار وزن تر و خشک اندام هوایی را به خود اختصاص داد. در بین سطوح مختلف میکوریزا، برای صفات وزن تر و خشک اندام هوایی *G. mossea* بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است (جدول ۳).

وزن‌تر و خشک ریشه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، صفات وزن تر و خشک ریشه در سطوح مختلف خاک و سطوح مختلف میکوریزا در سطح آماری ($P\leq ۰/۰۱$) اختلاف معنی‌دار داشتند. اثرات متقابل خاک و میکوریزا نیز در سطح آماری ($P\leq ۰/۰۱$) اختلاف معنی‌داری از خود نشان داد. در بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل بین خاک و میکوریزا برای صفات وزن تر و خشک ریشه، خاک زراعی با *G. intraradices* بیشترین میانگین و خاک شور و شاهد کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه،حجم ریشه و تنفس میکروبی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن تر اندام هوایی	وزن‌خشک اندام‌هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک‌ریشه	حجم ریشه	تنفس میکروبی خاک
خاک	۲	۴۷۱۰/۲۷**	۲۳۱/۷۲**	۲۰/۳۴**	۰/۶۴**	۱۴/۲۵^{ns}	۵۹۵۳۳۴/۴۱**
میکوریزا	۲	۲۱۷/۵۰*	۱۰/۸۹*	۵۷/۴۴**	۰/۲۲**	۳۳/۵۸**	۷۰۷۴/۵۰^{ns}
اثر متقابل خاک و میکوریزا	۴	۸۳/۸۱^{ns}	۰/۷۶^{ns}	۲۲/۹۷**	۰/۱۳**	۲۴/۰۸**	۳۱۱۴/۶۰^{ns}
خطا	۲۷	۵۹/۹۶	۲/۳۷	۳/۴۳	۰/۰۰۵	۴/۴۷	۶۴۵۵/۳۲
کل	۳۵	-	-	-	-	-	-
ضریب تغییرات(درصد)	-	۱۵/۴۶	۱۶/۴۷	۱۸/۹۱	۵/۳۴	۱۸/۵۲	۱۱/۹۵

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، حجم ریشه و تنفس میکروبی

تیمار	سطوح تیمار	وزن تر اندام هوایی (گلدان/گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گلدان/گرم)	تنفس میکروبی خاک (میلی‌گرم دی‌اکسید کربن در کیلوگرم خاک)
خاک	خاک زراعی	۶۸/۴۹ a	۱۳/۳۲ a	۵۸۵/۲۵ b
	خاک شور	۲۹/۱۱ c	۴/۶۳ c	۵۰۶/۶۰ c
	خاک جنگل	۵۲/۶۸ b	۱۰/۱۰ b	۹۲۵/۶۵ a
میکوریزا	شاهد	۴۷/۲۳ b	۸/۸۶ b	۶۴۹/۰۰ a
	G. mossea	۵۴/۹۹ a	۱۰/۴۵ a	۶۷۱/۰۰ a
	G. intraradices	۴۸/۰۷ b	۸/۷۴ b	۶۹۷/۴۹ a
	LSD	۶/۴۹	۱/۲۹	۶۷/۳۰

میانگین‌هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل بین میکوریزا و خاک وزن تر و خشک ریشه و حجم ریشه

تیمار	سطوح تیمار	وزن تر ریشه (گلدان در گرم)	وزن خشک ریشه (گلدان در گرم)	حجم ریشه (گلدان در میلی‌لیتر)
اثرات متقابل خاک و میکوریزا A*B	A_1*B_1	۸/۲۵ cd	۱/۳۷ d	۹/۰۰ d
	A_1*B_2	۱۰/۸۳ bc	۱/۴۹ bc	۱۱/۷۵bcd
	A_1*B_3	۱۴/۷۲ a	۱/۸۶ a	۱۵/۷۵ a
	A_2*B_1	۷/۳۵ d	۱/۱۳ e	۱۰/۷۵ cd
	A_2*B_2	۱۱/۲۰ b	۱/۱۱ e	۱۰/۲۵ cd
	A_2*B_3	۷/۹۲ d	۱/۰۹ e	۹/۵۰ cd
	A_3*B_1	۶/۵۵ d	۱/۰۹ e	۸/۷۵ d
	A_3*B_2	۱۲/۹۵ ab	۱/۵۵ b	۱۴/۵۰ ab
	A_3*B_3	۸/۳۲ cd	۱/۴۳ cd	۱۲/۵۰ bc
	LSD	۲/۶۶	۰/۱۰۳	۳/۰۷

B_1 = بدون میکوریزا، B_2 = *Glomus mossea* و B_3 = *Glomus intraradices*. A_1 = خاک زراعی، A_2 = خاک شور و A_3 = خاک جنگل.

میانگین‌هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

حجم ریشه: بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده (جدول ۲)، حجم ریشه در سطوح مختلف خاک فاقد اختلاف معنی‌داری شد ولی در سطوح مختلف میکوریزا در سطح آماری (P≤۰/۰۱) اختلاف معنی‌داری نشان داد و همچنین در اثرات متقابل بین میکوریزا و خاک نیز در سطح آماری (P≤۰/۰۱) اختلاف معنی‌داری از خود نشان داد. در بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل بین خاک و میکوریزا خاک زراعی با *G. intraradices* بیشترین میانگین و خاک جنگل بدون میکوریزا کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

تنفس میکروبی خاک: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، تنفس میکروبی خاک در سطوح مختلف خاک در سطح آماری (P≤۰/۰۱) اختلاف معنی‌داری از خود نشان داد ولی در سطوح مختلف میکوریزا و اثرات متقابل بین میکوریزا و خاک فاقد اختلاف معنی‌داری شد. در مقایسه میانگین اثرات ساده در بین سطوح مختلف خاک، خاک جنگل بیشترین و خاک شور کمترین مقدار تنفس میکروبی خاک را به خود اختصاص داده است (جدول ۳).). شکل ۱ روند تغییرات تنفس میکروبی در خاک‌های مختلف در مدت سی روز را نشان می‌دهد. در خاک جنگل احتمالا به دلیل زیادی کربن آلی و فراهمی سوبسترا برای فعالیت ریزجانداران موجود در خاک، جمعیت ریزجانداران و در نتیجه میزان تنفس با گذشت زمان زیاد شده اما در خاک شور به دلیل کمبود مواد آلی (جدول ۱) و تنش ناشی از فزونی املاح، تنفس خاک کم بوده است که با مطالعات پاتاک و رآئو (Pathak and Rao, 1998) و ساردینا و همکاران (Sardinha *et al.,* 2003) مطابقت می کند.

میزان فسفر اندام هوایی شبدر برسیم: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۵)، میزان فسفر اندام هوایی در سطوح مختلف خاک و میکوریزا در سطح آماری (P≤۰/۰۱) اختلاف معنی‌داری داشت. اثرات متقابل بین میکوریزا و خاک فاقد اختلاف معنی‌داری شد. در مقایسه میانگین اثرات ساده در بین سطوح مختلف خاک، خاک جنگل بیشترین و خاک زراعی کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند و در بین سطوح مختلف میکوریزا، *G. intraradices* بیشترین و شاهد (بدون میکوریزا) کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۶).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس میزان فسفر در اندام هوایی گیاه شبدر برسیم

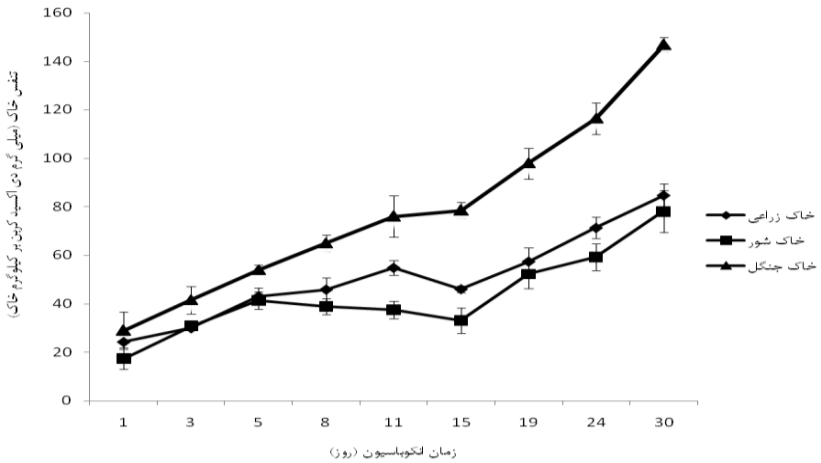
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		میزان فسفر گیاه
خاک	۲	۳۹۲۰۳۲/۴۴**
میکوریزا	۲	۳۱۷۹۰۱/۳۳**
اثرات متقابل خاک و میکوریزا	۴	۱۳۶۹۳۵/۱۴ns
خطا	۱۸	۵۰۶۹۶/۲۱
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۱/۹۹

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

جدول ۶- مقایسه میانگین میزان فسفر اندام هوایی گیاه شبدر برسیم

تیمار	سطوح تیمار	میزان فسفر گیاه (میلی‌گرم در کیلوگرم)
خاک	خاک زراعی	۱٦۷٤/۱ b
	خاک شور	۱۸٦٦/۲ b
	خاک جنگل	۲۰۹۱/۱ a
میکوریزا	شاهد	۱۷۰٦/۹ b
	G. mossea	۱۸٤٥/۷ b
	G. intraradices	۲۰۷۸/۸ a
	LSD۰/۰۵	۲۲۲/۹۹

میانگین‌هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.



شکل ۱- روند فعالیت تنفس میکروبی در انواع مختلف خاک.

خاک شور باعث کاهش معنی‌داری بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه شبدر برسیم شد (جدول ۳). شوری از طریق کاهش پتانسیل اسمزی خاک، جذب آب توسط گیاه را مشکل می‌کند و به همین دلیل بر تجمع ماده خشک در گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (Prasad, 1997). کاهش وزن خشک بافت‌های گیاهی به‌دلیل افزایش هزینه متابولیک و کاهش استفاده از کربن توسط گیاه برای تطابق با شوری می‌باشد (Netondo *et al*., 2004). تیمار میکوریزایی *G. mossea* سبب افزایش معنی‌داری در وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی شد (جدول ۲).

میکوریزا از طریق بهبود جذب عناصر غذایی سبب افزایش رشد و وزن گیاهان می‌شود (Jeffries *et al.*, 2003). وجود شبکه گسترده هیف‌های قارچ باعث افزایش جذب آب و عناصر غذایی شده و به همین دلیل وزن اندام هوایی گیاهان را افزایش می‌دهد. (Malakuti, 1989).

با توجه به اثرات متقابل بین میکوریزا و خاک (جدول ۴)، خاک زراعی با *G. intraradices* سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه شده است. کریمی‌نژاد و نادیان (Kariminejad and Nadeian, 2003) نیز بیان کردند که در تیمارهای میکوریزایی، وزن خشک ریشه شبدر بیشتر از تیمارهای شاهد است. این امر به دلیل گسترش میسلیوم قارچ‌های VAM در خاک و بهبود جذب رطوبت و عناصر غذایی است و لذا افزایش سنتز آسیمیلات‌های مختلف مانند گلوکز، فروکتوز و اسیدهای آمینه در گیاه و حفاظت ریشه در مقابل استرس‌های محیطی می‌باشد (Bowen and Schellenbaum *et al.*, 1998).

حجم ریشه گیاه شبدر برسیم در مقابل حضور گونه میکوریزایی *G. intraradices* با خاک زراعی افزایش معنی‌داری نشان داده است (جدول ۴). دلیل افزایش حجم ریشه در برابر میکوریزا می‌تواند بخاطر افزایش رشد ریشه و به دنبال آن یک سیستم گسترده از ریشه برای جذب آب و مواد غذایی باشد.

تنفس خاک، تنفس برانگیخته با سوبسترا و ضریب متابولیکی (qCO_2[1]) شاخص‌های حساسی برای تعیین اثر متغیرهای محیطی بر فعالیت میکروبی خاک هستند و از این پارامترها برای تجزیه و تحلیل اثر عوامل محیطی و تنش‌های وارده بر جمعیت میکروبی خاک بهره‌گیری می‌شود. با توجه به جدول ۳ خاک شور کمترین مقدار تنفس میکروبی خاک به خود اختصاص داده است (شکل ۱). کاهش این شاخص در خاک شور احتمالاً به دلیل فعالیت کمتر ریزجانداران می‌باشد. پاتاک و رآئو (Pathak and Rao, 1998) نشان دادند که کاهش رشد میکروب‌ها در خاک‌های سدیمی به‌دلیل کاهش فراهمی سوبسترا و در خاک‌های شور به‌دلیل تنش ناشی از فزونی نمک می‌باشد. با این وجود، احتمال دارد که شوری موجب کاهش کارآیی مصرف سوبسترا توسط زیست‌توده میکروبی گردد و در نتیجه جمعیت میکروبی را کاهش دهد. ساردینا و همکاران (Sardinha *et al.*, 2003) در مطالعات خود فعالیت‌های میکروبی محدودی را در خاک‌های تحت تأثیر شوری گزارش نمودند.

بالا بودن میزان فسفر گیاه در تیمارهای میکوریزایی (جدول ۶) به دلیل نقش میکوریزا در جذب عنصر فسفر و انتقال آن به گیاه است. این نتیجه‌گیری توسط پاس و همکاران (Poss *et al.*, 1985) نیز طی آزمایشی که بر روی گیاه پیاز و گوجه‌فرنگی داشتند، مشاهده گردیده است. کریمی‌نژاد و نادیان (Kariminejad and Nadeian, 2003) نیز گزارش کردند که غلظت فسفر در اندام‌های هوایی

1- Metabolic quotient

گیاه شبدر میکوریزایی بسیار بیشتر از گیاه غیرمیکوریزایی است. محمد و همکاران (Mohammad *et al.*,2003) گزارش کردند که تلقیح جو با *G. interaradices* سبب افزایش غلظت فسفر بوته‌ها می‌شود. غلامی (Gholami, 2000) گزارش کرد که تلقیح ذرت با میکوریزا گونه *G. mossea* و *G. caledonium* به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب بر درصد فسفر و نیتروژن بافت گیاهی تأثیر داشت. ناظری‌اردکانی (Nazeriardekani, 2003) گزارش کرد که گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا به میزان ۱۵۳ درصد، غلظت فسفر بالاتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی داشتند.

منابع

Anderson J.P.E. 1982. Soil Respiration. In: Page A.L., Miller R.H., Keeney D.R. Eds. Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Biological Properties, (2nd Ed.) American Society of Agronomy-SSSA Inc., Madison, Wisconsin. Pp: 831-872.

Antunes P.M., Schneider K., Hillis D., Klironomos J.N. 2007. Can the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* actively mobilize P from rock phosphates? Pedobiologia, 51: 281-286.

Bago B., Vierheilig H., Piche´ Y., Azco´n-Aguilar C. 1996. Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown in monoxenic culture. New Phytologist, 133 (2): 273-280.

Benton J.J. 2001. Laboratory Guide for Conducting Soil Test and Plant Analysis. USA, CRC, Press, 363 p.

Bowen G.D., Rovira A.D. 1976. Microbial colonization of plant roots. Annual Review of Phytopathology, 14: 121-144.

Duponnois R., Colombet A., Hien V., Thioulouse J. 2005. The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. Soil Biology Biochemistry, 37(8):1460-1468.

Gholami A. 2000. The role of mycorrhizal fungi Vesicular Arbuscular steady supply of nutrients in corn. Ph.D. Thesis of Agriculture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (In Persian).

Haby V.A., Russelle M.P., Skogley E.O. 1990. Testing soils for potassium, calcium and magnesium. In: Westernman R.L. Ed. Soil Testing and Plant Analysis (3rd Ed.). Soil Science Society of America Inc. Madison, Wisconsin, USA, Pp: 181-227.

ISRIC-International Soil Reference and Information Center. 1986. Procedure for Soil Analysis. In: VanReeuwijk L.P. Ed. Wageningen Agriculture University.

Jeffries P., Gianinazzi S., Perotto S., Turnau K., Barea J.B. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology Fertility of Soils, 37: 1-16.

Jones M.D., Smith S.E. 2004. Exploring functional definitions of mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualisms?. Canadian Journal of Botany, 82 (8): 1089-1109.

Kariminejhad M., Nadeian H. 2003. Investigate the uptake of phosphorus, zinc and cadmium by clover inoculated with mycorrhizal fungus vesicular arbuscular species *Glomus intraradices*. Proceedings of the Eight Congress of Soil Science. Vol: 1,552 p. (In Persian).

Malakuti M.J. 1989. Sustainable agriculture and increase performance by optimizing the use of fertilizers in Iran. Dissemination of agricultural education (Office Services and Technology Education), 460 p. (In Persian).

Mohammad M.J., Malkawi H.I., Shibi R. 2003. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization on growth and nutrient uptake of barley grown on soils with different levels of salts. Journal of Plant Nutrition, 26 (1): 125-137.

Nazeriardekani V. 2003. The presence and abundance of mycorrhizal soil arbuscular in Khorasan and review them with alfalfa symbiosis in a saline soil. M.sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian).

Nelson D.W., Sommer L.E. 1973. Determination of total nitrogen in plant material. Agronomy Journal, 65(1):109-112.

Nelson D.W., Sommer L.E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: page A.L., Miller R.H., Keeney D.R. Eds. Methods of Soil Analysis, Part 2, 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, WI, Pp: 539-579.

Netondo G.F., Onyango J.C., Beck E. 2004. Crop physiology and metabolism. Sorghum and Salinity: I. Response of growth, water relations and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Science Society of America, 44 (3): 797-805.

Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S., Dean L.A. 1953. Estimation of Available Phosphorus in Soil by Extraction with Sodium Bicarbonate. USDA Circular, 939 p.

Page A.L. 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Madison, WI.

Pathak H., Rao D.L.N. 1998. Carbon and nitrogen mineralization from added organic matter in saline and alkali soils. Soil Biology Biochemistry, 30 (6): 695-702.

Poss J.A., Pond E., Menge J.A., Jarrell W.M. 1985. Effect of salinity on mycorrhizal onion and tomato in soil with and without additional phosphate. Plant and Soil. 88 (3): 307-319.

Prasad M.N.V. 1997. Plant Ecophysiology. John Wiley and Sons Inc., New York, 542 p.

Rillig M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. Ecology Letters, 7(8):740-754.

Sardinha M., Muller T., Schmeisky H., Joergensen R.G. 2003. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. Applied Soil Ecology, 23(3): 237-244.

Schellenbaum L., Muller J., Boller T., Wiemken A., Schuepp H. 1998. Effect of drought on non-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 Phytologist, 138(1): 59-66.

Schreiner R.P., Mihara K.L., McDaniel H., Bethlenfalvay G.J. 2003. Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. Plant and Soil, 188 (2): 199-209.

Shiranirad A.H. 1998. Physiological study of vesicular arbuscular mycorrhiza fungi on wheat and soybean. Ph.D. thesis, Islamic Azad University, Science and Research Branch of Tehran. (In Persian).

Smith S.E., Read D.J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis (3rd Ed.) Academic Press, 800 p.

Villegas J., Williams R.D., Nantais L., Archambault J., Fortin J.A. 1996. Effects of N source on pH and nutrient exchange of extramatrical mycelium in a mycorrhizal Ri T-DNA transformed root system. Mycorrhiza, 6(4): 247-251.