مطالعه تنوع ژنتیکی، توانایی گره‌زایی و کارایی تثبیت نیتروژن باکتری‌های ریزوبیوم جداسازی شده از گره‌های یونجه

علی اشرف سلطانی طولارود، حسینعلی علیخانی[1*]، غلامرضا صالحی جوزانی، هادی اسدی رحمانی، کاظم خاوازی و احمدعلی پوربابایی

دانشجوی سابق دکتری دانشگاه تهران و استادیار دانشگاه محقق اردبیلی؛ ali_soltani_t@yahoo.com

دانشیار دانشگاه تهران؛ halikhan@ut.ac.ir

استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران؛ gsalehi@abrii.ac.ir

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور؛ asadi_1999@yahoo.com

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور؛ kkhavazi@yahoo.com

استادیار دانشگاه تهران؛ pourbabaei@ut.ac.ir

چکیده

تثبیت نیتروژن مولکولی توسط باکتری‌های ریزوبیومی، منبع اصلی برای ورود پایدار نیتروژن مورد نیاز گیاهان به سیستم‌های کشاورزی است. تثبیت زیستی مولکول نیتروژن در کشاورزی می‌تواند به وسیله مایه‌زنی گیاهان لگوم با باکتری‌های ریزوبیومی دارای توانایی بالا در تثبیت این مولکول بهبود پیدا کند. آگاهی از تنوع زیستی جمعیت‌های بومی این باکتری‌ها برای طراحی تدابیر مایه‌زنی موفق می‌تواند مفید واقع شود. در این تحقیق تنوع زیستی، توانایی گره‌زایی و کارایی تثبیت نیتروژن 48 باکتری ریزوبیوم جداسازی شده از گره‌های گیاه یونجه کشت شده در مناطق مختلف استان همدان مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج بررسی تنوع ژنتیکی سویه‌های مورد مطالعه با استفاده از تکنیک ITS-PCR-RFLP نشان داد که باکتری‌های مورد بررسی دارای تنوع ژنتیکی قابل توجه بوده و در سطح شباهت 70 درصد به 4 گروه I, II,و III IV تقسیم‌بندی شدند. نتایج آزمون گره‌زایی نشان داد که اکثر سویه‌ها دارای توانایی ایجاد گره در گیاه یونجه بودند، در حالیکه در اثر تلقیح این گیاه با سویه‌های KH16، KH24، KH10، KH6، KH133 و KH193 گره‌ای حاصل نشد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون بررسی کارایی تثبیت نیتروژن سویه‌های مورد مطالعه، این باکتری‌ها به چهار دسته غیر مؤثر، نسبتاً مؤثر، مؤثر و خیلی مؤثر تقسیم‌بندی شدند.

واژه‌های کلیدی: یونجه، تنوع زیستی، گره‌زایی و کارایی تثبیت نیتروژن

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) یک لگوم پایایی است که به طور گسترده‌ای در سرتاسر دنیا برای تغذیه دام و به عنوان یکی از منابع مهم کود سبز کشت می‌شود. این گیاه قادر است که با باکتری‌های گرم منفی خاکزی از جنس *سینوریزوبیوم* همزیستی مفید تثبیت‌کننده نیتروژن برقرار کند (مرابت و همکاران، 2010؛ لانگر و همکاران،

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران-دانشکده فناوری کشاورزی، گروه مهندسی علوم خاک

* دریافت: 91/10/6 و پذیرش: 92/2/5

2008). باکتری‌های تندرشد جنس *سینوریزوبیوم* از یازده گونه تشکیل شده‌اند: *سینوریزوبیوم فردی*، *سینوریزوبیوم زینجیانگنس* (چن و همکاران، 1998) *سینوریزوبیوم ملیلوتی*، *سینوریزوبیوم ساحلی*، *سینوریزوبیوم ترانژائه* (دی‌لاجودی و همکاران، 1994) *سینوریزوبیوم مدیکا* (روم و همکاران، 1996) *سینوریزوبیوم آربوریس*، *سینوریزوبیوم کوستینس* (نیک و همکاران، 1999) *سینوریزوبیوم کومروائه* (وی و همکاران، 2002) *سینوریزوبیوم مرولنس* (ونگ و همکاران، 2002) و *سینوریزوبیوم امریکانوم* (تولدو و همکاران، 2003). در میان گونه‌های *سینوریزوبیوم* دو گونه *سینوریزوبیوم ملیلوتی* و *سینوریزوبیوم مدیکا* دارای توانایی ایجاد گره در ریشه گیاه یونجه می‌باشند (بایلی و همکاران، 2006).

در سال‌های اخیر تکنیک‌های مولکولی متنوعی از قبیل: ERIC-PCR[1], AFLP[2] , RAPD[3] و PCR-RFLP[4] برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ریزوبیومی استفاده شده‌اند (وینوسا و همکاران، 2005؛ رینکون-روسالس و همکارن، 2009؛ اسدی رحمانی و همکاران، 2011). درمیان روش‌های ذکر شده تکنیک PCR-RFLP توسط محققین مختلف به عنوان یک روش شناسایی سریع برای باکتری‌ها گزارش شده است (لاگور و همکاران، 1994؛ گورتلر و همکاران، 1996؛ دیوف و همکاران، 2000). در باکتری‌های ریزوبیومی توالی DNA در حد فاصل 16S rRNA و 23S rRNA (ITS)[5] تغییرات زیادی از نظر طول توالی و ترتیب بازها نشان می‌دهند (جنسن و همکاران، 1993). مطالعه و تجزیه و تحلیل این ناحیه از DNA با استفاده از تکنیک PCR-RFLP به عنوان یک روش مناسب برای بررسی تنوع ژنتیکی باکتری‌های ریزوبیومی گزارش شده است (بیوندی و همکاران، 2003؛ واسیک و همکاران، 2009؛ ونگ و همکاران، 2009).

تثبیت نیتروژن مولکولی توسط باکتری¬های ریزوبیومی، منبع اصلی برای ورود پایدار نیتروژن مورد نیاز گیاهان به سیستم¬های کشاورزی است. تثبیت زیستی مولکول نیتروژن در کشاورزی می¬تواند به وسیله مایه-زنی گیاهان لگوم با باکتری¬های ریزوبیومی دارای توانایی بالا در تثبیت این مولکول بهبود پیدا کند (اسدی و همکاران، 2011).

یونجه گیاهی علوفه‌ای است که امروزه کشت آن در کشور بسرعت در حال توسعه می‌باشد. این نبات دارای سابقه تاریخی بسیار قدیمی می‌باشد که قدمت آن به ابتدای تاریخ تمدن می‌رسد. یونجه به طور گسترده در مناطق مختلف ایران کشت شده و حدود 700 هزار هکتار از اراضی کشاورزی کشور را به خود اختصاص داده است. با وجود پر اهمیت بودن گیاه یونجه به عنوان یک گیاه استراتژیک در ایران، در خصوص ارزیابی توان تثبیت نیتروژن در سویه‌های ریزوبیومی بومی همزیست با این گیاه، و تنوع زیستی این باکتری‌ها اطلاعات چندانی در کشور وجود ندارد. این در حالی است که تثبیت نیتروژن مولکولی بیشتر توسط باکتری‌های ریزوبیومی می‌تواند از طریق انتخاب سویه‌های برتر تثبیت کننده N_2 حاصل شود (هوویسون، 1995؛ رنگل، 2002). بدیهی است آگاهی از تنوع ژنتیکی و وضعیت تاکسونومیکی این باکتری‌ها به منظور انتخاب سویه‌های برتر به عنوان مایه‌تلقیح ضروری می‌باشد. از طرف دیگر ایران یکی از خاستگاه‌های مهم یونجه در دنیا گزارش شده است (کریمی، 1384؛ میچواد و همکاران، 1984) و آگاهی از تنوع زیستی و شناسایی ریزموجودات همزیست با این گیاه می‌تواند برای محققین داخل و خارج از کشور نیز حائز اهمیت باشد. اهداف این پژوهش مطالعه تنوع ژنتیکی باکتری‌های همزیست با گیاه یونجه با استفاده از نشانگر ITS-PCR-RFLP و ارزیابی توان تثبیت نیتروژن در سویه‌های ریزوبیومی بومی ایران همزیست با گیاه یونجه و معرفی بهترین گونه تثبیت کننده نیتروژن بود.

مواد و روش‌ها

تهیه سویه‌های باکتری

برای انجام این تحقیق تعداد 48 سویه ریزوبیومی جداسازی شده از گره‌های یونجه بر اساس پراکنش جغرافیایی، مشخصات اقلیم و خاک منطقه از کلکسیون میکروبی موسسه خاک و آب انتخاب گردید. سویه‌ها با باز کشت بر روی محیط کشت YMA[6] خالص‌سازی شدند. همچنین 4 سویه مرجع *سینوریزوبیوم ملیلوتی* سویه HAMBI1318، *سینوریزوبیوم* ملیلوتی سویه HAMBI2148، *آگروباکتریوم تومفاسیئنس* سویه HAMBI1811 و *سینوریزوبیوم مدیکا* سویه HAMBI12306 از کلکسیون میکروبی دانشگاه هلسینکی فنلاند (HAMBI) نیز در کنار سویه‌های مورد استفاده مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول 1).

جداسازی DNA باکتری‌ها

استخراج DNA از سلول باکتری با استفاده از روش‌های لیز قلیایی (بائله و همکاران، 2000) و استفاده از کیت مخصوص استخراج DNA (PowerMicrobial® Midi DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc) انجام گرفت.

---

1. entrobacterial repetitive intergenic consensus genomic finger printing –PCR
2. amplified fragment length polymorphism
3. random amplified polymorphic DNA
4. restriction fragment length polymorphism –PCR
5. intergenic transcribed spacer
6. Yeast Manitol Agar

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و هضم ژن ITS

تکثیر قطعه 16S-23S rDNA با استفاده از آغازگرهای[1] FGPS1490 و FGPS132 (لاگور و همکاران، 1996) انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در 50µl محلول واکنش با استفاده از دستگاه PTC-200 peltier thermal cycler(MJ Research) طبق الگوی: واسرشت شدن اولیه[2] در دمای 94^{oC} برای 10 دقیقه، 34 دوره (واسرشت شدن در دمای 94^{oC} به مدت 35 ثانیه، اتصال[3] در دمای 52^{oC} برای یک دقیقه و بسط[4] در دمای 72^{oC} برای دو دقیقه) و بسط نهایی در دمای 72^{oC} برای 10 دقیقه انجام گردید. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، بر اساس تعداد نمونه‌ها یک مخلوط PCR[5] شامل شامل همه مواد به جزء DNA الگو تهیه و سپس مقدار 49 میکرولیتر آن در هر تیوب مخصوص PCR توزیع گردید و در نهایت مقدار 100ng از DNA الگو به آن افزوده شد. غلظت و اندازه محصول واکنش به وسیله الکتروفورز روی ژل آگاروز 1/5 درصد رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید ارزیابی گردید. به منظور هضم آنزیمی، 5µl از محصول PCR به وسیله 4/5 واحد از هر آنزیم محدودکننده[6] *Hae*III و *Msp*I هضم گردید. قطعات DNA قطعات DNA حاصل از هضم بوسیله الکتروفورز افقی روی ژل آگاروز 3% رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید از یکدیگر تفکیک گردید. عمل الکتروفورز در ولتاژ 100 ولت و برای 2 ساعت انجام شد. ژل‌ها تحت شرایط UV به وسیله دوربین کداک DC-290 و نرم‌افزار مولکولی کداک عکس‌برداری گردیدند. الگوهای حاصل از هضم آنزیمی به منظور رسم دندروگرام UPGMA[7] به وسیله نرم نرم افزار Bionumerics نسخه 6 مورد استفاده قرار گرفتند. در این روش سویه‌های دارای الگوی هضم مشابه در یک گروه ITS قرار گرفتند (اسدی رحمانی و همکاران، 2011).

بررسی‌توان گره‌زایی و کارایی تثبیت نیتروژن درسویه‌ها

به منظور بررسی توان گره‌زایی و کارایی تثبیت نیتروژن سویه‌های مورد مطالعه از روش ویسنت و همکاران (1970) و فریرا و مارکوس (1992) استفاده گردید. بدین منظور بذرهای یونجه تهیه شده از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر یکدست‌سازی و با استفاده از الکل 96% (به مدت 30 ثانیه) و هیپو کلریت سدیم (به مدت 3 دقیقه) استریل سطحی شدند. زادمایه سویه‌های مورد مطالعه در فلاسک‌های 100 میلی¬لیتری حاوی 50 میلی¬لیتر محیط YMB تهیه و 20 عدد بذر از قبل جوانه¬دار شده به درون هر یک از فلاسک¬های حاوی زادمایه باکتری و فلاسک شاهد منتقل گردید. فلاسک‌ها به مدت نیم ساعت روی شیکر با دور 120rpm و دمای 28 درجه سانتی¬گراد قرار داده شدند. سپس فلاسک¬های حاوی بذر و همچنین گلدان‌های پلاستیکی (200 گرمی) حاوی ماسه شسته شده با اسید رقیق به درون لامینار منتقل گردید. بذرهای جوانه¬دار داخل هر فلاسک با قرار دادن آنها بر روی دستمال کاغذی استریل به مدت حدود 2 دقیقه آبگیری شدند. برای هر سویه عمل کشت در سه تکرار انجام و گلدان‌های تلقیح شده به مدت 60-45 روز در گلخانه نگهداری شدند. پارامترهای وزن تر و خشک اندام هوایی، اندازه‌گیری گردید و با استفاده از روابط موجود کارایی همزیستی سویه‌ها (SE[8]) محاسبه شد.

نتایج و بحث

به منظور بررسی تنوع زیستی باکتری‌های مورد مطالعه، میزان متغیر بودن طول و ترتیب توالی قطعه حد فاصل بین دو ژن 16S rRNA و 23S rRNA با استفاده از روش PCR-RFLP بررسی گردید. گزارشات مختلف حاکی از آن است که قطعهITS می‌تواند یک نشانگر مولکولی مؤثر برای شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی در سطوح مختلف باکتری‌ها و گروه‌بندی آنها باشد و محققین مختلف استفاده از ITS-PCR-RFLP را به عنوان یک روش سریع، کارا و قابل اعتماد برای تشخیص تنوع ژنتیکی باکتری‌های همزیست با گیاهان لگوم پیشنهاد نموده‌اند (لین و همکاران، 2007؛ ونگ و همکاران، 2009؛ اسدی و همکاران، 2011).

در این مطالعه واکنش زنجیری پلیمریزاسیون قطعه ITS برای اکثر سویه‌ها یک باند منفرد (با اندازه حدوداً 1500bp-1200bp) تولید نمود. قطعه تولید شده برای دو سویه KH16 و KH24 کوچک‌تر از قطعه ITS بقیه سویه‌های مورد مطالعه بود. یک باند اضافی در سویه KH186 مشاهده گردید (شکل1). بعد از هضم آنزیمی محصول PCR، 15 ژنوتیپ در میان 48 سویه مورد مطالعه و 4 سویه مرجع تشخیص داده شد (اشکال2، 3 و 4). در دندروگرام رسم شده با استفاده از شباهت بین الگوهای مختلف RFLP و الگوریتم UPGMA، 15ژنوتیپ باکتریایی در سطح شباهت 70 درصد به 4 گروه I, II, III و IV تقسیم‌بندی شدند (شکل5). گروه I در سطح شباهت 85 درصد به سه زیر گروه Ia, Ib و Ic تقسیم گردید. گروه Ia که باکتری‌های مرجع *سینوریزوبیوم*

1. Primers
2. Denaturation
3. Annealing
4. Extention
5. Master Mix PCR
6. Restriction enzymes
7. Unweighted Pair Grouping with Mathematic Average
8. Symbiotic Efficiency

ملیلوتی سویه HAMBI1318 و *سینوریزوبیوم ملیلوتی* سویه HAMBI2148 در این گروه قرار گرفت، با 57/69 درصد و گروه Ic با 23 درصد بیشترین تعداد سویه‌ها را در خود جای دادند. گروه Ib شامل فقط دو سویه مورد مطالعه بود. باکتری‌های مرجع *سینوریزوبیوم مدیکا* سویه HAMBI12306 و *آگروباکتریوم تومافیسئنس* سویه HAMBI1811 به ترتیب در گروه‌های II و III همراه با یک و سه سویه مورد مطالعه قرار گرفتند. دو سویه KH24 و KH16 جدا از دیگر سویه‌ها در گروه IV قرار گرفتند. سویه‌های KH133 و KH10 در هیچکدام از گروه‌ها قرار نگرفتند.

باکتری‌های مورد بررسی در این تحقیق دارای تنوع ژنتیکی از نظر طول قطعه حد فاصل بین دو ژن 16S rRNA و23S rRNA بودند. تنوع طولی این قطعه در باکتری‌های ریزوبیوم همزیست با گیاهان لگوم توسط محققین مختلف گزارش شده است (آندرید و همکاران، 2002؛ بن‌رومدهان و همکاران، 2005؛ اسدی و همکاران، 2011). در این تحقیق الگوهای متفاوت حاصل از هضم آنزیمی قطعه ITS و تشکیل 15 ژنوتیپ باکتریایی در سویه‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده متغیر بودن توالی این قطعه در سویه‌های مورد بررسی می‌باشد. ونگ و همکاران (2009) وجود تنوع ژنتیکی بالا از نظر توالی قطعه ITS را در میان ریزوبیوم‌های مورد مطالعه نشان دادند. آندرید و همکاران (2002) و اسدی و همکاران (2011) نیز متغیر بودن توالی این قطعه را در باکتری‌های همزیست با لگوم‌ها گزارش نمودند. وجود یک باند اضافی در الگوی PCR سویه KH186 مبین این واقعیت است که قطعه ITS دو کپی در ژنوم این سویه دارد و این دو کپی از نظر طولی با هم متفاوت می‌باشند. این تفاوت در طول عمدتاً می‌تواند به دلیل وارد شدن ژن‌های متنوع tRNA در مناطق ITS باشد (جنسن و همکاران، 1993). حضور کپی‌های متعدد از ژن ITS در ژنوم باکتری‌های ریزوبیومی نشانگر این واقعیت است که اپرون rRNA در کپی‌های متعدد در ژنوم این باکتری‌ها وجود دارد. این موضوع توسط محققین مختلف گزارش شده است (جیناکس و همکاران، 1993؛ هابر و سلنسکاپابل، 1994؛ استوارت و کاواناق، 2007). نتیجه PCR دو سویه KH24 و KH16 نشان داد که اندازه قطعه ITS در این دو باکتری بطور قابل ملاحظه‌ای کوچکتر با دیگر سویه‌های مورد مطالعه است. همچنین در دندروگرام رسم شده با استفاده از شباهت بین الگوهای مختلف RFLP و الگوریتم UPGMA قطعه ITS، این دو سویه کاملاً جدا از سویه‌های دیگر گروه‌بندی شدند. این نتایج نشان می‌دهد که دو سویه KH24 و KH16 می‌توانند متفاوت با باکتری‌های دیگر باشند و هیچ خویشاوندی با بقیه سویه‌های مورد مطالعه نداشته باشند.

نتایج حاصل از آزمون گره‌زایی نشان داد که اکثر سویه‌های مورد بررسی دارای توانایی ایجاد گره در گیاه یونجه بودند. در اثر تلقیح این نبات علوفه‌ای با سویه‌های KH16، KH24 ، KH10، KH6، KH133 و KH193 گره‌ای حاصل نشد (جدول2). در این تحقیق دامنه وسیعی از درصد کارایی همزیستی در بین باکتری‌های مورد بررسی مشاهده شد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون بررسی کارایی همزیستی سویه‌های مورد مطالعه، این باکتری‌ها به چهار دسته غیر مؤثر، نسبتاً موثر، مؤثر و خیلی مؤثر تقسیم‌بندی شدند (جدول2). درصد کارایی همزیستی در سویه‌های غیر مؤثر زیر 75، در سویه‌های نسبتاً مؤثر 75-100، در سویه‌های مؤثر 100 و در سویه‌های خیلی مؤثر بالای 100 بود. دو سویه KH186 و KH13 از نظر تثبیت N_2 غیر مؤثر بودند. سویه‌های KH202، KH126، KH57 و KH21 بالاترین S.E.% را داشتند.

تثبیت نیتروژن مولکولی بیشتر توسط باکتری‌های ریزوبیومی می‌تواند از طریق انتخاب سویه‌های برتر تثبیت کننده N_2 حاصل شود (هوویسون، 1995؛ رنگل، 2002). به‌منظور دستیابی به سویه‌های برتر، بررسی توانایی سویه‌ها در تثبیت N_2 تحت شرایط کنترل شده گلخانه‌ای و شرایط طبیعی در مزرعه لازم است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که توانایی اکثر سویه‌های مورد مطالعه در تثبیت نیتروژن مولکولی نسبتاً خوب بود و این موضوع نشان می‌دهد که تلقیح با سویه‌های برتر به‌منظور دستیابی به مقادیر بالای تثبیت N_2 نیاز است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که روش ITS PCR-RFLP می‌تواند یک نشانگر مولکولی مناسب برای بررسی تنوع ژنتیکی و غربالگری‌های اولیه باکتری‌های همزیست با گیاهان لگوم باشد. نتایج حاصل از آزمون گره‌زایی نشان داد که بعضی از سویه‌های مورد بررسی توانایی ایجاد گره در ریشه‌های یونجه را نداشتند. این نتایج و نتایج گروه‌بندی انجام شده با استفاده از تکنیک ITS PCR-RFLP نشان می‌دهد که باکتری‌های غیر ریزوبیومی در میان باکتری‌های جداسازی شده از گره‌های یونجه وجود دارد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق به منظور شناسایی هر چه دقیق‌تر، مطالعه فیلوژنی 16 باکتری نماینده با استفاده از توالی‌یابی ژن‌های کدکننده پروتئین‌های خانه‌دار[1] و ژن‌های درگیر در گره‌زایی[2] و تثبیت نیتروژن[3] پیشنهاد می‌گردد.

---

1. House keeping genes
2. Nod genes
3. Nif genes

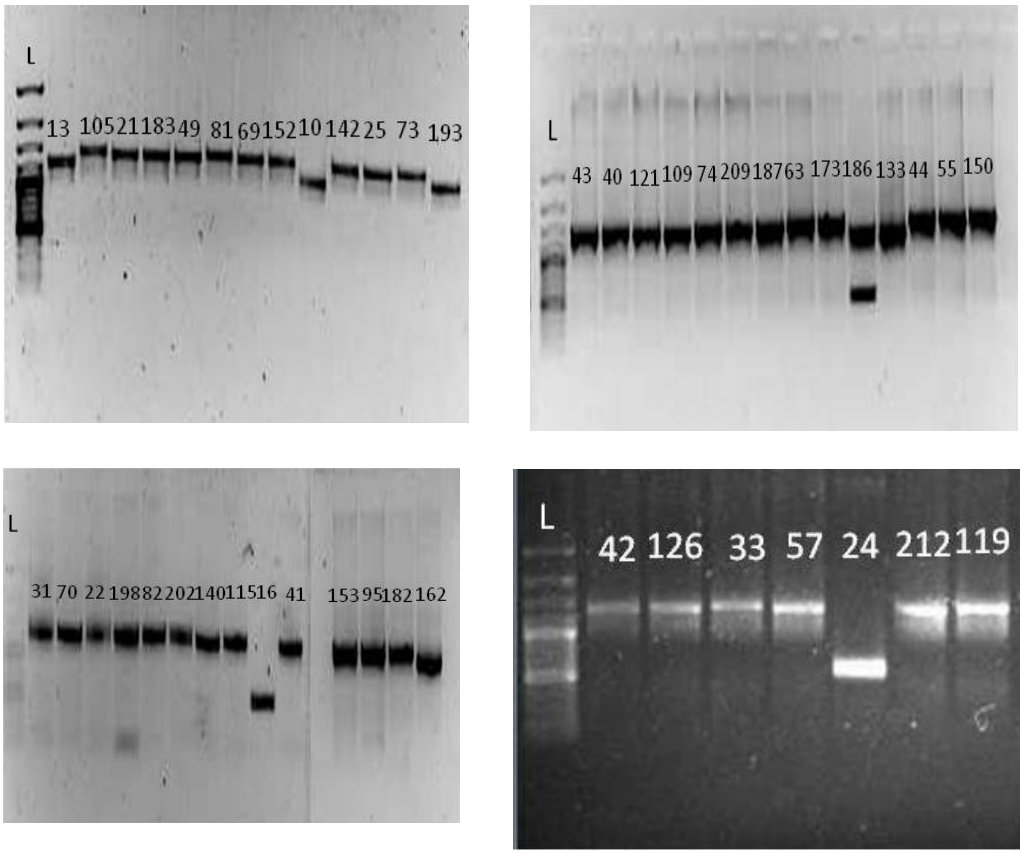
جدول 1- سویه‌های مورد استفاده در این پژوهش

سویه	گیاه میزبان	منطقه جداسازی سازی شده	ITS ژنوتیپ
KH21	یونجه	چپقلو	2
KH183	یونجه	شیرین سو	2
KH49	یونجه	زنگنه	2
KH152	یونجه	فاماست	2
KH69	یونجه	میلاجرد	2
KH162	یونجه	وهمان	2
KH182	یونجه	کوهاون	2
KH198	یونجه	باباخنجر	2
KH95	یونجه	قلعه آسی جان	2
KH44	یونجه	حاتم آباد	2
KH121	یونجه	سلم سرایی	2
KH43	یونجه	کبودر آهنگ	2
KH202	یونجه	رزن	2
KH153	یونجه	جعفرآباد	2
KH70	یونجه	امامزاده پیرنهان	2
KH31	یونجه	ده دلیان	2
KH212	یونجه	قلقل آباد	2
KH57	یونجه	کرتیل آباد	2
KH126	یونجه	قوری چای	2
KH42	یونجه	سردارآباد	2
KH25	یونجه	حاجی آباد	2
KH142	یونجه	سامن	2
KH187	یونجه	طارقیه	2
KH209	یونجه	کرفس	2
KH74	یونجه	نیشر	2
KH109	یونجه	بیتران	2
KH22	یونجه	خماجین	2
KH41	یونجه	سرداران	3
KH115	یونجه	دربند	4
KH140	یونجه	ملایر	5
KH82	یونجه	زمان آباد به طرف ملایر	6
KH150	یونجه	آورزمان	6
KH173	یونجه	قوره جنیه	6
KH40	یونجه	سرورآباد	6
KH63	یونجه	برزون	6
KH119	یونجه	حسن قشلاق	6
KH105	یونجه	اسد آباد	7
KH81	یونجه	سیاکمر	7
KH33	یونجه	شراء	7
KH73	یونجه	علی آباد	7
KH10	یونجه	النجه	8
KH6	یونجه	چنار علیا	9
KH133	یونجه	توشمال	11
KH13	یونجه	زیر باغ	12
KH193	یونجه	گنبد چای	12
KH186	یونجه	کمی قلعه	14
KH16	یونجه	ازن دریان	15
KH24	یونجه	دهلق	15
HAMBI1318		هلسینکی	1
HAMBI21148		هلسینکی	1
HAMBI12306		هلسینکی	10
HAMBI1811		هلسینکی	13

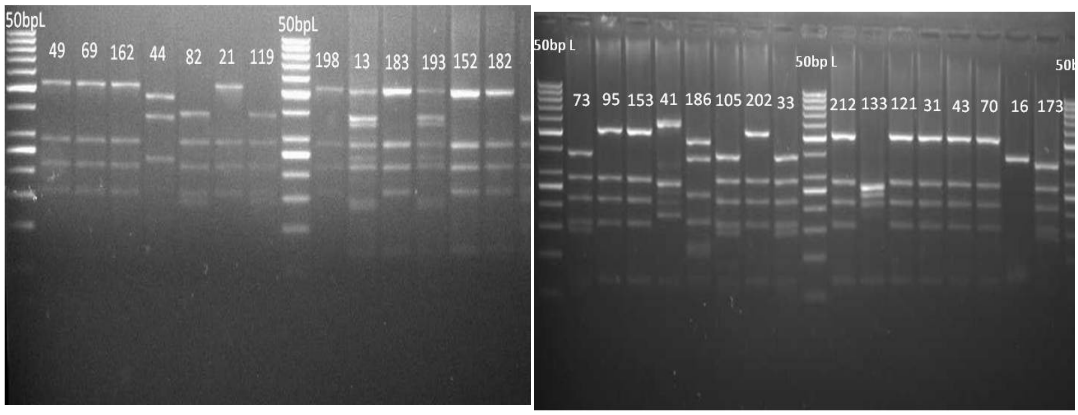
جدول 2- نتایج حاصل از آزمون گره‌زایی و S.E.% سویه‌های مورد استفاده

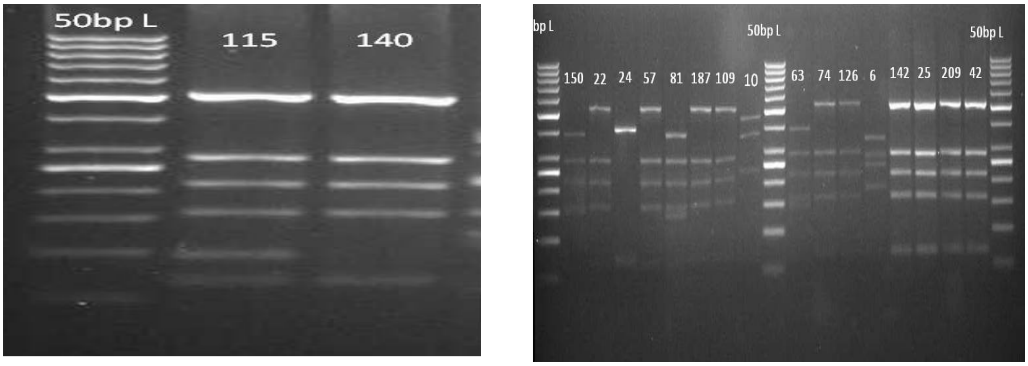
سویه	آزمون گرزایی	S.E.%
KH21	+	106
KH183	+	96
KH49	+	104
KH152	+	80
KH69	+	101
KH162	+	84
KH182	+	85
KH198	+	86
KH95	+	82
KH44	+	77
KH121	+	62
KH43	+	76
KH202	+	121
KH153	+	97
KH70	+	84
KH31	+	92
KH212	+	105
KH57	+	110
KH126	+	114
KH42	+	90
KH25	+	90
KH142	+	100
KH187	+	78
KH209	+	93
KH74	+	75
KH109	+	91
KH22	+	93
KH41	+	94
KH115	+	100
KH140	+	103
KH82	+	80
KH150	+	83
KH173	+	87
KH40	+	79
KH63	+	66
KH119	+	90
KH105	+	94
KH81	+	70
KH33	+	97
KH73	+	92
KH10	-	16
KH6	-	15
KH133	-	17
KH13	+	63
KH193	-	13
KH186	+	70

KH16	-	10
KH24	-	14

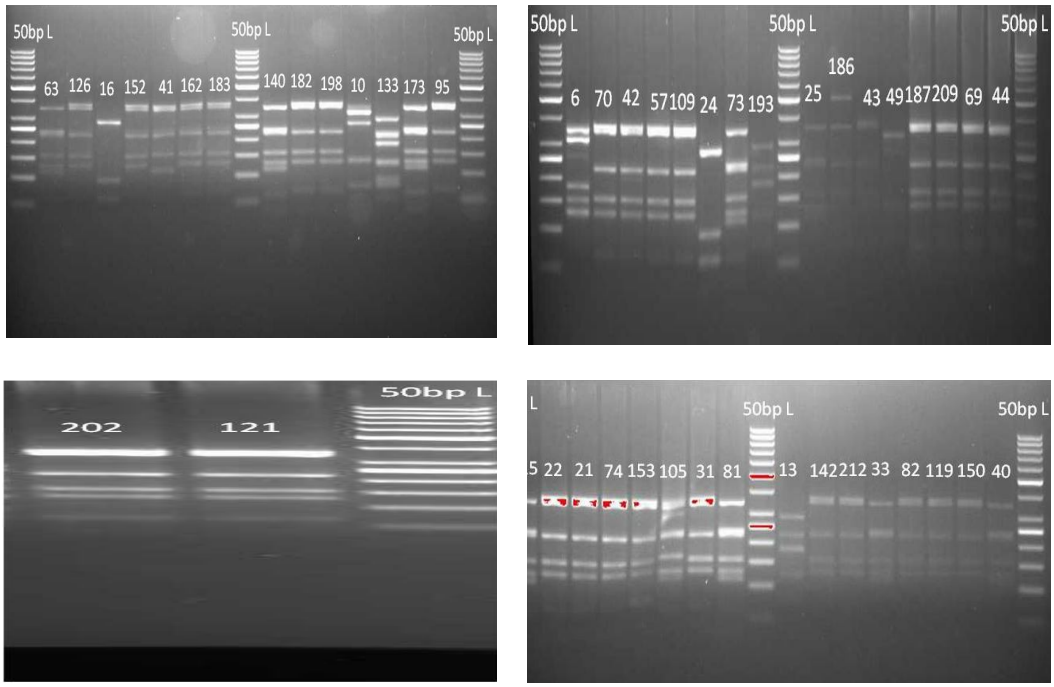


شکل 1- مشاهده محصولات واکنش زنجیری پلیمریزاسیون قطعه ITS روی ژل آگاروز 1/5 درصد
L: نشانگر مولکولی استفاده شده (100 bp plus Fermentas) شماره روی چاهک ها: شماره سویه های استفاده شده

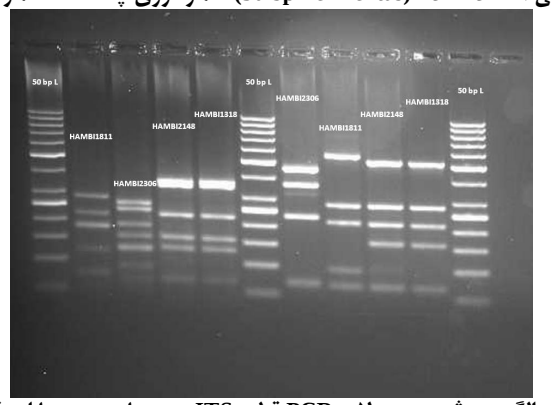




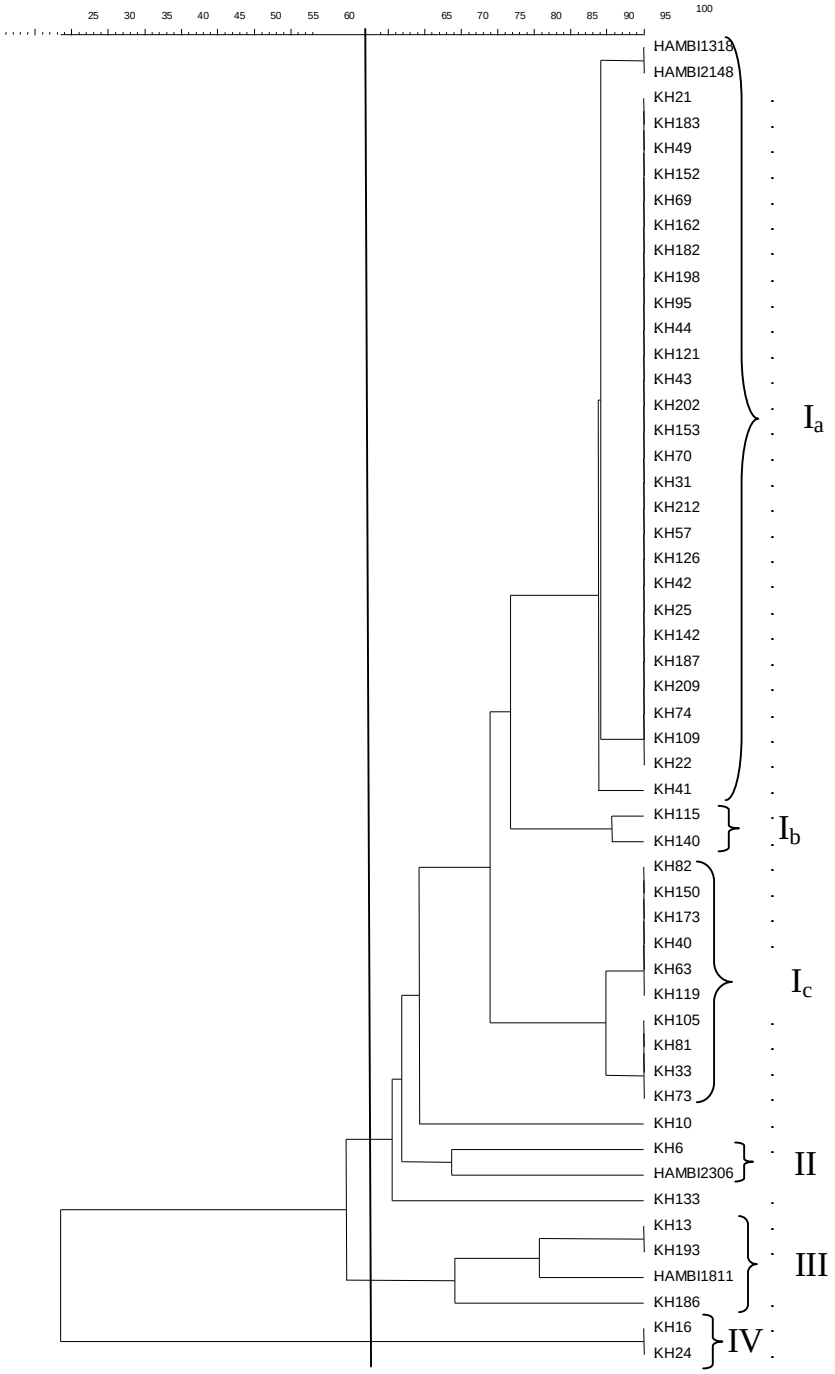
شکل 2- الگوی برشی محصولات PCR قطعه ITS با استفاده از آنزیم برشی HaeIII
L: نشانگر مولکولی استفاده شده (50 bp Fermentas) شماره روی چاهک‌ها: شماره جدایه‌های استفاده شده



شکل 3- الگوی برشی محصولات PCR قطعه ITS با استفاده از آنزیم برشی MSPI
L: نشانگر مولکولی استفاده شده (50 bp Fermentas) شماره روی چاهک‌ها: شماره جدایه‌های استفاده شده



شکل 4- الگوی برشی محصولات PCR قطعه ITS سویه‌های مرجع با استفاده از آنزیم‌های برشی *Hae*III (سمت راست) و *MSP*I (سمت چپ)
L: نشانگر مولکولی استفاده شده (50 bp Fermentas) شماره روی چاهک‌ها: شماره جدایه‌های استفاده شده



شکل 5- دندروگرام رسم شده با استفاده از شباهت بین الگوهای مختلف RFLP قطعه ITS و الگوریتم UPGMA

فهرست منابع:

1. هادی کریمی: زراعت و اصلاح گیاهان علوفه‌ای، انتشارات دانشگاه تهران، سال 1384.
2. Andrade DS., Murphy PJ. and Giller KE. 2002. The Diversity of *Phaseolus*-nodulating rhizobial populations is altered by liming of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brazil. Applied and Environmental Microbiology. 68: 4025–4034.
3. Asadi Rahmani, H., Räsänen, L.A., Afshari, M. and Lindström, K. 2011. Genetic diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris L*. grown in soils of Iran. Applied Soil Ecology.
4. Baele M., Baele P., Vaneechoutte M., Storms V., Butaye P., Devriese LA., Verschraegen G., Gillis M. and Haesebrouck F. 2000. Application of tRNA intergenic spacer PCR for identification of *Enterococcus* species. Journal of Clinical Microbiology. 38: 4201–4207.
5. Bailly, X., Olivieri, I., Demita, S., Cleyet-Marel, J.C. and Bena, G. 2006. Recombination and selection shape the molecular diversity pattern of nitrogen-fixing *Sinorhizobium* sp. associated to *Medicago*. Molecular Ecology. 15: 2719–2734.
6. Benromdhane S., Naser H., Samba-mbaye R., Neyra M. and Habib ghorbal M. 2005. Diversity of *Acacia tortilis* rhizobia revealed by PCR/RFLP on crushed root nodules in tunnsia. Annals Microbiology. 55: 249-258.
7. Biondi EG., Pilli E., Giuntini E., Roumiantseva ML., Andronov EE., Onichtchouk OP., Kurchak ON., Simarov BV., Dzyubenko NI., Mengoni A. and Bazzicalupo M. 2003. Genetic relationship of *Sinorhizobium meliloti* and *Sinorhizobium medicae* strains isolated from Caucasian region. FEMS Microbiology Letter. 220: 207–213.
8. Chen, W. X., Yan, G. H. and Li, J. L. 1988. Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov. International Journal of Systematic Bacteriology. 38: 392–397.
9. de Lajudie, P., Willems, A., Pot, B., Dewettinck, D., Maestrojuan, G., Neyra, M., Collins, M. D., Dreyfus, B., Kersters, K. and Gillis, M. 1994. Polyphasic taxonomy of rhizobia: emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb. nov., *Sinorhizobium saheli* sp. nov., and *Sinorhizobium teranga* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology. 44: 715–733.
10. Diouf, A., de Lajudie, P., Neyra,M., Kersters, K., Gillis, M., Martı´nez-Romero, E. and Gueye, M. 2000. Polyphasic characterization of rhizobia that nodulate *Phaseolus vulgaris* in West Africa (Senegal and Gambia). Int International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50:159-170.
11. Ferreira EM. and Marques JF. 1992. Selection of Portuguese *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strains for production of legume inoculants. Plant Soil. 147: 151–158.
12. Geniaux E., Laguerre G. and Amarger N. 1993. Comparison of geographically distant populations of *Rhizobium* isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* . Molecular Ecology. 2: 195-302.
13. Gurtler, V. and Stanisich, V. A. 1996. New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. Microbiology. 142:3–16.
14. Howieson JG. 1995. Characteristics of an ideotype acid tolerant pasture legume symbiosis in Mediterranean agriculture. Plant Soil. 171: 71–76.
15. Huber I. and Selenska-Pobell S. 1994. Pulsed-field electrophoresis fingerprinting, genome size estimation and rrn loci number of Rhizobium galegae. Journal of Applied Bacterialogy. 77: 528-533.
16. Jensen, M. A., Webster, J. A. and Straus, N. 1993. Rapid identification of the bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. Applied and Environmental Microbiology. 59:945–952.

17. Laguerre G., Mavingui P., Allard MR., Charnay MP., Louvrier P., Mazurier SI., Rigottier-Gois L. and Amarger N. 1996. Typing of rhizobia by PCR DNA fingerprinting and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of chromosomal and symbiotic gene regions: application to *Rhizobium leguminosarum* and its different biovars. Applied and Environmental Microbiology. 62: 2029–2036.
18. Laguerre, G., Allard, M.R., Revoy, F. and Amarger, N. 1994. Rapid identification of rhizobia by restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S rRNA genes. Applied and Environmental Microbiology. 60: 56–63.
19. Langer, H., Kemanthi G, N., John G, H., Milko, J., and Fernando, B. 2008. Genetic diversity of *Sinorhizobium meliloti* associated with alfalfa in Chilean volcanic soils and their symbiotic effectiveness under acidic conditions. World Journal Microbiology Biotechnology. 24:301–308.
20. Lin DX., Man CX., Wang ET. and Chen WX. 2007. Diverse rhizobia that nodulate two species of *Kummerowia* in China. Arch Microbiol. 188: 495–507.
21. Merabet, C., Martens, M., Mahdhi, M., Zakhia, F., Sy, A., Le Roux, C., Domergue, O., Coopman, R., Bekki, A., Mars, M., Willems, A. and de Lajudie, P. 2010. Multilocus sequence analysis of root nodule isolates from Lotus arabicus (Senegal), Lotus creticus, *Argyrolobium uniflorum* and *Medicago sativa* (Tunisia) and description of *Ensifer numidicus* sp. nov. and *Ensifer garamanticus* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 60: 664–674.
22. Michaud R., Lehman WF. and Rumbaugh MD. 1987. World distribution and historical development, In Hanson AA., Barnes DK. , Hill RR. Alfalfa and alfalfa improvement. American Society of Agronomy, Madison, Wis. p. 25-91.
23. Nick, G., de Lajudie, P., Eardly, B. D., Suomalainen, S., Paulin, L., Zhang, X., Gillis, M. and Lindstrom, K. 1999. *Sinorhizobium arboris* sp. nov. and *Sinorhizobium kostiense* sp. nov., isolated from leguminous trees in Sudan and Kenya. International Journal of Systematic Bacteriology. 49: 1359–1368.
24. Rengel Z. 2002. Breeding for better symbiosis. Plant Soil. 245: 147–162.
25. Rinco´ n-Rosales, R., Lloret, L., Ponce, E. and Martı´nez-Romero, E. 2009. Rhizobia with different symbiotic efficiencies nodulate *Acaciella angustissima* in Mexico, including *Sinorhizobium chiapanecum* sp. nov. which has common symbiotic genes with *Sinorhizobium mexicanum*. FEMS Microbiology Ecology. 67: 103–117.
26. Rome, S., Fernandez, M. P., Brunel, B., Normand, P. and Cleyet-Marel, J.-C. 1996. *Sinorhizobium medicae* sp. nov., isolated from annual *Medicago* spp. International Journal of Systematic Bacteriology. 46: 972–980.
27. Stewart FJ. and Cavanaugh CM. 2007. Intragenomic Variation and Evolution of the Internal Transcribed Spacer of the rRNA Operon in Bacteria. Journal of Molecular Evolution. 65: 44- 67.
28. Toledo, I., Lloret, L. and Martı´nez-Romero, E. 2003. *Sinorhizobium americanus* sp. nov., a new *Sinorhizobium* species nodulating native *Acacia* spp. in Mexico. Systematics and Applied Microbiology. 26: 54–64.
29. Vincent JM. and Humphrey BA. 1970. Taxonomically significant group antigens in *Rhizobium*. J Gen Microbiology. 63: 379–382.
30. Vinuesa, P., Silva, C., Lorite, M. J., Izaguirre-Mayoral, M. L., Bedmar, E. J. and Martı´nez-Romero, E. 2005. Molecular systematics of rhizobia based on maximum likelihood and Bayesian phylogenies inferred from rrs, *atpD*, *recA* and *nifH* sequences, and their use in the classification of *Sesbania* microsymbionts from Venezuelan wetlands. Systematics and Applied Microbiology. 28: 702–716.

31. Wang H., Man CX., Wang ET. and Chen WX. 2009. Diversity of rhizobia and interactions among the host legumes and rhizobial genotypes in an agricultural-forestry ecosystem. Plant Soil. 314: 169–182.
32. Wang, E. T., Tan, Z. Y., Willems, A., Ferna´ ndez-Lo´ pez, M., Reinhold-Hurek, B. and Martı´nez-Romero, E. 2002. *Sinorhizobium morelense* sp. nov., a *Leucaena leucocephala*-associated bacterium that is highly resistant to multiple antibiotics. Int International Journal of Systematic Bacteriology. 52: 1687–1693.
33. Wasike, V. W., Lesueur, D., Wachira, F. N., . Mungai, N. WL., Mumera, M., Sanginga, N., buru, H. N. M., Mugadi, D., Wango, P. and Vanlauwe, B. 2009. Genetic diversity of indigenous *Bradyrhizobium* nodulating promiscuous soybean [*Glycine max* (L) Merr.] varieties in Kenya: Impact of phosphorus and lime fertilization in two contrasting sites. Plant Soil. 322, 151–163.
34. Wei, G. H., Wang, E. T., Tan, Z. Y., Zhu, M. E. and Chen, W. X. 2002. *Rhizobium indigoferae* sp. nov. and *Sinorhizobium kummerowiae* sp. nov., respectively isolated from *Indigofera* spp. and *Kummerowia stipulacea*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 52: 2231–2239.

اثر قارچ‌های میکوریز آربسکولار بر رشد و جذب عناصر غذایی پایه نارنج در شرایط تنش کم آبی

زهرا پیمانه و مهدی زارعی[1]*

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز؛ **z.paymaneh@yahoo.com**

استادیار بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز؛ **Mehdizarei@shirazu.ac.ir**

چکیده

در مناطق خشک و نیمه خشک کمبود آب سبب کاهش تولیدات کشاورزی می‌شود. مرکبات کشور در سال‌های اخیر در پی خشکسالی‌های مستمر با کاهش تولید و افت سطح باغات مواجه است. قارچ‌های میکوریز آربسکولار با مکانیسم‌های مانند افزایش جذب عناصر غذایی به کاهش اثرات کم آبی در گیاهان میزبان کمک می‌کند. در این پژوهش اثر قارچ *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* بر رشد و جذب عناصر غذایی در پایه نارنج در یک آزمایش گلخانه‌ای در خاک استریل بررسی گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه فاکتور شامل قارچ میکوریز آربسکولار در سه سطح شامل *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* و شاهد، کم آبی در 4 سطح (دورهای آبیاری 2، 4، 6 و 8 روز) و پایه نارنج در سه تکرار صورت گرفت. کم آبی میانگین وزن خشک ریشه و اندام هوایی و جذب عناصر غذایی اندام هوایی و ریشه (فسفر، نیتروژن، آهن، مس و منگنز) را کاهش، در حالی جذب روی اندام هوایی و ریشه را افزایش داد. میزان وزن خشک ریشه و اندام هوایی، جذب فسفر، نیتروژن، آهن، منگنز، مس و روی در اندام هوایی پایه نارنج تلقیح شده با قارچ میکوریزی نسبت به پایه غیرمیکوریزی در شرایط تنش کم آبی، بالاتر بود. درصد کلنیزاسیون ریشه در تیمارهای دارای قارچ بیشتر از تیمارهای بدون قارچ بود. در پایه نارنج تلقیح شده با قارچ میکوریزی با افزایش تنش کم آبی درصد کلنیزاسیون ریشه کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: *گلوموس موسه*، *گلوموس ورسیفرم*، مرکبات، تنش کم آبی، عناصر غذایی

مقدمه

مرکبات یکی از محصولات اقتصادی مهم در بخش‌های شمالی و جنوب کشور ایران است. کشور ایران با تولید تقریباً 3/5 درصد مرکبات جهان جزء 7 کشور عمده تولید کننده این محصول در دنیاست و استان فارس به عنوان دومین استان تولید کننده، تقریباً 30 درصد از تولید مرکبات کشور را به خود اختصاص داده است (جیحونی، 1390). ایران با قرار گرفتن در عرض جغرافیایی 25 تا 38 درجه جزء مناطق خشک و نیمه خشک به حساب می‌آید. محققین ایران را در سال‌های آتی جزء گروه کشورهای دچار تنش آبی شدید معرفی می‌نمایند (آلکامو و همکاران 2000، اسماکتین و همکاران 2004). با توجه به این موضوع و همچنین وقوع خشکسالی‌های اخیر، توجه به مسأله کم آبی نیز بیشتر شده است. بکارگیری صحیح از کود بیولوژیک میکوریزی، ضمن کاهش مصرف کود و سم که آلودگی‌های زیست محیطی را کاهش می‌دهد و نیل به

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، کیلومتر 12 جاده شیراز، اصفهان، منطقه باجگاه، دانشکده کشاورزی، بخش علوم خاک، کد پستی 7175757584

* دریافت: 91/10/15 و پذیرش: 92/2/5

کشاورزی و توسعه پایدار را در بر خواهد داشت، کاهش مصرف آب، استفاده بهینه از آن و مقابله با سایر تنش‌های غیر زنده را نیز در پی دارد (اسمیت و رد، 2008). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ریزجانداران خاکزی هستند که با ریشه گیاهان مختلف ازجمله مرکبات رابطه همزیستی ایجاد می‌کنند و تأثیر گسترده‌ای بر رشد آنها دارند. ریشه‌های ضخیم مرکبات تمایل زیادی برای برقراری رابطه با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار دارند. برای نمونه زنگنه و همکاران (1384) در تحقیقی 23 گونه از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را در ریزوسفر مرکبات ایران شناسایی نمودند. این قارچ‌ها رشد مرکبات را (خصوصاً در خاک‌های آهکی) افزایش می‌دهند (گراهام و سورتسن، 1985) و بیشتر به گونه‌های *گلوموس* تعلق دارند (دیویز و البرگو، 1994). این قارچ‌ها در استقرار اولیه گیاه در شرایط خشکسالی موثر می‌باشند. قارچ‌های میکوریز آربسکولار از طریق افزایش رشد و جذب بیشتر عناصر غذایی در شرایط تنش کم آبی مقاومت گیاه به این شرایط را افزایش می‌دهند (آگ، 2001؛ آل کراکی و آل رداد 1997). در شرایط تنش کم آبی در اثر افزایش سطح ریشه و طول ریشه‌های میکوریزی هدایت هیدرولیکی سیستم ریشه‌های گیاهان میکوریزی بهتر از گیاهان غیر میکوریزی می‌باشد. همچنین هدایت آبی 2 تا 3 برابر در واحد طول ریشه افزایش نشان می‌دهد (تروزا، 2003). کم آبی بواسطه افزایش جذب آب، افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه‌ها، تنظیم اسمزی، تغییرات در کنترل روزنه‌ای و خاصیت ارتجاعی دیواره سلولی به کمک هیف‌های قارچ میکوریز آربوسکولار تعدیل می‌شود (آل کراکی و آل رداد، 1997). تنش کم آبی تعداد تارهای کشنده ریشه را کاهش می‌دهد و بر مورفولوژی ریشه و انشعابات ریشه صدمه وارد می‌نماید که در نتیجه آن جذب عناصر غذایی بوسیله سیستم ریشه‌ای کاهش می‌یابد. در این زمان، هیف‌های قارچ‌های میکوریز قارچ میکوریز آربسکولار می‌تواند جانشین سیستم‌های ریشه شود و عناصر غذایی را جذب نماید. نقش همزیستی میکوریزی در شرایط تنش کم آبی در جذب عناصر غذایی مهمتر از نقش همزیستی میکوریزی در شرایط بدون تنش می‌باشد (وو و زو، 2009). علاوه بر این محققین مختلف، تغییر در الاستیسیته برگ، بهبود در پتانسیل آب و آماس برگ، باز نگه داشتن روزنه‌ها و افزایش تعرق، افزایش در طول و عمق نفوذ ریشه‌ها، افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه، افزایش جذب آب در سطوح پایین رطوبت توسط هیف‌های برون ریشه‌ای، تغییر در انعطاف‌پذیری دیواره سلولی، افزایش فعالیت فتوسنتزی، تجمع پرولین و کربوهیدرات‌ها و افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی، در شرایط تنش کم آبی را گزارش نموده‌اند (آگ، 2001؛ پورسل و همکاران، 2003). در ایران تاکنون حقیقت نیا و همکاران (2011) نشان دادند که کلنی سازی میکوریزی پایه مرکبات ولکامرانیا، بویژه تلقیح گیاه با گونه *گلوموس اینترارادیسز* بواسطه تأثیر مثبت بر پارامترهای مورفولوژیک، جذب عناصر غذایی (پتاسیم، فسفر و کلسیم)، مقدار کلروفیل و رطوبت نسبی آب برگ تحت شرایط تنش خشکی، سبب اصلاح مقاومت به تنش خشکی در گیاه گردیده است. نارنج، نخستین پایه‌ای است که در مرکبات کاری استفاده شده است. درختانی که بر روی پایه نارنج قرار دارند دارای قدرت رشد متوسط و اندازه استاندارد می‌باشند. این پایه درختانی تولید می‌کنند که دارای محصول خوبی می‌باشند ولی در مقایسه با درختانی که بر روی سایر پایه‌ها هستند عملکردش کمتر است. نارنج دارای سیستم ریشه‌ای محدود است (رادنیا، 1375). با توجه به اینکه در ارتباط با اثرات قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر پایه نارنج بومی کشور هیچگونه اطلاعاتی منتشر شده‌ای وجود نداشت. در این تحقیق اثرات تلقیح دو گونه مختلف قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر رشد و جذب عناصر غذایی این پایه در شرایط تنش کم آبی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

میوه‌های تازه نارنج از موزه نارنجستان شیراز تهیه شد. میوه‌های تازه به خوبی با آب شستشو و سپس با محلول وایتکس دارای هیپو کلریت سدیم 5 درصد به مدت 15 دقیقه ضد عفونی شده و خشک گردیدند. در ادامه بذرهای آنها بیرون آورده شد و در الکل 70 درصد برای مدت 5 دقیقه غوطه ور و ضدعفونی سطحی و سپس چندین مرتبه با آب مقطر شستشو گردید (وو و همکاران 2007). گلدان‌های پلاستیکی حاوی بستری با نسبت حجمی 1:1:1 از مخلوط سترون (اتوکلاو) شده خاک برگ، ماسه بادی و خاک آماده گردید. تعداد سه عدد از بذرهای خشک شده در هر گلدان کاشته شد. گلدان‌ها به طور روزانه آبیاری و به مدت سه ماه نگهداری گردیدند. در پایان این دوره دانهال‌های یکسان و هم‌اندازه به دست آمده به کشت اصلی منتقل گردید.

خاک به مقدار مورد نیاز کشت اصلی از افق سطحی (صفر تا 20 سانتی متری) از سری دانشکده با نام علمی Cambisols Calcic (در سیستم طبقه بندی فائو) وfine, mixed, mesic, calcixerollic, Xerochrept (در طبقه بندی امریکایی) برداشت و سترون (اتوکلاو) شد.

خاک بر اساس روش‌های استاندارد تجزیه گردید. مشخصات فیریکی و شیمیایی خاک در جدول 1 ارائه شده است. برای اعمال تیمارهای کم آبی، گلدان‌های محتوی 5 کیلوگرم خاک انتخاب و مقدار رطوبت آنها به حد ظرفیت زراعی (که مقادیر ظرفیت زراعی و پژمردگی دائم قبلاً با صفحه فشاری اندازه‌گیری شده بود) رسانده شد. سپس روزانه در ساعت مشخصی رطوبت خاک اندازه‌گیری گردید و تا زمان رسیدن به نقطه پژمردگی دائم (حدود 15 روز)، ادامه یافت. مقدار کاهش رطوبت در هر روز با استفاده از فرمول زیر بدست آمد (سپاسخواه و یرمی، 2009):

$$\theta_{FC} - \theta_{specific\ day}$$

$$\theta_{FC} - \theta_{pwp}$$

سپس منحنی رطوبتی با استفاده از مقادیر بدست آمده رطوبت طی 15 روز رسم گردید و با استفاده از این نمودار، دورهای آبیاری 2، 4، 6 و 8 روز مشخص گردید که در هر دور آبیاری، با وزن نمودن، رطوبت خاک به حد ظرفیت مزرعه می‌رسید (سپاسخواه و یرمی، 2009).

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام گردید. فاکتورهای مورد استفاده در آزمایش شامل قارچ میکوریز آربسکولار در سه سطح شامل *گلوموس موسه*، *گلوموس ورسیفرم* و شاهد، کم آبی در 4 سطح شامل دورهای آبیاری 2، 4، 6 و 8 روز گلدان‌های بدون زهکش انتخاب و با الکل سترون سطحی گردید. خاک به مقدار 5 کیلوگرم به هر گلدان افزوده گردید. بر اساس آزمون خاک عناصر مورد نیاز به خاک اضافه شد. دانهال‌ها به تعداد 2 عدد در هر گلدان منتقل شد. مایه تلقیح قارچ‌ها از بخش علوم خاک دانشگاه شیراز تهیه و به روش تله تکثیر گردیدند. برای تلقیح قارچ‌ها ی میکوریز آربسکولار مقدار 70 گرم از مایه تلقیح هر قارچ شامل اسپور (10-9 اسپور در هر گرم بستر)، هیف و قطعات کلنیزه شده (80-85%) و کلنیزه نشده ریشه‌ای و بستر در 5 سانتیمتری خاک گلدان و در کنار ریشه دانهال‌ها قرار داده شد. به منظور حفظ جمعیت میکروبی غیر از قارچ میکوریز و یکسان شدن وزن گلدان‌ها، مقدار 70 گرم از بستر گلدان‌های شاهد تلقیح نشده با قارچ‌ها که در مرحله کشت تله نگهداری شده بودند به تیمارهای بدون قارچ در کشت اصلی اضافه گردید. بعد از گذشت یک ماه از کشت اصلی (تلقیح قارچ ها) تیمارهای تنش آبی اعمال گردید (حقیقت نیا و همکاران، 2011). بعد از گذشت 6 ماه از کشت اصلی برداشت گیاه صورت گرفت. مقداری از ریشه‌ها (0/5 گرم) نمونه‌برداری و برای اندازه‌گیری درصد کلنیزاسیون ریشه در محلول فرمالدئید- اسید استیک -الکل نگهداری گردید (وو و همکاران، 2007). رنگ‌آمیزی ریشه به روش کورمانیک و مک گرو (1982) انجام و به روش خطوط متقاطع درصد کلنیزاسیون ریشه تعیین گردید. اندام‌های گیاه شامل اندام هوایی و ریشه با استفاده از آب مقطر شستشو و در آون در دمای 70 درجه سلسیوس تا زمانی که وزن خشک آنها ثابت شود قرار داده شدند و سپس وزن آنها تعیین گردید. اندام هوایی و ریشه‌های خشک شده آسیاب و برای اندازه‌گیری غلظت عناصر تجزیه گردیدند. یک گرم از نمونه‌های پودر شده در دمای 550 درجه سلسیوس در کوره الکتریکی خاکستر و سپس در 5 میلی‌لیتر اسید کلدریک دو نرمال حل کرده و محلول توسط کاغذ صافی و پس از شستشوی مواد باقی مانده بر سطح کاغذ صافی با آب مقطر، حجم نهایی به 50 میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت‌های فسفر به روش آمونیوم مولیبدات وانادات (امامی، 1375)، غلظت آهن، مس، روی و منگنز توسط دستگاه جذب اتمی (Shimatzu AA-670)، نیتروژن به روش کلدال (برمنر، 1996) اندازه‌گیری گردید. تجزیه آماری با کمک نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD انجام و نمودارها با Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

بر اساس جدول تجزیه واریانس اثر قارچ و تنش کم آبی بر تمام پارامترها معنی‌دار بوده است و اثر برهمکنش قارچ و تنش کم آبی بر کلنیزاسیون ریشه، جذب آهن و منگنز در اندام هوایی(جدول 2) و جذب نیتروژن، فسفر، آهن، منگنز و روی در ریشه (جدول 3) معنی‌دار بوده است.

با افزایش شدت تنش کم آبی درصد کلنیزاسیون ریشه در پایه نارنج به شدت کاهش یافته، درصد کلنیزاسیون در تیمارهای تلقیح شده با قارچ میکوریز بین 80/82 و 34/25 بوده است. درصد کلنیزاسیون ریشه گونه *گلوموس موسه* در مقایسه با *گلوموس ورسیفرم* در همه دورهای آبیاری بیشتر بود. این مقدار افزایش در دور آبیاری 2 روز در مقایسه با سایر دورها معنی‌داری بود. در تیمارهای بدون تلقیح قارچ در تمام سطح‌های تنش کم آبی هیچ نوع از اندام‌های قارچ مشاهده نشد (شکل 1). وو و همکاران (2006) گزارش کردند که بالاترین درصد کلنیزاسیون ریشه مرکبات در کاربرد با قارچ میکوریز زمانی بود که گیاه تحت تأثیر تنش کم آبی نباشد. آنان عنوان کردند تنش کم آبی، درصد کلنیزاسیون ریشه مرکبات را کاهش می‌دهد. با کاهش رطوبت خاک، کمیت و کیفیت ترشحات ریشه‌ای تغییر می‌کند که بر روی

تندش اسپور تأثیر می‌گذارد. کاهش رطوبت همچنین به طور مستقیم بر تندش اسپور تأثیر می‌گذارد (اسمیت و رد، 2008). وو و همکاران (2005) دریافتند که درصد کلنیزاسیون ریشه در گیاه نارنج سه برگ مایه‌زنی شده با قارچ *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی به طور معنی‌داری کاهش یافته است و هیچ گونه اندام قارچی در گیاهان شاهد مشاهده نشده است. نتایج این تحقیق با تحقیقات وو و همکاران (2011 و 2008) و وو و زو (2009) بر روی مرکبات در شرایط تنش کم آبی مشابه بوده است.

با افزایش شدت تنش کم آبی وزن خشک ریشه و اندام هوایی کاهش یافت (شکل 2). تنش‌های کم آبی طولانی مدت موجب کاهش رشد سیستم ریشه‌ای و وزن خشک آنها می‌شوند که علت آن محرک‌های شیمیایی است که موجب کاهش هدایت سیستم ریشه‌ای در شرایط تنش کم آبی می‌شود و در نتیجه شیره گیاهی از ریشه کمتر عبور می‌کند (هوتون، 2004) و یا افزایش مقاومت مکانیکی خاک می‌باشد. در تمام دوره‌های آبیاری، بین دو گونه قارچ تلقیح شده اختلاف معنی‌دار در وزن خشک اندام هوایی و ریشه وجود نداشت (شکل 2). از آنجا که در دوره‌های آبیاری 4، 6 و 8 روز، بین درصد کلنیزاسیون ریشه دو گونه قارچ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت عملکرد ماده خشک ریشه و اندام هوایی دو گونه نیز در این دوره‌های آبیاری، تفاوت معنی‌داری نداشتند. در حالیکه در دور آبیاری 2 روز درصد کلنیزاسیون ریشه گونه قارچ *گلوموس موسه* به طور معنی‌دار از *گلوموس ورسیفرم* بیشتر بود (شکل 1) ولی این افزایش بر وزن خشک اندام-ها تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد (شکل 2) در حالیکه در جذب برخی عناصر تأثیر داشت (شکل‌های 3، 4، 5 و 6). در تمامی دوره‌های آبیاری، وزن خشک ریشه تیمارهای تلقیح شده با قارچ از تیمارهای بدون قارچ به طور معنی-داری بالاتر بود. در ارتباط با اندام هوایی نیز، گونه‌های قارچی به طور معنی‌داری آن را به خصوص در دوره‌های آبیاری 6 و 8 روز افزایش داده است (شکل 2). کلنیزه شدن گیاهان بوسیله قارچ سبب تنظیم اسمزی بهتر و بهبود رابطه آب گیاه می‌شود. قارچ باعث افزایش میزان جذب آب در گیاه نسبت به تیمارهای بدون قارچ می‌شود و افزایش جذب آب، سبب تورژسانس در سلول‌ها می‌گردد که خود یک عامل محرک طویل شدن سلول‌ها است. قارچ سبب گسترش سیستم هیف در اطراف ریشه و متعاقباً افزایش تماس ریشه با خاک می‌شود و در نتیجه توانایی جذب آب در آنها بیشتر می‌گردد. علاوه بر این قارچ موجب افزایش جذب عناصر غذایی از خاک و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌گردد که سبب افزایش رشد ریشه و اندام هوایی و عملکرد ماده خشک آنها می‌باشد. برخی محققین تأثیر قارچ میکوریز بر رشد گیاهان میزبان در طول کم آبی را وابسته به بهبود تغذیه فسفر بیان نموده‌اند و همچنین هیف‌های خارج ریشه‌ای قارچ‌های میکوریز، تنظیمات روزنه‌ای و جذب آب را در ریشه‌های میکوریز افزایش می‌دهند (جانسون و همل، 1985). در دور آبیاری 2 روز بین تیمارهای تلقیح شده با قارچ و تیمارهای بدون قارچ اختلاف معنی‌دار در وزن خشک اندام هوایی وجود نداشت، در حالیکه قارچ وزن خشک ریشه ها را به طور معنی‌داری افزایش داده بود (شکل 2). در این تحقیق در شرایط بدون تنش و تنش کم آبی، به طور کلی در همه تیمارها، مقدار ماده خشک اندام هوایی در مقایسه با ماده خشک ریشه بیشتر بوده است (شکل 2). اینکه در تیمارهای قارچی در شرایط بدون تنش رشد ریشه‌ها دو برابر شده ولی اندام هوایی تغییر نکرده است شاید به دلیل خصوصیات نوع گیاه و گونه قارچی و نتایج برهمکنش آنها بر تعادلات هورومونی گیاه باشد. نارنج دارای سیستم ریشه‌ای محدود است و در شرایط تنش و بدون تنش وقتی با قارچ همزیست می‌گردد ممکن است قارچ سبب رفع محدودیت رشد ریشه گردد و رشد آن را افزایش دهد. معمولاً در شرایط تنش، که ریشه ها رشد کمتری در مقایسه با اندام هوایی دارند قارچ‌ها رشد ان را افزایش می‌دهند (حقیقت نیا و همکاران، 2011).

کم آبی جذب نیتروژن و فسفر در اندام هوایی و ریشه پایه نارنج را کاهش داده است. قارچ باعث افزایش جذب این عناصر در اندام هوایی و ریشه در شرایط تنش و بدون تنش شده است (شکل 3). مکانیسم‌های جذب و انتقال عناصر غذایی در گیاهان، نظیر جریان توده‌ای، انتشار و یا جذب و انتقال بوسیله پدیده‌ی اسمز همگی، کم و بیش تابعی از مقدار رطوبت موجود در خاک و ریشه می‌باشد و در صورت کاهش رطوبت، رشد گیاه کاهش می‌یابد و شدت و مقدار جذب عناصر غذایی دستخوش تغییر و تحول می‌گردد. اگر چه بعضی از این سیستم‌های انتقالی عناصر نظیر انتشار به مقدار رطوبت کمتری جهت جذب عناصر غذایی نیازمند بوده و در این راستا با کاهش رطوبت تا حد آستانه بحرانی، باز هم روند جذب و انتقال بعضی از عناصر غذایی توسط ریشه ادامه دارد، اما از سوی دیگر، جریان توده‌ای وابستگی زیادی به مقدار رطوبت داشته و در صورت کاهش رطوبت، عناصری که بوسیله این جریان انتقال می‌یابند روند جذب منفی نشان می‌دهند. با افزایش شدت کم آبی از جذب

نیتروژن در برگ و ریشه کاسته شده است و قارچ میکوریزی باعث افزایش در رشد گیاه، غلظت و جذب نیتروژن نسبت به گیاهان بدون قارچ شده است (تایز و زایگر، 1998). ریوزولوزانو و آزکن (1995) در گیاهان کاهو میکوریزی در شرایط تنش کم آبی نتایج مشابه‌ای را گزارش نمودند. وو و زو (2009) در گیاه نارنج سه برگ تلقیح شده با قارچ *گلوموس ورسیفرم* گزارش کردند که قارچ تأثیری بر نیتروژن برگ و ریشه نداشته است. همین محققین دلیل نتایج مختلف را در گونه گیاه، قارچ و شرایط محیطی بیان نمودند. در حقیقت تنش کم آبی مقاومت مکانیکی خاک را افزایش می‌دهد و در نتیجه موجب کاهش رشد ریشه می‌شود. کاهش در رشد ریشه موجب کاهش توانایی گیاه برای جذب عناصر غذایی می‌شود. آگ (2001) بیان کردند که همزیستی میکوریز در شرایط تنش کم آبی معمولاً سبب افزایش جذب فسفر می‌شود. محققین علت افزایش جذب فسفر را افزایش رشد ریشه در شرایط تنش کم آبی دانستند. ریوزولوزانو و آزکن (1995) بر روی گیاهان کاهو تلقیح شده با قارچ میکوریز افزایش جذب فسفر را در هر دو شرایط تنش کم آبی و شرایط آب مناسب گزارش کردند. برخی محققین تأثیر قارچ میکوریز بر رشد گیاهان میزبان در طول تنش کم آبی را وابسته به بهبود تغذیه فسفر بیان نموده‌اند (جانسون و همل 1985). هیف‌های خارج ریشه‌ای، تنظیمات روزنه‌ای و به طور غیر مستقیم تغذیه فسفر و جذب آب را در ریشه‌های میکوریزی افزایش می‌دهند (رویزلازون و آزکن، 1995). قارچ از طریق انشعابات میسلیومی و ریسه‌ای خود سبب توسعه ریشه گیاه شده و از این طریق حجم قابل دسترس خاک گسترده‌تر می‌گردد. میسلیوم‌های قارچ از طرف دیگر با تولید آنزیم‌های فسفاتاز سبب تجزیه فسفات‌های آلی و با تولید عوامل اسیدی و کلات کننده‌ها سبب انحلال فسفات‌های معدنی (سوری و همکاران، 2011) می‌شود و بدین ترتیب موجب تبدیل فسفر غیر قابل جذب به فسفر فراهم و قابل جذب برای گیاه می‌گردد و بنابراین باعث افزایش جذب فسفر و بالا رفتن مقدار کل فسفر گیاه می‌شود.

در پژوهش حاضر مشخص شد با افزایش شدت تنش کم آبی میزان جذب روی در اندام هوایی افزایش و جذب عناصر مس، آهن و منگنز کاهش پیدا می‌کند (شکل های 4، 5 و6). مس و روی در جذب با هم رقابت داشته و سیستم جذب و انتقال آنها یکسان است. بین روی و آهن نیز به همین صورت اثر متقابل وجود دارد. ممکن است با افزایش جذب روی در اندام هوایی، جذب عناصر آهن و مس کاهش یابد (لئون و کوشین، 1991). وو و زو (2009) گزارش کردند با افزایش شدت تنش کم آبی جذب روی در برگ دانهال‌های نارنج سه برگ شده افزایش پیدا کرده است. آگ (2001) گزارش نمودند که با افزایش شدت تنش کم آبی در گیاهان ذرت میکوریزی و غیر میکوریزی غلظت آهن و روی افزایش داشته است. فابر و همکاران (1990) گزارش نمودند در گیاهان ذرت میکوریزی غلظت و جذب روی در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی بالاتر بوده است. در این پژوهش در تیمارهای قارچ و بدون قارچ با افزایش سطوح تنش کم آبی میزان جذب آهن، مس و منگنز کاهش و جذب روی افزایش یافت. با این وجود جذب عناصر یاد شده، در تیمارهای دارای قارچ نسبت به تیمارهای بدون قارچ بیشتر بوده است (شکل های 4، 5 و6). وو و زو (2009) بر روی نارنج سه برگ تلقیح شده با قارچ *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی نشان دادند که جذب آهن، مس و منگنز را در ریشه و برگ گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیر میکوریزی بوده است. محققین علت افزایش میزان جذب عناصر کم مصرف را پتانسیل ریداکس پایین‌تر در ریزوسفر ، افزایش ترشحات کلات کننده، و کاهش بیشتر pH (وانگ و همکاران 2007) در ریزوسفر گیاهان دارای قارچ نسبت به گیاهان بدون قارچ دانستند. کشت‌های گلخانه‌ای و آزمایشات مزرعه‌ای نشان داده‌اند که اثر قارچ‌ها میکوریزی بر جذب عناصر کم مصرف نسبت به عناصر پر مصرف بیشتر است (سنا و همکاران، 2002) که با نتایج این پژوهش بخصوص در مورد آهن و منگنز در مقایسه با فسفر مشهود است. اثر قارچ میکوریز منعکس کننده بازدهی قارچ بر رشد پایه‌ها در سیستم همزیستی است که به شرایط محیطی وابسته است که معمولاً در این شرایط اثر قارچ بیشتر نمایان می‌گردد (ال کراکی و ال رداد، 1997). کم آبی موجب کاهش تعداد انشعابات ریشه و آسیب بر شکل ریشه می‌شود. در نتیجه آن جذب عناصر غذایی توسط ریشه کاهش می‌یابد که سبب کاهش عملکرد گیاهان در شرایط تنش کم آبی می‌شود. قارچ‌های میکوریزی به دلیل داشتن هیف‌های با قطر کوچکتر از ریشه، در منافذ ریز خاک وارد شده و رطوبت و عناصر غذایی خاک را جذب می‌کنند (اسمیت و رد، 2008). قارچ‌های میکوریز سبب تغییر در شکل و حجم ریشه از دو جنبه می‌شوند 1- تغییر وضعیت تغذیه‌ای گیاه 2- تغییر در سطح ترکیبات هورمونی گیاه (یائو و همکاران، 2006). تغییر در انشعابات و حجم ریشه تحت تأثیر عناصر غذایی بخصوص فسفر قرار دارد (لوپز-بایسو و همکارن، 2003). از طرف دیگر این موضع اثبات شده است که تغییر در تعداد انشعابات ریشه در اثر

همزیستی قارچ میکوریز به علت تغییر در میزان هورمون‌های گیاهی از جمله ترکیبات پلی‌فنولیک که مانع اکسیداسیون اکسین می‌شوند است (پریز-پریز، 2007). تغییر در تعداد انشعابات ریشه مرکبات همزیست با قارچ میکوریز بیشتر به علت جذب عناصر غذایی است زیرا گیاهان مرکبات دارای ریشه‌های ضخیم با انشعابات کم می‌باشند بنابراین انشعابات ریزتر که توانایی جذب عناصر غذایی را دارند در این نوع از ریشه‌ها به تعداد کم وجود دارد (اسپیگل-روی و گلدسمیت، 1996) با کاهش ارتفاع، تعداد و سطح برگ و قطر ساقه، عملکرد ماده خشک گیاه نیز بطور معنی‌دار کاهش داشته است. از این جهت در شرایط شدید کم آبی اثر قارچ بر پارامترهای رشد گیاه و وابستگی گیاه به قارچ بیشتر مشهود است. محققین ازجمله آل‌کراکی و آل‌رداد (1997) بیان نموده‌اند که همزیستی میکوریزی در شرایط تنش کم آبی نسبت به شرایط آب مناسب اهمیت بیشتری دارد. همچنین در تحقیقات وو و همکاران (2008) و وو و زو (2009) بر روی مرکبات تلقیح شده با قارچ میکوریز در شرایط کم آبی، مشخص شد که قارچ‌های میکوریزی بر گیاهان مرکبات در شرایط تنش کم آبی و شرایط بدون تنش کم آبی اثر مثبت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

وزن ماده خشک و جذب عناصر غذایی پایه نارنج به جز روی به صورت معنی‌داری با افزایش دور آبیاری کاهش یافته است. در شرایط بدون تنش و تنش کم آبی، قارچ‌های میکوریز *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* بر درصد کلنیزاسیون ریشه، وزن ماده خشک اندام هوایی و ریشه، جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر، آهن، روی، منگنز و مس در اندام هوایی و ریشه اثرات مثبت داشته اند. نتایج نشان داد که قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌توانند با بهبود این پارامترها اثرات منفی تنش کم آبی را کاهش دهند.

جدول 1- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

خصوصیات خاک (واحد)		خصوصیات خاک (واحد)	
بافت	لوم رسی شنی	ماده آلی (درصد)	0/93
رطوبت ظرفیت مزرعه (%)	23/7	ظرفیت تبادل کاتیونی ($cmol+ kg^{-1}$)	24
رطوبت نقطه پژمردگی دائم (%)	9/83	فسفر محلول در بیکربنات سدیم ($mg\ kg^{-1}$)	9
پ‌هاش	7/96	مس قابل استخراج با دی.تی.پی.ا ($mg\ kg^{-1}$)	1/50
قابلیت هدایت الکتریکی ($dS\ m^{-1}$)	0/33	آهن قابل استخراج با دی. تی. پی. ا ($mg\ kg^{-1}$)	2/66
روی قابل استخراج با دی. تی. پی. ا ($mg\ kg^{-1}$)	0/97	منگنز قابل استخراج با دی. تی. پی. ا ($mg\ kg^{-1}$)	4/30

جدول 2 - تجزیه واریانس کلنیزاسیون ریشه و عملکرد ماده خشک اندام هوایی و ریشه پایه نارنج میکوریزی و غیر میکوریزی در شرایط تنش کم آبی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کلنیزاسیون ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه
تنش کم آبی	3	1349/04***	204/87***	56/48***
قارچ	2	13171/86***	82/45***	106/10***
تنش کم آبی x قارچ	6	338/28***	3/85ns	3/62ns
خطا	24	18/17	4/95	1/63
ضریب تغییرات	-	11/20	12/10	12/81

***، ** و * به ترتیب در سطح 0/1، 1 و 5 درصد معنی‌دار است. ns از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

جدول 3 - تجزیه واریانس نیتروژن، فسفر،آهن، منگنز، روی و مس جذب شده در اندام هوایی پایه نارنج میکوریزی و غیر میکوریزی در شرایط تنش کم آبی

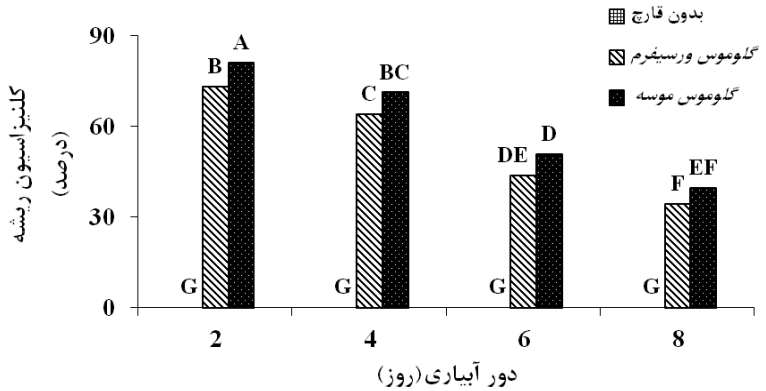
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		N	P	Fe	Mn	Zn	Cu
تنش کم آبی	3	128813/90***	357/75***	1/25***	2/92***	100954/27***	15004/07***
قارچ	2	41422/61***	178/84***	1/04***	0/94***	47626/55**	9742/52***
تنش کم آبی x قارچ	6	1426/54ns	4/63ns	0/16***	0/02*	3952/32ns	500/52ns
خطا	24	1778/56	7/02	0/028	0/0075	1629/67	251/97
ضریب تغییرات	-	11/94	10/42	12/22	6/97	10/16	9/21

***، ** و * به ترتیب در سطح 0/1، 1 و 5 درصد معنی‌دار است. ns از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

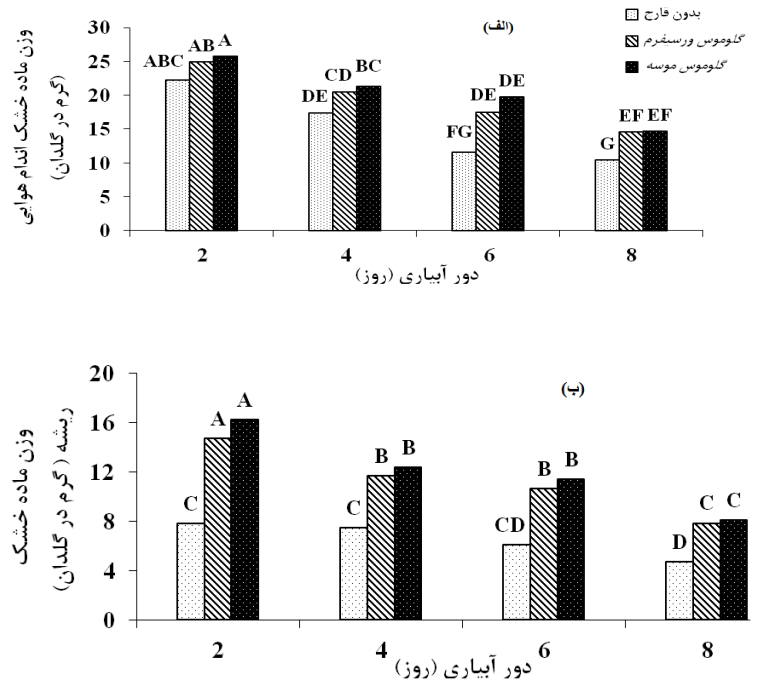
جدول 4 - تجزیه واریانس نیتروژن، فسفر، آهن، منگنز، روی و مس جذب شده در ریشه پایه نارنج میکوریزی و غیر میکوریزی در شرایط تنش کم آبی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		N	P	Fe	Mn	Zn	Cu
تنش کم آبی	3	16014/62***	63/22***	4/10***	0/76***	1/24***	162413/29***
قارچ	2	24167/47***	75/85***	6/47***	1/73***	1/66***	215164/61***
تنش کم آبی × قارچ	6	*1435/09	*3/16	***0/77	**0/068	***0/13	ns3638/89
خطا	24	289/45	1/07	0/07	0/015	0/011	1927/88
ضریب تغییرات	-	13/59	11/26	13/99	13/11	9/66	7/34

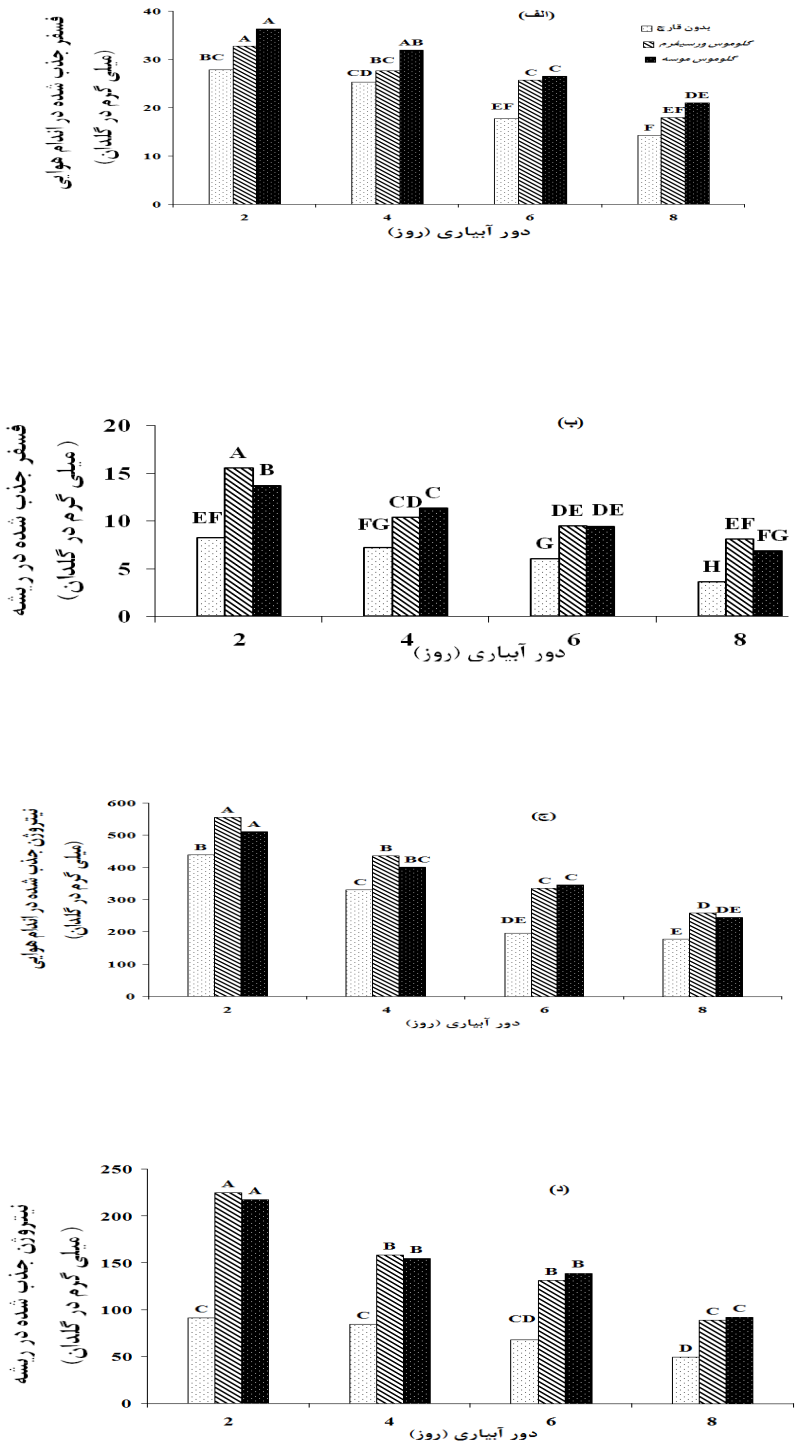
***، ** و * به ترتیب در سطح 0/1، 1 و 5 درصد معنی‌دار است. ns از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.



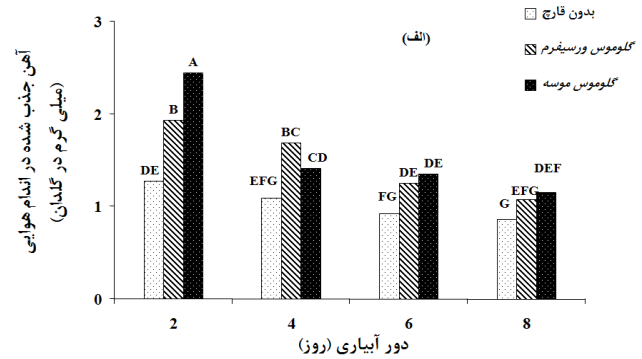
شکل 1- مقایسه میانگین درصد کلنیزاسیون ریشه در پایه نارنج تلقیح شده با قارچ *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی

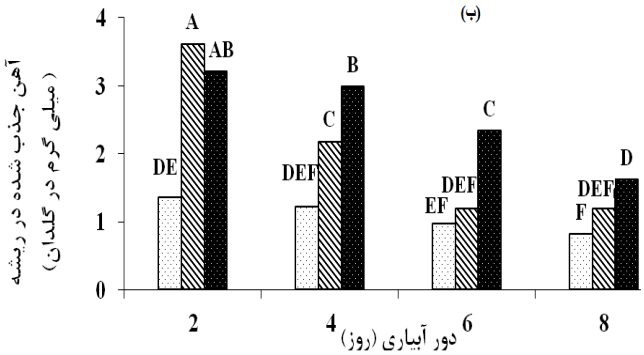


شکل 2- مقایسه میانگین وزن ماده خشک اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) در پایه نارنج تلقیح شده با قارچ *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی

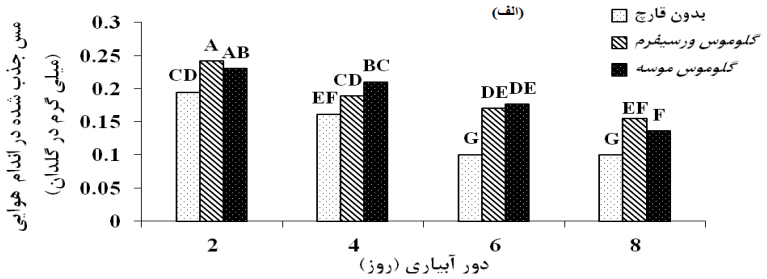


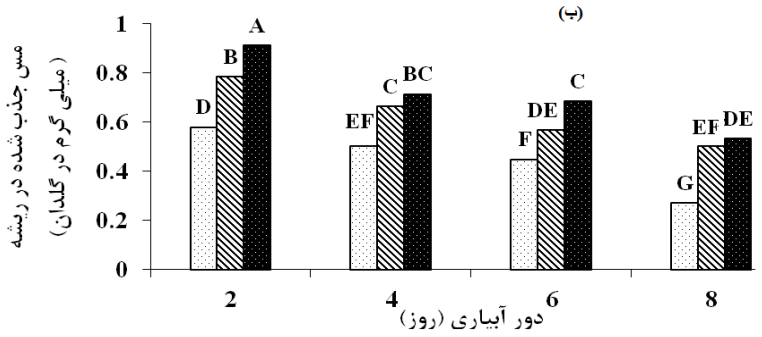
شکل 3- مقایسه میانگین فسفر جذب شده در اندام هوایی (الف)، ریشه (ب) نیتروژن جذب شده در اندام هوایی (ج) و ریشه (د) پایه نارنج تلقیح شده با قارچ *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی

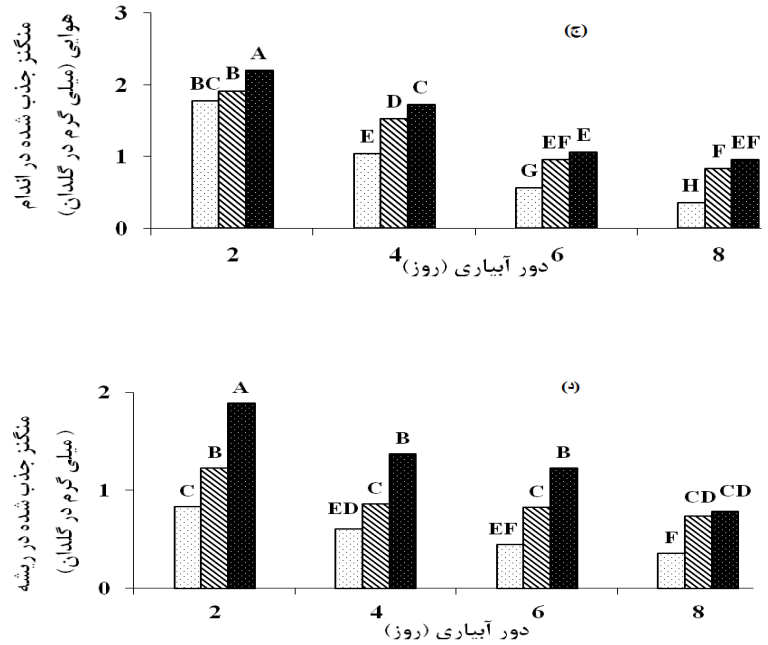




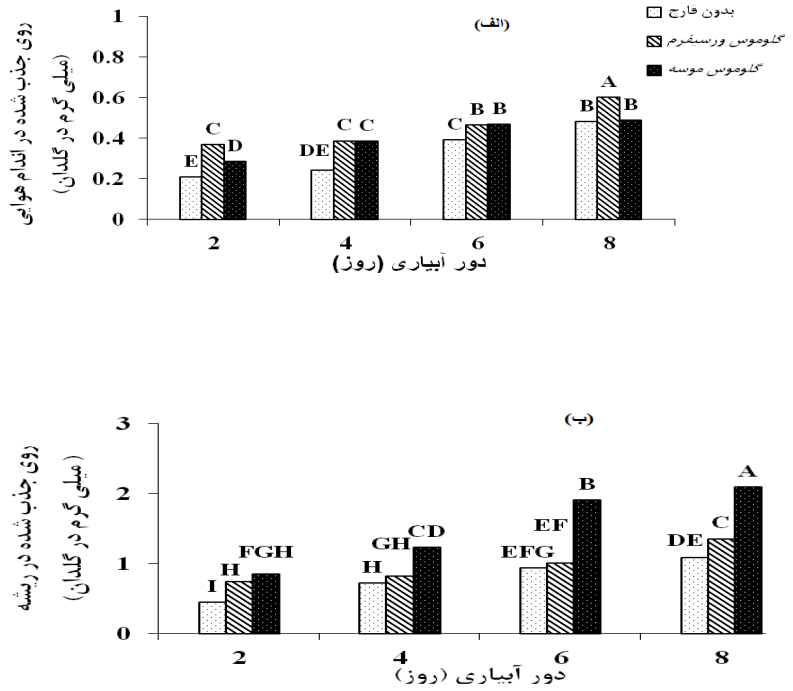
شکل 4- مقایسه میانگین آهن جذب شده در اندام هوایی (الف) و ریشه (ج) در پایه نارنج تلقیح شده با قارچ *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی







شکل 5- مقایسه میانگین مس جذب شده در اندام هوایی (الف)، ریشه (ب) منگنز جذب شده در اندام هوایی (ج) و ریشه (د) در پایه نارنج تلقیح شده با قارچ *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی



شکل 6- مقایسه میانگین روی جذب شده در اندام هوایی (الف)، ریشه (ب) پایه نارنج تلقیح شده با قارچ *گلوموس موسه* و *گلوموس ورسیفرم* در شرایط تنش کم آبی.

فهرست منابع:

1. امامی، ع. 1375. روش‌های تجزیه گیاه .جلد اول، نشر آموزش کشاورزی، کرج، 128 صفحه.
2. جیحونی، م. 1390. اصول تغذیه درختان مرکبات ایران. شرکت کشاورزی حاصل نوین، 44 صفحه.
3. رادنیا، ح. 1375. پایه‌های درختان میوه. نشر آموزش کشاورزی کرج، 673 صفحه.
4. زنگنه، س.، علیان، ی.م.، نجفی نیا،م.، کرمپور، ف. و قلعه دزدانی، ح.ا. 1384. معرفی گونه‌های جدیدی از قارچ‌های آربوسکولار-میکوریزا از ریزوسفر مرکبات ایران. رستنیها 6: 32-77.
5. Al Karaki, G.N. and A. Al-Raddad. 1997. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance. Mycorrhiza 7:83–88.
6. Alcamo, J., T. Henrichs and T. R.osch. 2000. World water in 2025-global modeling and scenario analysis for the world commission on water for the 21st century. center for environmental systems research, University of Kassel, Kurt Wolters Strasse 3, 34109 Kassel, Germany.
7. Auge R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular–arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11:3–42.
8. Bremner, J. M. 1996. Nitrogen-total. In: Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. Sparks, D. L. (Ed.). Soil Science Society of America. and American Society of Agronomy, Madison, WI. pp. 1085–1121.
9. Davies, F. S., and L. G. Albrigo. 1994. Citrus. In: Atherton, J., A. Rees, (Eds.), Crop Production Science in Horticulture, vol. 2. CAB International, Wallingford, UK.
10. Faber, B. A., R. J. Zakoski, R. G. Burau and K. Uriu. 1990. Zinc uptake by corn as affected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. Plant and Soil 129:121–130.
11. Graham, J. H. and J. P. Syvertsen. 1985. Host determinants of mycorrhizal dependency of citrus rootstock seedlings. New Phytologist 101:667-676
12. Haghighatnia H., H.A. Nadian and F. Rejali 2011. Effects of mycorrhizal colonization on growth, nutrients uptake and some other characteristics of Citrus volkameriana rootstock under drought stress. World Applied Sciences Journal 13 (5):1077-1084.
13. Hutton, R. J. 2004. Effects of cultural management and different irrigation regimes on tree growth, production, fruit quality and water relations of sweet orange *C. sinensis* (L.) Osbeck. PhD thesis, University of Sydney, Sydney, Australia.
14. Johnson, C. R. and R. L. Hummel. 1985. Influence of mycorrhizae and drought stress on growth of Poncirus × Citrus seedlings. Horticultural Science 20:754 –5.
15. Kormanik, P. P. and A. C. McGraw. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant root. In:Methods and principles of mycorrhizal reseach, ed. By Schenk N .C, The American Phytopathological Society, St. Paul 37-45.
16. Leon, V. and Kochain. 1991. Mechanisms of micronutrient uptake and translocation in plant. Pp. 229-285. In: Mortvelt, J. J., F. R. Cox, L. M. Shuman, and R. M. Welch (eds). Micronutrient in Agriculture. 2nd ed. Soil Science Society of America. Madison, Wl.
17. Lopez-Bucio, J., A. Cruz-Ramirez. L. Herrera-Estrella. 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. Current Opinion in Plant Biology 6:280–287.
18. Nadian, H., S. E. Smith, A. M. Alston and R. S. Murray. 1996. The effect of soil compaction on growth and P uptake by *Trifolium subterraneum*: interactions with mycorrhizal colonisation. Plant and Soil 182:39-49.
19. Perez-Perez, J.M., 2007. Hormone signaling and root development: an update on the latest Arabidopsis thaliana research. Funct. Plant Biolology 34:163–171.

20. Porcel, R., J. M. Barea, J. M. Ruiz-Lozano. 2003. Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. New Phytologist. 157: 135–43.
21. Ruiz-Lozano, J. M. and R. Azcon. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. Plant Physiology 95:472-478.
22. Sena, J. O. A., C. A. Labate and E. J. B. N. Cardoso. 2002. Micronutrient accumulation in mycorrhizal citrus under different phosphorus regimes. Acta Scientiarum 24:1265–1268.
23. Sepaskhah, A. R. and N.Yarami. 2009. Interaction effects of irrigation regime and salinity on flower yield and growth of saffron. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 84(2) :216-222.
24. Smakthin, V., C. Revenga and P. Doll. 2004. Taking into Account Environmental Water Requirements in Globalscale Water Resources Assessments. Comprehensive Asessment of Water Management in Agriculture Research Report 2, IWMI, Colombo, Sri Lanka.
25. Smith, S. E. and D. J. Read. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London.
26. Spiegel-Roy, P., E. E. Goldschmidt. 1996. Biology of Citrus. Cambridge University Press.
27. Suri, V. K., A. K. Choudhary, C. Girish, T. S. Verma, M. K. Gupta and N. Dutt. 2011. Improving phosphorus use through co-inoculation of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria in maize in an acidic Alfisol. Communications in Soil Science and Plant Analysis 42 (18): 2265-2273.
28. Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. Plant physiology (2nd ed.) Sinauer Associates. Inc. Publisher. Sunderland MA Chusetts. 757p.
29. Troehza loynachan, T. E. 2003. Endomycorrhizal fungi survival in continuous corn, soybean and fallow. Agronomy Journal. 95(1): 224-230.
30. Wang, M. Y., R. X. Xia, L. M. Hu, T. Dong and Q. S.Wu. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate iron deficient chlorosis in *Poncirus trifoliata* L. Raf under calcium bicarbonate stress. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82(5):776-780.
31. Wu, Q. S., Y. N. Zou, R. X. Xia, and M. Y. Wang. 2007. Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. Botanical Studies 48:147-154.
32. Wu, Q. S. and R. X. Xia and Y. N. Zou. 2006. Reactive oxygen metabolism in non-mycorrhizal citrus (*Poncirus trifoliata*) seedlings subjected to water stress. Journal of Plant Physiology 163:1101-1110.
33. Wu, Q. S. and Y .N. Zou. 2009. Mycorrhizal Influence on nutrient uptake of citrus exposed to drought stress. The Philippine Agricultural Scientist 92(1):33-38.
34. Wu, Q. S., R. X. Xia and Y. N. Zou. 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. European Journal of Soil Biology 44(1):122-128.
35. Wu, Q. S., R. X. Xia and Z. J. Hu. 2005. Effects of arbuscular mycorrhiza on drought tolerance of Poncirus trifoliata. Chinese Journal of Applied Ecology 16:459–63.
36. Wu, Q. S., Y. N. Zou, R. X Xia and M. Y. Wangi. 2009. Mycorrhiza has a direct effect on reactive oxygen metabolism of drought-stressed citrus. Soil, Environmental and Atmospheric Sciences 55(10):436–442.
37. Yao, Q., H. H. Zhu, J. Z. Chen. 2005. Growth responses and endogenous IAA and iPAs changes of litchi (Litchi chinensis Sonn.) seedlings induced by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation. Horticultural Science 105(1):145–151.

واکنش جامعه ماکروفون خاک به تغییر در مدیریت زراعی و نوع محصول در منطقه شیروان

قربانعلی رسام[1]*، افشین سلطانی، علیرضا دادخواه و اصغر خوشنود یزدی

استادیار دانشکده کشاورزی شیروان،دانشگاه فردوسی مشهد؛ rassam@ferdowsi.um.ac.ir

استاد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان؛ afsoltani@yahoo.com

استادیار دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه فردوسی مشهد؛ dadkhah@ferdowsi.um.ac.ir

عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه فردوسی مشهد؛ khoshnood@ferdowsi.um.ac.ir

چکیده

ماکروفون‌های ساکن در خاک از اجزای مهم تنوع‌زیستی خاک به‌شمار می‌روند. با هدف بررسی تأثیر نوع محصول و شیوه مدیریت زراعی بر جامعه ماکروفون خاک سه زیستگاه شامل مزارع یونجه، مزارع کم‌نهاده گندم و مزارع پرنهاده گندم مورد پیمایش قرار گرفت. برای هر زیستگاه شش واحد نمونه‌گیری منظور گردید. در هر واحد نمونه گیری ماکروفون‌های خاک با استفاده از تله‌های چاله‌ای جمع آوری و به تفکیک خانواده شمارش شدند. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آنالیزهای تقابل، تشابه و تجزیه به مولفه‌های اصلی انجام گرفت. نتایج آنالیز تقابل نشان داد که شاخص شانون در محصول یونجه (2/11) بیش از محصول گندم (1/88) می‌باشد. انجام آنالیز تشابه حاکی از اختلاف در ترکیب جامعه ماکروفون خاک دو محصول داشت به نحوی که ماکروفون های مفید شامل عنکبوتیان، سوسک زمینی و کرم‌های خاکی در محصول یونجه فراوان تر بودند. پایائی و تخریب کمتر محصول یونجه عامل اصلی این فراوانی تشخیص داده شد. در حالی که اختلاف محسوسی بین دو شیوه مدیریت کم‌نهاده و پرنهاده گندم از نظر شاخص‌های تنوع مشاهده نگردید با این وجود ترکیب متفاوتی از ماکروفون‌ها در دو شیوه مدیریتی شکل گرفت. گرایش ماکروفون‌های مفید خاک به سکونت در زیستگاه کم‌نهاده قابل درک بود. عمده اختلاف در ترکیب ماکروفون‌ها به عدم کاربرد علف‌کش‌ها و مصرف کمتر کودهای نیتروژنه در زیستگاه کم‌نهاده گندم نسبت داده شد. به طور کلی نتیجه گرفته شد که بهبود تنوع‌زیستی ماکروفون های خاک نیازمند بکارگیری مدیریت کم‌نهاده و وارد کردن بقولات در برنامه تناوب زراعی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ماکروفون خاک، تنوع زیستی، یونجه، گندم کم نهاده، گندم پرنهاده.

مقدمه

مجموعه‌ای از انواع موجودات در بستری از مواد آلی و معدنی بخش زنده خاک را تشکیل می‌دهند. در بسیاری از زیستگاه‌ها خاک میزبان متنوع‌ترین بخش زیستی اکوسیستم می‌باشد (بورسارد و همکاران، 2007). بیش از یک‌چهارم موجودات زنده زمین به طور قطع ساکن خاک یا بقایای سطح خاک هستند (دکائنز و ماکروکروفون‌ها شبکه غذایی بسیار پیچیده خاک را تشکیل می‌دهند (باریئوس، 2007).

جامعه ماکروفون خاک متشکل از بی‌مهرگانی بوده که بخش مهمی از چرخه زندگی خود را در خاک یا داخل بقایای سطحی می‌گذرانند (باریئوس، 2007). این بی‌مهرگان کارکردهای بوم‌شناختی متعددی را عرضه

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: شیروان، کیلومتر 10 جاده بجنورد، دانشکده کشاورزی، صندوق پستی 147

* دریافت: 91/9/20 و پذیرش: 92/2/5

همکاران، 2006). میکروفلورها، مزوفون‌ها و خاکدانه‌ها، نفوذپذیری و ماندگاری آب خاک، تجزیه اولیه و توزیع مجدد بقایای آلی در پروفیل خاک، چرخش عناصر غذایی، کنترل آفات و علف‌های هرز، بهبود رشد و عملکرد گیاه، تجزیه آلاینده‌ها، پراکنش بذور گیاهان توسط جامعه ماکروفون خاک باعث شده است تا در تنوع‌زیستی خاک توجه زیادی را به خود معطوف نمایند (لاول و همکاران، 2006؛ باردجت، 2002). در سامانه‌های کشاورزی، ماکروفون‌های مفید گونه‌هایی را شامل می‌شوند که در افزایش عملکرد محصول و ثبات اکولوژیکی سامانه نقش دارند. گروه شکارگران و ریزه‌خواران به لحاظ فراوانی، تنوع و کارکردهای بوم‌شناختی از مهم‌ترین ماکروفون‌های مفید خاک به‌شمار می‌روند. پویایی کم‌تر جمعیت شکارگران در قیاس با علف‌خواران سبب می‌شود تا این گونه‌ها که در رأس هرم غذایی جای دارند متحمل بیش‌ترین آسیب ناشی از تخریب زیستگاه شوند (وودکوک و پیویل، 2010). مهم‌ترین گروه‌های ماکروفون شکارگر ساکن خاک عنکبوتیان، سوسک‌های زمینی، سوسک‌های سرگردان و صدپایان می‌باشند. ریزه‌خواران دیگر گروه کارکردی مهم اکوسیستم به شمار می‌روند. این موجودات با تغذیه بر روی بقایای تجزیه نشده گیاهان و جانوران سبب خُرد کردن و توزیع مجدد آن‌ها می‌شوند. این عمل منجربه افزایش دسترسی میکروفون و میکروفلور تجزیه‌کننده خاک به بقایای آلی می‌شود (باریوس، 2007). بدین ترتیب ریزه‌خواران در پویایی و چرخش عناصر غذایی در اکوسیستم نقش به‌سزایی ایفا می‌نمایند. مهم‌ترین ریزه‌خوار خاک کرم‌های خاکی و خرخاکی‌ها هستند.

کاربری اراضی، نوع محصول زراعی، نوع مدیریت زارعی، خصوصیات خرداقلیم، حواشی مزارع و نوع چشم انداز کشاورزی از عمده ترین عوامل مؤثر بر تنوع زیستی ماکروفون‌های خاک به شمار می‌آیند (وئیبول و همکاران، 2003). واکنش ماکروفون‌ها به این عوامل بسته به صفات آنها شامل توان پراکنش، رژیم غذایی، نحوه زمستان گذرانی، سرعت زایش و طول عمر بسیار متفاوت است (کلوس و همکاران، 2005). به طور کلی، عوامل کنترل کننده جمعیت ماکروفون‌ها همچون سایر اجزای شبکه غذایی خاک شامل شکارگری (نیروهای بالا به پایین) و فراهمی منابع غذایی (نیروهای پایین به بالا) می‌باشد.

واکنش سریع بی‌مهرگان به تغییرات زیستگاه سبب شده است تا در قیاس با گیاهان شاخص‌های حساس‌تری برای ارزیابی اثرات محیطی قلمداد شوند (سیمور و دین، 1999). استفاده از شاخص‌های غنا و تنوع گونه‌ای می‌نمایند. بهبود ساختمان خاک، تبادل گازها، تشکیل رایج‌ترین شیوه بیان تنوع‌زیستی موجودات زنده است. با این حال فهرست‌برداری در سطح گونه، به‌خصوص در مورد بی‌مهرگان نیازمند صرف زمان، هزینه زیاد و دسترسی به متخصصین رده‌بندی حرفه‌ای است (بیاجینی و همکاران، 2007). یکی از راهکارهایی که برای رفع این محدودیت پیشنهاد شده است مطالعه تاکسون‌های بالاتر از گونه (جنس، خانواده و راسته) می‌باشد (ایدواردو و گریل، 2002).

مطالعات متعددی در سطح جهان در خصوص تنوع ماکروفون خاک انجام شده است. دیئکوتر و همکاران (2010) در بررسی تأثیر نوع مدیریت گندم بر جمعیت بندپایان خاک گزارش کردند که با افزیش ورود نهاده‌های کشاورزی همچون کودهای شیمیایی و علف‌کش‌ها از فراوانی بندپایان کاسته می‌شود. سیلیشی و مافونگویا (2006) بیان داشتند که وارد کردن بقولات در تناوب زراعی ذرت با افزایش تنوع ماکروفون خاک و عملکرد ذرت همراه است.

در ایران مطالعات بسیار محدودی در خصوص تنوع ماکروفون‌های خاک به‌انجام رسیده است. تحقیق حاضر از اولین مطالعات در زمینه ارزیابی و مقایسه همزمان تنوع ماکروفون‌ها در طیفی از زیستگاه‌های به‌شمار می‌رود. بخش اعظم تحقیق بر تنوع کارکردی یا ماکروفون‌های مهم اکولوژیکی شامل عنکبوتیان، کارابیده، کرم‌های خاکی، خرخاکی‌ها و مورچه‌ها متمرکز شده است.

مواد و روش ها

معرفی زیستگاه‌ها

تحقیق حاضر در سال 1388 در شهرستان شیروان واقع در استان خراسان شمالی انجام گرفت. برای انجام مطالعه دو نوع محصول (گندم و یونجه) و دو نوع مدیریت زراعی مزارع گندم پرنهاده و گندم کم‌نهاده در نظر گرفته شد. مدیریت کم‌نهاده و پرنهاده گندم حداقل برای مدت 10 سال در مزارع انتخابی اعمال گردیده بود. برای هر زیستگاه شش واحد نمونه‌گیری (تکرار) انتخاب گردید. در گندم واحدهای نمونه‌گیری مزارعی بودند به‌جز اختلاف در نوع مدیریت زراعی در سایر خصوصیات نظیر مساحت زمین، روش آبیاری، تاریخ و تراکم کاشت مشابه بودند. ویژگی‌های عمومی مزارع با مدیریت کم‌نهاده شامل عدم استفاده از علف کش‌ها و مصرف اندک عناصر غذایی نیتروژن و فسفر به ترتیب در مقادیر متوسط 54 و 35 کیلوگرم در هکتار به‌همراه مصرف کودهای دامی در مقادیر نسبتاً زیاد می باشد. برعکس در مزارع پرنهاده گندم، برای کنترل علف‌های هرز عمدتاً از علف‌کش

توفوردی در اوایل بهار استفاده می‌شود و برای حاصلخیزی خاک به‌طور متوسط مقدار 153 کیلوگرم نیتروژن و 89 کیلوگرم فسفر به خاک افزوده می‌شود. واحدهای نمونه‌گیری انتخابی برای زیستگاه یونجه نیز مزارعی بودند که به شیوه کاملاً سنتی اداره می‌شدند. در این مزارع هیچ‌گونه مواد شیمیایی همچون کودهای معدنی و علف کش‌ها مورد استفاده قرار نگرفته و عملیات برداشت یونجه به کمک دست انجام می‌گرفت. واحدهای نمونه‌گیری انتخابی زیستگاه یونجه محدود به مزارعی گردید که از زمان کاشت آن‌ها 4-3 سال گذشته بود. مزارع انتخابی بین 1/2 -1 هکتار مساحت داشتند و برداشت علوفه در مزارع معمولاً با دست یا گاهاً به کمک مؤثر انجام می‌گرفت. برداشت علوفه از 30-15 اردیبهشت شروع و به فاصله هر 30 تا 45 روز تا کند شدن رشد گیاه در اواسط مهرماه ادامه می‌یابد. کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی در هیچ‌یک از مزارع یونجه گزارش نگردید. در مزارع یونجه با هدف تقویت خاک در زمان آماده سازی زمین از کود دامی استفاده می‌شود.

روش نمونه‌گیری

برای نمونه‌گیری ماکروفون‌های خاک از روش تله‌های چاله‌ای استفاده گردید. تله‌ها عبارت از ظروف پلاستیکی سفید رنگ با قطر دهنه 14 سانتیمتر بودند که با 15 میلی لیتر از محلول 50 درصد اتیلن گلیکول به عنوان نگهدارنده پر شدند. در هر واحد نمونه‌گیری (مزرعه یا پلات) نواری[1] متشکل از 5 تله به فاصله 5 متر از یکدیگر کار گذاشته شد. تله‌ها به مدت 14 روز از 23 اردیبهشت تا 4 خرداد ماده 1388 رها شدند. بعد از گذشت 14 روز تله‌ها از خاک خارج و ماکروفون‌های جمع آوری شده بر اساس خانواده تفکیک و شمارش شدند. از آنجا که برخی از تله‌های داخل مزارع در اثر ورود آب آبیاری از بین رفته بودند تعداد تله‌ها به سه عدد برای هر واحد نمونه‌گیری تقلیل یافت. داده‌های به‌دست آمده برای سه تله داخل هر واحد نمونه‌گیری به تفکیک خانواده‌ها با یکدیگر جمع و به عنوان داده‌نهایی هر واحد نمونه‌گیری در نظر گرفته شد (تربراک و اسمیلائور، 1998).

در هر واحد نمونه‌گیری غنای خانواده (غنای تاکسونومیک)، شاخص تنوع شانون و فراوانی کل محاسبه گردید. تعداد خانواده‌های ثبت شده در هر واحد نمونه‌گیری معادل غنای تاکسونومیک منظور گردید. برای محاسبه شاخص تنوع شانون (H) از رابطه زیر استفاده گردید:

$$H = \sum_{i=1}^{s}\left(\frac{n_i}{N}\right)\left(Log_2 \frac{n_i}{N}\right)$$

که در آن N: تعداد کل افراد در واحد نمونه‌گیری و n_i: تعداد افراد خانواده i ام در واحد نمونه‌گیری است. فراوانی کل ماکروفون‌ها در هر واحد نمونه‌گیری نیز با جمع زدن کل افراد جمع‌آوری شده از سه تله مستقر شده در هر واحد تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

به کمک دو مقایسه مستقل از پیش تعریف شده زیر و بکارگیری آنالیز تقابل، تاثیر تیمارهایی شامل (1) نوع محصول و (2) شیوه مدیریت زراعی گندم بر ماکروفون‌های خاک مورد ارزیابی قرار گرفت:

(1) زیستگاه گندم کم‌نهاده و گندم پرنهاده در مقابل زیستگاه یونجه (محصول گندم در مقابل محصول یونجه).

(2) زیستگاه گندم کم‌نهاده در مقابل زیستگاه گندم پرنهاده (مدیریت کم‌نهاده گندم در مقابل مدیریت پرنهاده گندم).

غنای تاکسونومیک (تعداد خانواده ماکروفون)، فراوانی کل ماکروفون‌ها و شاخص تنوع شانون وارد آنالیز تقابل شدند.

الگوی کلی پراکنش خانواده‌های بزرگ به کمک روش آنالیز تطبیقی نااریب[2] (DCA) نشان داد که طول گرادیان محور اول و دوم DCA در هر سه تیمار کمتر از 3 می‌باشد. این نتایج مبیّن واکنش خطی جامعه ماکروفون به تیمارهای مورد نظر است. بنابراین برای تعیین رابطه بین تیمارها و جامعه ماکروفون از روش تجزیه به مولفه‌های اصلی[3] (PCA) استفاده گردید (تربراک و اسمیلائور، 1998).

از آنجا که امکان آزمون مستقیم نتایج PCA به لحاظ آماری فراهم نیست؛ بنابراین با توجه به ماهیت داده‌ها برای تعیین وجود اختلاف در ترکیب جامعه ماکروفون‌ها بین دو گروه در هر یک از مقایسات مذکور از آنالیز تشابه[4] (ANOSIM) استفاده شد (لجندر و لجندر، 1998). آنالیز تشابه در حقیقت یک نوع آنالیز تک عاملی واریانس بر پایه داده‌های چند متغیره است. در ANOSIM تشابه داخل گروهی نسبت به تشابه بین‌گروهی بر اساس ضریب عدم تشابه بری-کورتیس[5] مقایسه و آماره‌ای بنام R

1. transect

2. Detrended Correspondence Analysis
3. Principal Component Analysis
4. Analysis of similarities
5. Bray-Curtis

محاسبه می‌شود. مقدار R بین 0 تا 1 متغیر است. R= 1 نشان می‌دهد که شباهت تمام نمونه‌های (تکرارهای) داخل یک گروه به یکدیگر بیش از شباهت آن‌ها با نمونه‌های سایر گروه‌ها است و R مساوی صفر نشان از عدم وجود اختلاف در ترکیب جامعه ماکروفون بین گروه‌های مورد بررسی می‌باشد. معنی‌داری R براساس نمونه‌های تبدیل تصادفی (با 1000 تبدیل) تعیین می‌شود (کلارک، 1993).

در تمامی آنالیزهای آماری به سبب تشابه کارکردی و تفسیر بهتر نتایج، دو خانواده جمع‌آوری شده عنکبوت‌ها به عنوان یک گروه واحد تحت عنوان عنکبوتیان در آنالیزها وارد شدند. علاوه بر این قبل از آنالیزهای چند متغیره PCA و ANOSIM خانواده‌هایی با فراوانی کمتر از یک درصد (خانواده اتفاقی) در مجموعه داده‌ها از آنالیز حذف شدند؛ چون خانواده‌های اتفاقی و نادر به‌طور غیرآماری چنین آنالیزهایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (تربراک و اسمیلائور، 1998). نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف[1] تعیین و هر جا نیاز بود از تبدیل لگاریتمی در پایه 10 برای نرمال‌سازی داده‌ها و تحقق فرضیات آزمون پارامتری استفاده گردید. برای انجام آنالیز تقابل و تجزیه واریانس آشیانه‌ای از نرم‌افزار SAS رویه GLM و انجام DCA، PCA و ANOSIM از نرم‌افزار CANOCO و افزونه‌های آن استفاده گردید (تربراک و اسمیلائور، 1998).

نتایج

تأثیر نوع محصول

آنالیز تقابل نشان داد که در مزارع یونجه نسبت به مزارع گندم متوسط فراوانی کل (512 در مقابل 393/42 ماکروفون) و شاخص شانون (2/11 در مقابل 1/88) از افزایش معنی‌داری برخوردار بود (جدول 1). اختلاف معنی‌داری در غنای تاکسونومیک بین یونجه و گندم دیده نشد (14/17 در مقابل 13/25 خانواده).

آنالیز تقابل حاکی از تأثیر متفاوت نوع محصول زراعی بر خانواده‌های ماکروفون بود. در حالی‌که محصول گندم نسبت به یونجه سبب افزایش معنی‌دار در فراوانی مورچه (166 در مقابل 123/33) و خرخاکی (34/7 در مقابل 10) گردید ولی همزمان کاهشی معنی‌دار در فراوانی عنکبوتیان (63/9 در مقابل 135/83)، سوسک‌زمینی (41/9 در مقابل 101/17)، سوسک پشتک‌زن (5/25 در مقابل 9/67)، کرم خاکی (0/58 در مقابل 4/67)، سوسک مرده‌خوار (16/2 در مقابل 36/32)، سوسک سرگین‌خوار (6 در مقابل 15/5) و سوسک‌سیاه (21/5 در مقابل 37/83) اتفاق افتاد (جدول1). فراوانی سیرسیرک‌ها (27/8 در گندم در مقابل 22/1 در یونجه) به تغییر محصول واکنش قابل ملاحظه‌ای نشان نداد (جدول 1).

آنالیز تشابه نشان داد که ترکیب جامعه ماکروفون یونجه متفاوت از گندم می‌باشد (R=0/85، P=0/0001). این ترکیب متفاوت در PCA نیز به تصویر کشیده شد (شکل1). محور اول و دوم PCA به ترتیب 55/9 و 21/7 درصد و در مجموع 77/7 درصد از کل تغییرات را در داده‌های خانواده تشریح نمودند. تمامی مزارع یونجه با فاصله گرفتن از مزارع گندم در سمت چپ محور اول PCA قرار گرفتند (ناحیه 1 در شکل 1- الف). ملاحظه می‌گردد که ترکیب جامعه ماکروفون‌ها بین مزارع گندم به دلیل تفاوت در نوع مدیریت زراعی در قیاس با مزارع یونجه از تشابه کمتری برخوردار است؛ به نحوی که این مزارع در سه قسمت از فضای دو بعدی PCA پراکنده شده‌اند. با این وجود نوعی همپوشانی بین چهار مزرعه گندم (ناحیه 2 شکل 1- الف) دیده می‌شود که مسبب بخش عمده‌ای از اختلاف بین ترکیب جامعه یونجه و گندم می‌باشد. ماکروفون‌های مرتبط با زیستگاه گندم شامل خرخاکی، سیرسیرک و مورچه بودند (شکل 1- ب). سوسک‌سیاه، عنکبوتیان، سوسک مرده‌خوار، سوسک سرگین‌خوار، سوسک پشتک‌زن و سوسک‌زمینی ماکروفون‌هایی بودند که برای سکونت زیستگاه یونجه را انتخاب نموده‌اند (شکل 1- ب).

تأثیر نوع مدیریت

اگرچه تغییر شیوه مدیریت از نظام پرنهاده به نظام کم‌نهاده در سامانه‌های گندم سبب افزایش تعداد خانواده‌ها (از 12/83 به 13/67) و متوسط فراوانی کل (از 355/5 به 431/33 ماکروفون) و کاهش شاخص شانون (از 1/89 به 1/88)، شاخص سیمپسون (از 0/78 به 0/76) و یکنواختی (از 0/74 به 0/72) گردید ولی چنین تغییر مدیریتی از نظر آماری فقط برای متوسط فراوانی کل معنی‌دار بود (جدول 1).

در سطح خانواده‌های اصلی ماکروفون تغییر مدیریت نظام از پرنهاده به کم‌نهاده با افزایش قابل ملاحظه فراوانی عنکبوتیان (از 38/66 به 898/17)، مورچه (از 141/5 به 190/67)، سوسک مرده‌خوار (از 9 به 23/33) و سوسک‌سرگین‌خوار (از 3/5 به 8/5) همراه گردید (جدول 1). با این وجود چنین تغییر مدیریتی سبب کاهش معنی‌دار سوسک‌زمینی (59/67 در مقابل 24/17) و سیرسیرک (38/67 در مقابل 16/83) گردید (جدول 1). فراوانی خرخاکی (36 در کم‌نهاده در مقابل 33/3

[1] Kolmogorov-Smirnov

در پرنهاده) اختلاف معنی‌داری بین دو نظام نشان نداد (جدول 1).

اختلاف معنی‌داری در ترکیب جامعه ماکروفون بین دو نوع مدیریت زراعی دیده شد (R=0/97، P=0/001). محور اول و دوم PCA به ترتیب 50/9 و 38/1 درصد و در مجموع 88/9 درصد از کل تغییرات را در داده‌های خانواده تشریح نمودند. مزارع پرنهاده به طور کامل در سمت راست محور اول و به استثنای یک مزرعه تماماً در قسمت تحتانی محور دوم جای گرفتند (شکل 2- الف). ترکیب بسیار مشابه ماکروفون‌های چهار مزرعه پرنهاده باعث مجتمع شدن و همپوشانی آن‌ها در یک نقطه گردید (ناحیه 1 شکل 2- الف). پراکندگی مزارع کم‌نهاده در فضای دوبعدی PCA به مراتب بیش از مزارع پرنهاده بود. چهار مزرعه نزدیک به یکدیگر در سمت چپ محور اول و قسمت تحتانی محور دوم قرار گرفتند (ناحیه 2 شکل 2- الف). دو مزرعه باقی‌مانده در قسمت فوقانی محور دوم و جهت چپ محور اول دیده می‌شوند. این نوع توزیع حاکی از تغییرپذیری بیشتر ترکیب جامعه ماکروفون بین مزارع کم‌نهاده در قیاس با مدیریت پرنهاده است که ترکیب یکنواخت‌تری را بین مزارع آن‌ها شاهد هستیم. ماکروفون‌های بیشتری با مدیریت کم‌نهاده در ارتباط بودند؛ به‌نحوی‌که فقط سوسک‌زمینی و سیرسیرک به مدیریت پرنهاده وابستگی نشان دادند (شکل 2- ب). عنکبوتیان، سوسک مرده‌خوار، مورچه، سوسک‌سیاه و سوسک سرگین‌خوار حداکثر ارتباط را با مدیریت کم‌نهاده نشان دادند (شکل 2- ب).

بحث

در تمامی زیستگاه‌ها فراوان‌ترین گروه ماکروفون را مورچه‌ها تشکیل دادند. از ویژگی‌های بارز در رفتار مورچه‌ها زندگی اجتماعی این حشرات می‌باشد. آن‌ها غالباً به شکل کُلنی ظاهر می‌شوند و بنابراین در بیشتر زیستگاه‌ها بخش قابل‌توجهی از ماکروفون‌های جمع‌آوری شده در تله‌های چاله‌ای را تشکیل می‌دهند (بریوالت و همکاران، 2007).

غنای خانواده در دو محصول یونجه و گندم مشابه بود. در مطالعات تنوع زیستی که ارزیابی غنا و تنوع به بالاتر از سطح گونه برای مثال سطح خانواده یا راسته ارتقاء می‌یابد به دلیل گسترده شدن سطح تاکسونومیک از شدت تغییرات غنا کاسته خواهد شد. بدین لحاظ اختلاف در غنای تاکسونومیک (تعداد خانواده) زیستگاه‌هایی با کاربری مشابه (در اینجا کشاورزی) مشهود نخواهد بود (بیاجینی و همکاران، 2007).

در زیستگاه یونجه ترکیب متمایزی از جامعه ماکروفون در قیاس با زیستگاه گندم بدست آمد. عنکبوتیان، سوسک‌زمینی، کرم‌خاکی و سوسک سرگین‌خوار ماکروفون‌های مهم مرتبط با زیستگاه یونجه بودند. علت چنین ارتباطی را باید در مشخصه‌های خاص حاکم در زیستگاه یونجه و نحوه واکنش ماکروفون‌ها به این خصوصیات جستجو کرد. عدم انجام عملیات مداوم خاک‌ورزی در مزارع یونجه سبب حداقل تخریب آن‌ها نسبت به مزراع یک‌ساله می‌شود. پوشیده بودن دائمی سطح خاک مزارع یونجه از یک‌سو از نوسانات حرارتی و رطوبتی خاک جلوگیری می‌کند و از سویی دیگر سبب فراهمی مکان‌های زمستان‌گذرانی برای ماکروفون‌ها می‌شود. در این زیستگاه کود و سموم شیمیایی استفاده نمی‌شود و تنها نهاده بیرونی کودهای دامی پوسیده و در مواردی کود حیوانی تازه می‌باشد. مجموع این ویژگی‌ها شکل‌گیری زیستگاهی پایا با محل‌های زمستان‌گذرانی فراوان و عدم آلودگی به مواد شیمیایی در مقایسه با زیستگاه گندم است که می‌تواند به تجمع متفاوتی از ماکروفون‌ها بین دو زیستگاه بیانجامد. ویژگی‌های خُردزیستگاه[1] بر جمعیت عنکبوت‌ها و سوسک‌های زمینی تأثیر زیادی بر جای می‌گذارد و در مواردی تأثیرش به مراتب بیش از فراهمی طعمه گزارش شده است (اسکلهورن و سورک، 1997). این دو ماکروفون حساسیت زیادی به عملیات شخم نشان می‌دهند و وجود محل‌های زمستان‌گذران برای کلونی کردن مزارع در سال بعد اهمیت بسزایی در تجمع آن‌ها ایفا می‌کند (ماداسلئی و همکاران، 2002). در خصوص فراوانی کرم‌های خاکی در زیستگاه یونجه وابستگی آن‌ها به وجود محیطی مرطوب و بدون نوسان مطرح است. علاوه بر این کرم‌های خاکی هم به واسطه جثه درشت خود به عملیات شخم واکنش منفی نشان می‌دهند (کلادیکو، 2001). با عنایت به ویژگی‌های برشمرده برای مزارع یونجه افزایش جمعیت عنکبوتیان، سوسک‌زمینی و کرم‌های خاکی در این زیستگاه طبیعی است. مورچه‌ها و سوسک‌های زمینی از عمده‌ترین شکارگران بذر در اگرواکوسیستم‌ها محسوب می‌شوند (هونک و همکاران، 2003). این نیاز غذایی مشترک می‌تواند سبب تشدید رقابت بین این دو گروه شود و جمعیت آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. به‌علاوه سوسک‌زمینی از مورچه به عنوان طعمه استفاده می‌کند. در مطالعه حاضر همبستگی منفی بین مورچه‌ها و سوسک‌های زمینی در منطقه مورد مطالعه دیده شد. خرخاکی‌ها از ارتباط بیشتری با مزارع گندم

[1] Micro-site

برخـوردار بودند خرخاکی سازگار به مکان‌های سایه‌دار و خنک هستند. یکی از علل فراوانی بیشتر آن‌ها در اکوسیستم‌های جنگلی در قیاس با اکوسیستم‌های زراعی را باید در همین راستا ارزیابی نمود (پالئولتی و هاسل، 1999). زیاد بودن ارتفاع بوته‌های گندم نسبت به یونجه توانسته است شرایط سایه‌دار و خنک را برای این ماکروفون فراهم نماید. بنابراین با وجود دسترسی بیشتر خرخاکی‌ها به منابع غذایی شامل بقایای گیاهی انباشتی در مزارع یونجه شرایط خُرداقلیم[1] عامل تعیین کننده‌تری بر جمیعت این ماکروفون بوده است.

تغییر شیوه مدیریت از نظام پرنهاده به نظام کم‌نهاده تأثیری بر غنا و شاخص‌های تنوع برجای نگذاشت. تشابه در تنوع ماکروفون‌ها در نظام‌های رایج و آلی که نوع محصول زراعی آن‌ها یکسان می‌باشد پیش از این نیز گزارش شده است (ملنیچوک و همکاران، 2003). عدم کاربرد حشره‌کش‌ها برای چندین سال متوالی در نظام رایج از جمله دلایل بروز این پدیده ذکر شده است (ملنیچوک و همکاران، 2003). به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر نیز مشابه بودن نوع محصول در دو نظام و تا حدی تشابه برخی شیوه‌های مدیریتی هم‌چون عدم مصرف حشره‌کش‌ها در نظام پرنهاده و مصرف کودهای معدنی در هر دو سیستم مانع از بروز اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های تنوع گردیده است. با همه این تفاسیر شاخص‌های تنوع فقط قادر به بازتاب بخشی از پیچیدگی‌های جوامع زنده هستند بدون این‌که اطلاعاتی در خصوص تغییرات ترکیب گونه‌ای ارائه دهند (گوبی و فونتانتو، 2008). روش‌های آماری چند متغیره به عنوان ابزاری کارگشا می‌توانند این خلأ را پوشش دهند. در مطالعه حاضر نیز بکارگیری دو روش چند متغیره ANOSIM و PCA منجربه درک تفاوت در ترکیب جامعه ماکروفون بین دو نظام گردید.

مشخصه بارز مدیریتی در نظام کم‌نهاده عدم کاربرد علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز است. پیامد قطعی مصرف علف‌کش‌ها کاهش تنوع گیاهی و چیره شدن چند گونه گیاهی مقاوم به علف‌کش می‌باشد (لیجئر و همکاران، 2005). بنابراین در دو نظام مبتنی بر مصرف و عدم مصرف علف‌کش‌ها آرایش و فراوانی متفاوتی از ماکروفون‌ها را شاهد خواهیم بود. چنین انتظاری در مطالعه حاضر و با تفاوت در ترکیب جامعه ماکروفون بین دو نظام کم‌نهاده و پرنهاده محقق شد. مورچه‌ها و عنکبوت‌ها در مزارع کم‌نهاده گندم از فراوانی بیشتری در قیاس با مزارع پرنهاده برخوردار بودند. مورچه‌ها از حشرات همه‌چیزخوار به‌شمار می‌روند ولی در اگرواکوسیستم‌ها عمدتاً از بذور و شهد گیاهی تغذیه می‌کنند. بنابراین با افزایش تنوع علف‌های هرز و فراهمی انواعی از بذور گیاهی به سوی مزرعه کشاورزی متمایل می‌شوند (رید و آندرسون، 2000). کاهش ماکروفون‌های رقیب نظیر سوسک‌های زمینی نیز این فراوانی را تشدید می‌کند. تراکم بیشتر علف‌های هرز سبب فراهمی پناهگاه بیشتر و تنوع طعمه برای عنکبوت‌ها خواهد شد (هاروود و همکاران، 2001). در این راستا اسکلهورن و سورک (1997) نیز طی مطالعه‌ای گزارش کردند علیرغم اینکه در مزارع تک‌کشتی کلم طعمه بیشتری برای عنکبوت‌ها یافت می‌شد ولی جمعیت آنها کم‌تر از کشت مخلوط کلم و علف‌هرز بود.

نتیجه‌گیری

تنوع تاکسونومیک و کارکردی در مزارع یونجـه نسبت به گندم در وضعیت مطلوب‌تری قرار داشت. بهبود خصوصیات فیزیکی خاک و فراهم شدن زیستگاهی پایا با حداقل تخریب در این افـزایش تنـوع مـؤثر بـوده اسـت. اگرچه تنوع تاکسونومیک با اعمال مدیریت کم‌نهاده تغییـر محسوسی نشان نداد ولی بکارگیری این نوع مـدیریت در مقایسه با مدیریت پرنهاده سبب افزایش تنوع کـارکردی و فزونی ماکروفون‌های مفید خـاک گردیـد. در مجمـوع بـا توجه به نتـایج حاصـله نیـاز اسـت تـا در اسـتفاده از نهاده‌های شیمیایی در کشـت غلاتـی هـم‌چـون گنـدم تجدیدنظر شود و مصرف این نهاده‌هـا کـاهش یابـد و اگر به هر دلیلی امکان اعمال مدیریت کم‌نهـاده فـراهم نیست توصیه مـی‌شـود تـا بـرای بهبـود تنـوع‌زیسـتی ماکروفون‌های خاک در برنامـه تنـاوب زراعـی منطقـه کشت بقولات مورد توجه جدّی قرار گیرد.

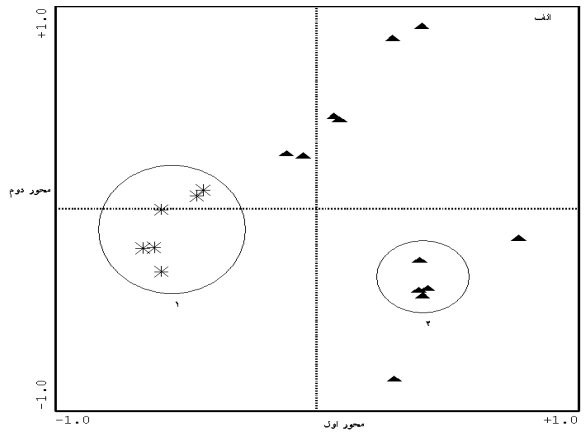
1. Microclimate

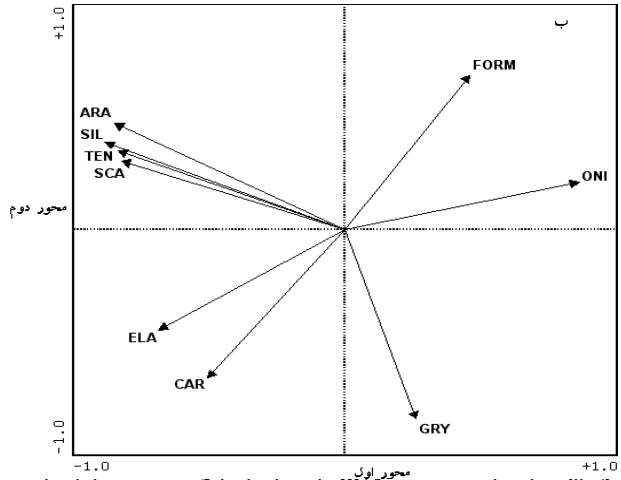
جدول 1- تأثیر نوع محصول و شیوه مدیریت زراعی بر غنای تاکسونومیک، شاخص شانون، فراوانی کل و فراوانی ماکروفون‌های اصلی خاک در منطقه شیروان (شش واحد نمونه‌گیری در هر زیستگاه=n)

متغیر	زیستگاه			تیمار†	
	گندم پرنهاده	گندم کم‌نهاده	یونجه	نوع محصول	مدیریت زراعی
غنای تاکسونومیک	12/83	13/67	14/17	NS	NS
شاخص شانون	1/88	1/89	2/11	**	NS
فراوانی	355/5	431/33	512	**	**
عنکبوتیان (Araneae)	38/66	89/17	135/83	**	**
سوسک زمینی (Carabidae)	59/67	24/17	101/17	**	**
مورچه (Formicidae)	141/5	190/67	123/33	**	**
سیرسیرک (Gryllidae)	38/67	16/83	25/83	NS	**
کرم خاکی (Lumbricidae)	0	1/67	4/67	**	-
خرخاکی (Oniscoidea)	33/33	36	10	**	NS
سوسک سرگین‌خوار(Scarabaeidae)	3/5	8/5	15/5	**	*
سوسک مرده‌خوار (Silphidae)	9	23/33	36/32	**	*

† اختلافات معنی‌دار و غیرمعنی‌دار برای تأثیر نوع محصول (یونجه در مقابل گندم) و نوع مدیریت (گندم کم‌نهاده در مقابل گندم پرنهاده) با استفاده از آنالیز تقابل نشان داده شده‌اند.

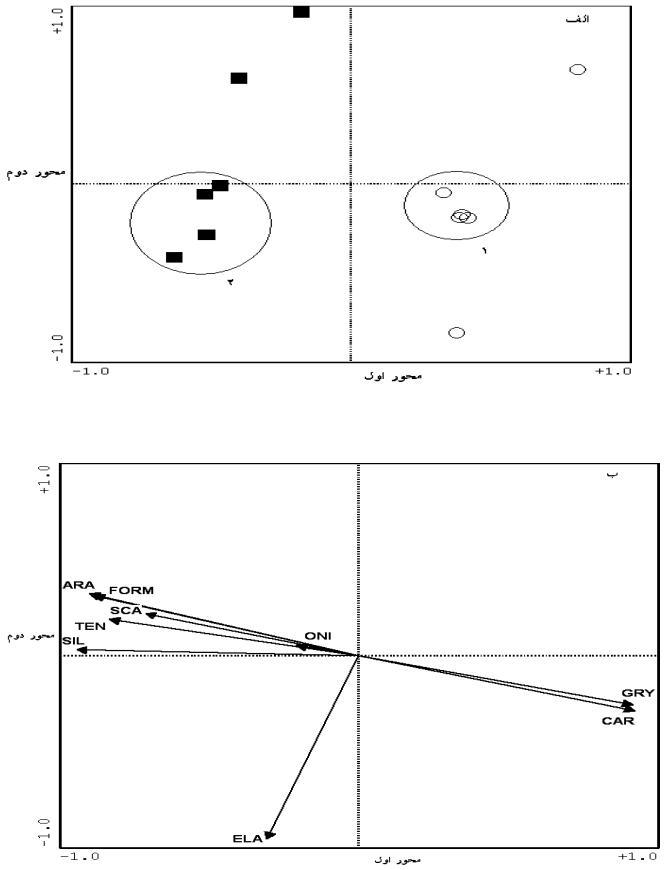
*P < 0.05; **P < 0.01 و NS: غیر معنی‌دار





شکل 1- الف- نمودار رسته بندی PCA واحدهای نمونه‌کیری. ب- روابط جامعه ماکروفون‌ها با واحدهای نمونه‌گیری در گندم و یونجه شیروان. ▲: 12مزرعه گندم (گندم کم‌نهاده و پرنهاده) و ✳: 6 مزرعه یونجه

ARA: Araneae, CAR: Carabidae, ELA: Elateridae, FORM: Formicidae, GRY: Gryllidae, ONI: Oniscoidea, , SCA: Scarabaeidae, SIL: Silphidae, TEN: Tenebrionidae.



شکل 2- الف- نمودار رسته بندی PCA واحدهای نمونه‌گیری ب- روابط جامعه ماکروفون‌ها با واحدهای نمونه‌گیری در گندم کم‌نهاده و گندم پرنهاده. ■: 6 مزرعه گندم کم‌نهاده و ○: 6 مزرعه گندم پرنهاده.

ARA: Araneae, CAR: Carabidae, ELA: Elateridae, FORM: Formicidae, GRY: Gryllidae, ONI: Oniscoidea, , SCA: Scarabaeidae, SIL: Silphidae, TEN: Tenebrionidae.

فهرست منابع:

1. Bardgett, R.D. 2002. Causes and consequences of animal diversity in soil. Zoology. 105: 367–374.
2. Barrios, E. 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. Ecological Economics. 64: 269-285.
3. Biaggini, M., Consorti, R., Dapporto, L., Dellacasa, M., Paggetti, E. and Corti, C. 2007. The taxonomic level order as a possible tool for rapid assessment of Arthropod diversity in agricultural landscapes. Agriculture, Ecosystems and Environment. 122: 183–191.
4. Brevault, T., Bikay, S., Maldes, J.M. and Naudin, K. 2007. Impact of a no-till with mulch soil management strategy on soil macrofauna communities in a cotton cropping system. Soil and Tillage Research. 97: 140–149.
5. Burrssaard, L., Ruiter, P. C. and Brown, G. G. 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. Agriculture, Ecosystems and Environment. 121: 233-244.
6. Clark, KR. 1993. Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. Australian Journal of Ecology. 18:117–143.
7. Clough, Y., Kruess, A., Kleijn, D. and Tscharntke, T. 2005. Spider diversity in cereal fields: comparing factors at local, landscape and regional scales. Journal of Biogeography. 32: 2007–2014.
8. Decaens, T., Jiménez, J.J., Gioia, C., Measey, G.J. and Lavelle, P. 2006. The value of soil animals for conservation biology. European Journal of Soil Biology. 42: S23–S38.

9. Diekotter, T., Wamser, S., Wolters, V. and Birkhofer, K. 2010. Landscape and management effects on structure and function of soil arthropod communities in winter wheat. Agriculture, Ecosystems and Environment. 137: 108–112.
10. Eduardo, C. and Grelle, V. 2002. Is higher-taxon analysis an useful surrogate of species richness in studies of Neotropical mammal diversity?. Biological Conservation. 108:101-106.
11. Gobbi, M. and Fontaneto, D. 2008. Biodiversity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in different habitats of the Italian Po lowland. Agriculture, Ecosystems and Environment. 127: 273–276.
12. Harwood, J.D., Sunderland, K. D. and Symondson, W.O. C. 2001. Living where the food is: web location by linyphiid spiders in relation to prey availability in winter wheat. Journal of Applied Ecology. 38: 88-99.
13. Honek, A., Martinkova, Z. and Jarosik, V. 2003. Ground beetles (Carabidae) as seed predators. European Journal of Entomology. 100: 531–544.
14. Kladivko, E.J. 2001. Tillage systeme and soil ecology. Soil and Tillage Research. 67: 61-76.
15. Lavelle, P., Decaens, T., Aubert, M., Barota, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P. and Rossic, J.P. 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. European Journal of Soil Biology. 42: 3-15.
16. Legendre, P. and Legendre, L. 1998. Numerical Ecology. 2nd ed. Amsterdam, Elsevier. 853p.
17. Legere, A., Stevenson, F. C. and Benoit, D. L. 2005. Diversity and assembly of weed communities: contrasting responses across cropping systems. Weed Research. 45: 303-315.
18. Maudsley, M.J., Seeley, B. and Lewis, O. 2002. Spatial distribution patterns of predatory arthropods within an English hedgerow in early winter in relation to habitat variables. Agriculture, Ecosystems and Environment. 89: 77–89.
19. Melnychuk, N.A., Olfert, O., Youngs, B. and Gillott, C. 2003. Abundance and diversity of Carabidae (Coleoptera) in different farming systems. Agriculture, Ecosystems and Environment. 95: 69-72.
20. Paoletti, M.G. and Hassal, M. 1999. Woodlice (Isopoda: Oniscidea): their potential for assessing sustainability and use as bioindicators. Agriculture, Ecosystems and Environment. 74: 157–165.
21. Read, J.L. and Andersen, A.N. 2000. The value of ants as early warning bioindicators: responses to pulsed cattle grazing at an Australian arid zone locality. Journal of Arid Environment. 45: 231–251.
22. Schellhorn, N.A. and Sork, V.L. 1997. The impact of weed diversity on insect population dynamics and crop yield in collards, *Brassica oleraceae* (Brassicaceae). Oecologia. 111: 233-240.
23. Seymour, C.L. and Dean, W.R.J. 1999. Effects of heavy grazing on invertebrate assemblages in the Succulent Karoo, South Africa. Journal of Arid Environment. 43: 267–286.
24. Sileshi, G. and Mafongoya, P.L. 2006. Long-term effects of improved legume fallows on soil invertebrate macrofauna and maize yield in eastern Zambia. Agriculture, Ecosystems and Environment. 115: 69–78.
25. Ter Braak, C.J.F. and Smilauer, P. 1998. CANOCO Reference manual and user's guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (version 4). Microcomputer Power, Ithaca.
26. Weibull, A.C., Ostman, O. and Granqvist, A. 2003. Species richness in agroecosystems: the effect of landscape, habitat and farm management. Biodiversity and Conservation. 12: 1335–1355.
27. Woodcock, B.A. and Pywell, R.F. 2010. Effects of vegetation structure and floristic diversity on detritivore, herbivore and predatory invertebrates within calcareous grasslands. Biodiversity and Conservation. 19: 81–95.

تأثیر قارچ‌کش کربوکسین تیرام (Carboxin Thiram) بر رابطه همزیستی قارچ‌های میکوریزا- آربسکولار با گیاه گندم

اشرف اسمعیلی زاد[1]*، فرهاد رجالی و جلیل وندیوسفی

فارغ التحصیل کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، گروه میکروبیولوژی، کرج، ایران؛ **noblesse55@gmail.com**

استادیار، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب؛ **frejali@yahoo.com**

استاد پژوهش، عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج؛ **neglab1@yahoo.com**

چکیده

کودهای بیولوژیک علاوه بر اثرات مثبت که بر حاصلخیزی پایدار خاک دارد، از جنبه‌های اقتصادی و زیست محیطی نیز مثمرثمر واقع شده و می‌توانند به عنوان جایگزین مناسب و مطلوب برای تمامی یا حداقل بخشی از کودهای شیمیایی باشند. از مهمترین انواع کودهای بیولوژیک می‌توان به قارچ‌های آربوسکولار میکوریزی اشاره کرد. با توجه به گستردگی استفاده از قارچ‌کش Carboxin Thiram برای کنترل عوامل بیماریزای قارچی در کشت گندم و به منظور تعیین میزان تأثیر این قارچ‌کش در برقراری رابطه همزیستی گیاه گندم با گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربسکولار، این پروژه طراحی و اجراء گردید. با انجام آزمون گلخانه‌ای، تأثیر قارچ‌کش Carboxin Thiram در دو سطح مصرف (به میزان دو در هزار) و عدم مصرف بر همزیستی شش گونه از قارچ‌های میکوریزی (*Glomus clarum Glomus caledonium*، *Glomus mosseae*، *Glomus sp*، *Glomus geosporum*، *Glomus versiforme*) بر شاخص‌های رشد گیاه گندم رقم چمران و همچنین بر روی تعداد اسپور و درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه با این قارچ‌ها بررسی گردید. نتایج تحقیق نشان داد که استفاده از این قارچ‌کش به صورت بذرمال تأثیر معنی‌داری در هیچ‌یک از اجزاء عملکردی گیاه در بر نداشت. تلقیح با قارچ میکوریز و استفاده از Carboxin Thiram تعداد اسپور ($p<0.01$) و درصد کلونیزاسیون ریشه ($p<0.05$) را به طور معنی‌داری افزایش داد. بیشترین تعداد اسپور تولیدی در همزیستی قارچ *Glomus geosporum* و در سطح استفاده از Carboxin Thiram با 34/37 اسپور به ازاء هر گرم خاک و کمترین میزان در قارچ *G.clarum* با 5 اسپور در هر گرم خاک مشاهده شد. نتیجه کلی حاصل از این پژوهش حاکی از عدم تأثیر منفی بکارگیری بذور گندم حاوی قارچ‌کش Carboxin Thiram در برقراری رابطه همزیستی میکوریزی با گونه‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کود زیستی، کلنیزاسیون ریشه، گندم رقم چمران

مقدمه

هدف از مصرف کودهای بیولوژیک، تقویت حاصلخیزی خاک و تأمین تمام و یا بخشی از نیازهای گیاه به یک یا چند عنصر غذایی و همچنین در مواردی افزایش توانایی گیاه در برابر تنشهای زنده و غیر زنده می‌باشد. کودهای بیولوژیک فراورده‌هایی هستند شامل سلول‌های زنده از گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌هایی که توانایی تبدیل عناصر غذایی از فرم غیر قابل جذب به فرم قابل جذب برای استفاده گیاهان طی فرایندهای

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: کرج، رجایی شهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

* دریافت: 91/9/12 و پذیرش: 92/2/5

بیولوژیکی را دارا می‌باشند (وسی، 2003؛ چن،2006). در حال حاضر کودهای بیولوژیک به عنوان گزینه‌ای جایگزین برای بخشی از کودهای شیمیایی، به منظور افزایش حاصلخیزی خاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح شده‌اند (وو و همکاران،2005). یکی از مهمترین انواع کودهای بیولوژیک قارچ‌های میکوریزی هستند. همزیستی میکوریزی گسترده‌ترین همزیستی شناخته شده بین گیاهان و میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (ناگاهاشی و همکاران، 1996). حدود 83% از گیاهان دولپه‌ای و 79% از گیاهان تک‌لپه‌ای با قارچ میکوریز رابطه همزیستی دارند (کوپمن و همکاران، 1996). در این همزیستی قارچ با گرفتن کربن آلی و همچنین ترکیبات ناشناخته دیگر از گیاه میزبان به رشد خود ادامه داده و از طرف دیگر در شرایط مختلف و بخصوص در مواردی که گیاه با محدودیت‌ها و تنش‌های محیطی روبرو می‌باشد، بقاء، رشد و توسعه گیاه میزبان را با تأمین عناصر غذایی به خصوص فسفر (الکارکی، 2000؛ ترسدر ،2004) و آب مورد حمایت قرار می‌دهد (اسمیت و رید، 1997). گیاهان میکوریزی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی به دلیل وجود یک شبکه ریسه‌ای گسترده در ریشه از جذب بالاتر مواد غذایی برخوردار می‌باشند (اسمیت و اسمیت، 1997). ریسه، رابط بین خاک و ریشه گیاه است همچنین دارای سطح وسیعی است که به صورت یک سیستم جذب اضافی، ریشه گیاه میزبان را در جذب عناصر معدنی به خصوص فسفر کمک می‌نماید (مارک و کسلز، 199؛ مارولاندا و همکاران، 2003؛ ریلیج و همکاران، 2002). فسفر اغلب به صورت فسفات‌های معدنی کم‌محلول و یا نامحلول و یا به صورت فسفر آلی در خاک وجود دارد که به سهولت برای گیاهان قابل استفاده نیستند، بنابراین برای رفع کمبود فسفر مورد نیاز گیاهان، این عنصر را به صورت کودهای شیمیایی فسفردار به خاک اضافه می‌کنیم (پنت و ردی، 2003). هر ساله بین 75 الی 90 درصد فسفر اضافه شده به خاک به دلیل آهکی بودن اکثر خاک‌ها، وجود pH بالا، تنش خشکی، وجود بیکربنات در آب آبیاری و کمبود مواد آلی موجود در خاک و همچنین در اثر ترکیب با یون‌های کلسیم، آلومینیوم و آهن در خاک به صورت رسوب در می‌آید و به مصرف گیاه نمی‌رسند (ویگ و دو، 1984؛ استیونسون، 1986). حرکت به سمت استفاده از تکنولوژی‌های مدرن برای تولید زاد مایه قارچ‌های میکوریز آربسکولار و استفاده از ترکیبات جدید می‌تواند ضمن افزایش زمینه کاربرد این ترکیبات زیستی در کشور زمینه مناسبی را برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفره فراهم آورد (رجالی، 1389).

در دنیای امروز گندم نه تنها یک ماده غذایی اساسی و مهم است بلکه از لحاظ سیاسی نیز از اهمیتی هم پایه نفت و حتی برتر از آن برخوردار می‌باشد. عملکرد پائین گندم در ایران در مقایسه با جهان عمدتاً بواسطه کمبود آب و ناکارآمد بودن مدیریت‌های زراعی اعمال شده است. بنابراین می‌توان گفت که گندم استراتژیک‌ترین محصول زراعی در دنیا می‌باشد. در کشور ما مصارف سرانه گندم در حدود دو برابر مصرف جهانی است (بهنیا، 1376). بر طبق اطلاعات آمارنامه کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی در سال زراعی 89-1388 حدود 7 میلیون هکتار از اراضی زراعی کشور به کشت گندم اختصاص داده شده و میزان تولید گندم حدود 13/4 میلیون تن برآورد شده است. گندم را معمولاً دانه‌یی حاوی نشاسته می‌دانند لیکن پروتئین‌های موجود در دانه مهمترین ترکیبات بیولوژیکی و متابولیسمی آن محسوب می‌شوند. پروتئین‌های موجود در دانه از یک طرف منبع ازت و آمینواسیدهای مورد نیاز در هنگام جوانه زدن جنین بوده و از طرف دیگر فاکتور مهم در مکانیسم پخت و ارزش غذایی نان محسوب می‌شود (کلمن و کوالست، 1991؛ بهاتارایی و هس 1993).

در کشاورزی رایج به منظور کنترل علف‌های هرز و آفات از علف‌کش‌ها و آفت‌کش‌ها استفاده می‌شود (محلاتی و همکاران، 1380). آفت‌کش‌ها میکروارگانیسم-های غیر هدف را با دخالت در پروسه‌های حیاتی مانند تنفس، فتوسنتز و واکنش‌های بیوسنتزی مانند رشد دیواره سلولی، تقسیم و ترکیب مولکولی تحت تأثیر قرار می‌دهند (دلورنزو و همکاران، 2001). قارچ‌کش‌ها در مقایسه با ضد عفونی کننده‌ها معمولا آلودگی میکوریزی را به تأخیر انداخته و یا کاهش می‌دهند ولی به ندرت آن را کاملاً ریشه‌کن می‌نمایند. قارچ‌کش‌های غیر سیستمیک نظیر Thiram می‌توانند قارچ‌های میکوریزی را از طریق ممانعت از تندش اسپور تحت تأثیر قرار دهند و نسبت به قارچکش‌های سیستمیک آسیب کمتری به همزیستی میکوریزی وارد می‌نمایند (بتلن فالوی و لیندرمن، 1992). قارچ‌کش‌های سیستمیک نظیر Benomyl، Banrot، Thiabendazole، Vitavax، Thiophanate و Terrazol به همزیستی میکوریزی آسیب بیشتری وارد می‌نمایند. آنها تندش اسپور و رشد قارچ را در درون بافت ریشه تحت تأثیر قرار می‌دهند (کوردیر و همکاران، 1996). قارچ‌کش Carboxin Thiram با نام تجاری Vitavax Thiram قارچ‌کش مختلط با طیف اثر گسترده متشکل از یک

ترکیب سیستمیک (Carboxin از گروه اکساتین‌ها) و یک ترکیب تماسی (Thiram از گروه دی‌تیوکاربامات‌ها) می‌باشد که نحوه اثر Carboxin از طریق اختلال در تنفس سلولی است و Thiram در اثر اختلال عمومی در کار آنزیم‌ها اثر خود را اعمال می‌کند. از جمله بیماری‌های قارچی گیاه ارزشمند گندم سیاهک آشکار و پنهان می‌باشد که برای مبارزه با آنها استفاده از قارچ‌کش Carboxin Thiram امری ضروری است. در این میان پوشش بذر با قارچ‌کش یکی از عملیات رایج برای ظهور بهتر گیاهچه‌ها از خاک و جلوگیری از حمله اولیه آفات به بذر می‌باشد. این نوع از عملیات زراعی تقریباً به عنوان یک عملیات موفق برای کنترل بیمارگرهای بذرزاد و همچنین انواع بیمارگرهای عامل پژمردگی گیاهچه محسوب می‌شود.

با توجه به گستردگی استفاده از قارچ‌کش Carboxin Thiram در کشت گندم در ایران و به منظور تعیین میزان تأثیر این قارچ‌کش در برقراری رابطه همزیستی گیاه گندم با گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربسکولار این پروژه طراحی و به مرحله اجراء درآمد تا در نهایت مناسب‌ترین گونه‌های قارچ‌های میکوریزی برای استفاده به صورت زاد مایه و به شکل همزمان با قارچ‌کش Carboxin Thiram مشخص شود.

مواد و روش‌ها

تهیه زاد مایه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

برای انجام این آزمون از شش گونه قارچی تهیه شده از کلکسیون میکروبی بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب (رجالی، 1389) به شرح زیر استفاده گردید:

Glomus clarum، *Glomus caledonium*، *Glomus mosseae*، *sp Glomus*، *Glomus geosporum Glomus versiforme*

بذور استریل (در شرایط استریل به ترتیب شستشو با توئین 20 و آب‌کشی کامل، غوطه ور شدن در الکل 96 درجه به مدت 30 ثانیه، خالی کردن الکل و قرار دادن بذور در محلول هیپوکلریت سدیم حاوی 1/5% کلر فعال به مدت 8 دقیقه، شستشو با آب مقطر استریل به تعداد 8-6 بار به منظور رفع سمیت هیپوکلریت سدیم) و جوانه‌دار شده ذرت (قرار دادن بذور استریل در پلیت حاوی آب – آگار و انکوباسیون در دمای 25 درجه به مدت 2 روز) به منظور تکثیر زاد مایه‌های قارچی تهیه شدند. بذرها در گلدان‌های پلاستیکی هفت کیلوگرمی ضدعفونی شده (به ترتیب شستشو با مایع ظرفشویی، شستشو با محلول 2% هیپوکلریت سدیم بمدت 15دقیقه، آبکشی کامل) حاوی ماسه استریل 75 درصد و خاک لوم 25 درصد کشت شدند. هر گلدان با 50 گرم از زاد مایه حاوی گونه مورد نظر تلقیح گردید. بدین ترتیب که ابتدا لایه‌ای از خاک سطح گلدان‌ها را کنار زده و در مرکز هر گلدان حفره‌ای به ارتفاع یک سانتی‌متر ایجاد گردید. سطح حفرات با زاد مایه قارچی پر و سپس با خاک هر گلدان پوشانیده شد. گلدان‌ها در گلخانه به مدت 4 ماه با نور طبیعی و درجه حرارت 28-20 درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و هفته‌ای یک بار با آب مقطر استریل و یک بار با محلول غذایی هوگلند (هوگلند و آمون، 1950) استریل با 1/2 غلظت فسفر آبیاری گردید. پس از اتمام دوره رشد، گیاهان ذرت از سطح گلدان‌ها قطع و زاد مایه‌های تهیه شده درون نایلون‌های پلاستیکی و درون یخچال در دمای 4 درجه سانتی‌گراد تا زمان شروع آزمون نگهداری گردیدند. قبل از انجام آزمایش و کاشت گیاه تعداد اسپورهای موجود در زاد مایه‌های آماده شده به روش الک مرطوب (گردمن و نیکلسون،1963؛ فانگ و همکاران 1983) به منظور تعیین میزان استفاده از هر زاد مایه در دو تکرار انجام گردید.

تهیه نمونه خاک برای آزمون گلخانه‌ای و اندازه گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن

برای انجام آزمون گلخانه‌ای نمونه برداری از عمق صفر تا 30 سانتی‌متری از خاک یکی از قطعات مزرعه‌ای موجود در ایستگاه تحقیقات خاک و آب کرج که چندین سال به صورت آیش باقی مانده بوده استفاده گردید. برای حذف تکه‌های سنگ، نمونه خاک پس از هوا خشک شدن از الک 5 میلی‌متری عبور داده شد. از خصوصیات فیزیکی خاک مورد آزمون، بافت خاک به روش هیدرومتری، از خصوصیات شیمیایی pH و EC خاک با استفاده از روش گل اشباع، پتاسیم قابل جذب گیاه با استفاده از روش استات سدیم نرمال با pH7، فسفر قابل جذب گیاه با استفاده از روش اولسن، کربن آلی خاک با استفاده از روش اکسیداسیون با دی کرومات پتاسیم و مقدار آهن، مس، منگنز و روی قابل جذب گیاه از طریق عصاره‌گیری با DTPA و قرائت با دستگاه جذب اتمی (علی احیایی، 1372) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری خصوصیات بیولوژیکی خاک مورد آزمون

از خصوصیات بیولوژیکی، شمارش اسپور قارچ‌های میکوریز آربسکولار بومی به روش الک مرطوب در دو تکرار و همچنین بخشی از جمعیت کل این قارچ‌های بومی که توانایی کلونیزه کردن ریشه گیاه میزبان را دارند

به روش MPN[1] اندازه‌گیری شد (نوریس و همکاران، 1994).

تعیین جمعیت فعال قارچ‌های میکوریز آربسکولار خاک مورد آزمون به روش بیشترین تعداد احتمال یا MPN

از نمونه خاک رقت‌های صفر، 0/1، 0/01 و 0/001 با پوکه استریل (الکساندر، 1965؛ کوچران، 1950) (پنج تکرار از هر رقت در تیوپ‌های استریل به ابعاد 11×2/2 سانتی‌متر) آماده گردید. در هر تیوپ تعداد 2 عدد بذر استریل و جوانه‌دار شده ذرت کشت گردید. پس از گذشت زمان 4 هفته، گیاهچه‌ها برداشت و با آب شسته شدند. سپس ریشه‌ها با ماده رنگی تریپان بلو (به ترتیب قرار دادن ریشه‌ها در لوله آزمایش، ریختن محلول10% KOH بر روی ریشه‌ها، قرار دادن آنها در اتوکلاو به مدت 4 دقیقه، شستشوی ریشه‌ها 8-6 بار با آب مقطر، ریختن محلول آب اکسیژنه قلیایی یعنی 3 میلی لیتر هیدروکسید آمونیوم + 30 میلی لیتر 10% H_2O_2 بر روی آنها به مدت 10 دقیقه، شستشوی کامل با آب، ریختن محلول اسید کلریدریک 1% بر روی ریشه‌ها به مدت 3 دقیقه، خالی کردن اسید و رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان بلو در لاکتو گلیسرول) رنگ آمیزی شدند. پس از رنگ آمیزی ریشه، برقراری و یا عدم برقراری رابطه همزیستی میکوریز آربسکولار که مشخصه آن وجود و یا عدم وجود اندام مشخصه قارچ شامل رشته‌های هیفی، اسپورها، وزیکول‌ها و آربسکول‌ها می‌باشد برای تمام سیستم‌های ریشه‌ای در پتری دیش‌های مجزا توسط استریومیکروسکوپ (بینوکولار) با بزرگنمایی 45 بررسی شد. محاسبه MPN مطابق جدول فیشر و یاتز (1974) انجام گردید (نوریس و همکاران، 1994).

بررسی تأثیر قارچ‌کش بر همزیستی میکوریزی طرح آزمایش

اثر قارچ‌کش Carboxin Thiram تهیه شده از شرکت خدمات حمایتی کشاورزی بر همزیستی میکوریزی در گیاه گندم رقم چمران تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج طی یک آزمون گلخانه‌ای و تا مرحله نهایی محصول دهی گیاه مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور تلقیح میکوریزی (در شش سطح تلقیح و یک سطح عدم تلقیح) و قارچ‌کش Carboxin Thiram (در دو سطح استفاده به میزان دو در هزار گرم و عدم استفاده) با 4 تکرار برای هر تیمار و جمعاً 56 واحد آزمایشی (گلدان)، کاراترین ترکیب همزیستی گیاه گندم رقم چمران با گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی در حضور این قارچ‌کش مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص‌های بررسی شده عبارت بودند از وزن‌تر و خشک اندام هوایی گیاه، طول خوشه، طول ساقه، فاصله میان‌گره‌ای، تعداد پنجه، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه، وزن هزار دانه، درصد کلنیزاسیون ریشه با قارچ و میزان اسپورزایی قارچ در محیط پیرامون ریشه.

گشت گیاه و اعمال تیمارها

بذرهای یکدست و سالم استریل (استفاده از هیپوکلریت سدیم با 1/5% کلر فعال به مدت 6 دقیقه) در زیر هود لامینار هوا خشک شده و سپس نیمی از بذرها با قارچ‌کش Carboxin Thiram به نسبت 2 در هزار گرم تیمار گشتند. تعداد 10 بذر در گلدان‌های پلاستیکی 7 کیلوگرمی ضد عفونی شده محتوی خاک و زاد مایه‌های مورد نظر کشت شدند. با در نظر گرفتن 200 اسپور قارچ به ازاء هر بذر مقدار کافی از هر زاد مایه قارچی به گلدان‌های مربوطه اضافه گردید. پس از دو هفته تعداد هفت گیاهچه نگهداری شده و بقیه حذف شدند. گیاهان در گلخانه با دمای 25^{0C} تا 28^{0C} به مدت چهار ماه رشد کردند. گلدان‌ها هفته‌ای دو بار با آب معمولی و از ماه دوم هفته‌ای یک بار با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند، و تنها یک بار از کود اوره به میزان 0/14 گرم به ازاء هر گلدان در مرحله ظهور سنبله‌ها استفاده به عمل آمد.

اندازه گیری اجزاء عملکردی گیاه

اندازه‌گیری تعداد پنجه با شمارش آن‌ها پس از کامل شدن پنجه‌ها، اندازه‌گیری اجزای عملکردی شامل طول سنبله، ارتفاع بوته و فاصله میان‌گره‌ای با خط‌کش در زمان رسیدگی فیزیولوژیک گندم انجام شد. همچنین با گذشت چهار ماه از شروع آزمایش و با رسیدن کامل گیاهان گندم بوته‌ها از سطح خاک قطع و وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله و وزن هزار دانه اندازه‌گیری شد. همچنین ریشه گیاه به منظور تعیین درصد کلونیزاسیون میکوریزی از تمامی گلدان‌ها برداشت و پس از شسته شدن کامل با آب به ظروف پلاستیکی حاوی الکل اتیلیک 50 درصد انتقال داده شدند. به منظور شمارش اسپور نیز نمونه‌های خاک از هر گلدان در کیسه‌های پلاستیکی در سردخانه با دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. شمارش اسپورها طبق روش الک مرطوب و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه طبق روش تقاطع خطوط شبکه به شرح ذیل انجام گردید:

---

1. Most Probable Number

تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه با قارچ‌های میکوریز آربسکولار

ابتدا نمونه‌های ریشه با محلول رنگی تریپان بلو در محلول لاکتوگلیسرول رنگ آمیزی شدند (نیومن،1966؛ جیووانتی و موسه، 1980). سپس از هر نمونه تعداد 100 قطعه سالم به طول 1 سانتی‌متر با چاقوی جراحی بریده شده و تمامی قطعات در پلیتی با قطر9 سانتی‌متر، که به ابعاد 1×1 سانتی‌متر مشبک شده بود، به طور تصادفی توزیع شدند. تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها با استفاده از روش تقاطع خطوط شبکه انجام شد (نیومن،1966؛ جیووانتی و موسه، 1980).

تجزیه و تحلیل آماری طرح

داده‌ها با نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شده و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید. همچنین مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون Tukey به دلیل توان بیشتر و دقت بالاتر این آزمون در مقایسات چندگانه انجام شد.

نتیجه و بحث

نتایج اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمون در جدول شماره 1 آورده شده است. اندازه گیری خصوصیات بیولوژیکی خاک نیز نشان داد که تعداد اسپورهای قارچ‌های میکوریز آربسکولار بومی در 10 گرم خاک 5 عدد و تعداد اندام‌های فعال این قارچ‌ها 1/1 propagule/ $_{Cm3}$ می‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش گلخانه‌ای (جدول2) نشان داد که تیمارهای قارچی، دو صفت یعنی تعداد پنجه و وزن خشک اندام هوایی گیاه گندم را در سطح یک درصد آماری تحت تأثیر قرار داد. از لحاظ تعداد پنجه در حضور و عدم حضور قارچ‌کش، تیمارهای میکوریزی باعث افزایش این صفت شدند که آن را می‌توان به تأثیر گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی در افزایش سطح جذب ریشه از طریق گسترده کردن شبکه هیفی خود و همچنین توانایی آن‌ها در افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه، افزایش جذب آب و افزایش جذب عناصر معدنی به ویژه فسفر دانست. در مطالعات بسیار زیادی به نقش قارچ‌های میکوریزی در افزایش توانایی گیاه در جذب بیشتر عناصر معدنی و آب اشاره شده است (آزکون آگیلار و باریا، 2002؛ لی و زیوای 2005؛ کاپور و همکاران، 2007). با اضافه کردن قارچ‌کش Carboxin Thiram گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی از لحاظ این صفت پاسخ‌های متفاوتی را به اضافه کردن این قارچ‌کش داده‌اند، لیکن تفاوت‌های مشاهده شده از لحاظ شاخص پنجه‌دهی با توجه به سطوح آماری در نظر گرفته شده در این آزمون معنی‌دار نگردید. در تیمار شاهد بدون تلقیح، استفاده از قارچ‌کش تعداد پنجه را در گیاه گندم کاهش داده است که این نشان دهنده تأثیری است که این نوع قارچ‌کش بر فیزیولوژی گیاه و همچنین بر جامعه میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی داشته و از طریق تأثیر منفی بر فعالیت آن‌ها توانایی گیاه را در جذب عناصر معدنی و آب کاهش داده و در نتیجه تعداد پنجه نیز کاهش یافته است. افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه را هم می‌توان یک اثر ثانویه از افزایش تعداد پنجه در گیاه دانست. بدیهی است هرچقدر تعداد پنجه در گیاه بیشتر باشد نشان دهنده وضعیت مطلوب‌تر گیاه از لحاظ تغذیه‌ای و افزایش وزن خشک نهایی گیاه می‌باشد. سایر صفات مورد بررسی از جمله طول ساقه، طول خوشه، فاصله میان‌گره‌ای و تعداد دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه، وزن هزار دانه و وزن تر اندام هوایی تحت تأثیر رابطه همزیستی میکوریزی قرار نگرفته است که شاید بتوان دلیل آن را به وابستگی زیاد این صفات به خصوصیت ژنتیکی گیاه گندم نسبت داد.

جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول شماره 4) نشان می‌دهد که استفاده از تیمار قارچ‌کش، وزن هزار دانه را در سطح یک درصد آماری تحت تأثیر خود قرار داده است. قارچ‌کش Carboxin Thiram یک قارچ‌کش تماسی- سیستمیک می‌باشد که بخشی از آن وارد پیکره گیاه شده و بنابراین می تواند از طریق تأثیر بر فیزیولوژی گیاه و به صورت یک اثر ثانویه وزن هزار دانه گیاه گندم را افزایش دهد. چنین نتایجی توسط فوستر و همکاران (1980) در مورد دو قارچ‌کش Triadimefon و Pyrazophos که از انواع قارچ‌های سیستمیک می‌باشند نیز گزارش شده است. این محققین خصوصیاتی شبیه هورمون سیتوکینین را برای قارچ‌کش اولی گزارش کرده‌اند. استفاده از این قارچ‌کش‌ها باعث سبزی بیشتر برگ‌ها شده و مرگ گیاه را به تأخیر انداخته و در نهایت رشد بیشتری برای گیاهان به دنبال داشته است. ون آلتن و همکاران (1993) نیز با انجام تحقیقی نشان دادند که استفاده از قارچ‌کش‌های سیستمیک Triadimefon و Pyrazophos همزیستی ایجاد شده بین گیاه میزبان و گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی را بهبود بخشیده است.

نتایج تجزیه واریانس دو صفت بیولوژیک اندازه‌گیری شده یعنی تعداد اسپور تولید شده توسط گونه‌های میکوریزی و درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه گندم با این قارچ‌ها نیز در جدول شماره 3 آمده است. این نتایج نشان داد که تلقیح با قارچ میکوریز تعداد اسپور را

در سطح یک درصد آماری و درصد کلونیزاسیون ریشه را در سطح پنج درصد آماری تحت تأثیر خود قرار داده است. بیشترین اسپور تولیدی در همزیستی قارچ *G. geosporum* با حدود 31 اسپور به ازاء هر گرم خاک با گیاه گندم مشاهده گردید. از این لحاظ نیز گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی متفاوت از یکدیگر بودند. لیکن اضافه کردن قارچ‌کش Carboxin Thiram به جز در گونه *G.clarum* در سایر گونه‌ها، افزایش تولید اسپور را به دنبال داشته است. اضافه کردن گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی در تمامی موارد درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه گندم را افزایش داده است که نتیجه پاسخ گیاه گندم به تلقیح با قارچ‌های میکوریزی می‌باشد. همچنین اضافه کردن قارچ‌کش Carboxin Thiram به جز درمورد همزیستی ایجاد شده بین گیاه گندم با *G.mosseae* که آن را تحت تأثیر قرار نداده است در بقیه موارد درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه گندم با سایر گونه‌های قارچ‌های میکوریزی را افزایش داده است.

تأثیرات قارچ‌کش‌ها بر روی قارچ‌های میکوریزی از نظر زیان آور بودن یا مفید بودن متفاوت است. نتایج به‌دست آمده از این گونه بررسی‌ها تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله روش استفاده از قارچ‌کش، نوع قارچ‌کش، گونه قارچ، نوع گیاه میزبان استفاده شده، درجه حرارت و میزان رطوبت خاک قرار می‌گیرد. عامل اول روش استفاده از قارچ‌کش است که معمولاً اضافه کردن قارچ‌کش به صورت مستقیم به خاک باعث کاهش و اسپری آن بر روی اندام هوایی گیاه باعث افزایش فعالیت همزیستی میکوریزی می‌شود. به عنوان مثال جلالی و دمش (1975) گزارش کرده‌اند که استفاده از قارچ‌کش‌ها هیچ تأثیری بر فعالیت همزیستی میکوریزی نداشته است، در حالی که نمک (1980) عنوان نموده است که اضافه کردن قارچ‌کش به خاک باعث کاهش فعالیت همزیستی میکوریزی شده و دنه (1985 و 1986) بیان کرده است که چنان‌چه قارچ‌کش‌ها به صورت اسپری بر اندام هوایی گیاه اضافه شود باعث افزایش فعالیت قارچ‌های میکوریزی می‌شود. عامل دیگر نوع قارچ‌کش می‌باشد. طی آزمایشی تأثیر سه آفت‌کش بر مراحل شروع و توسعه اولیه قارچ‌های میکوریز آربسکولار در گیاه پنبه در شرایط تحت کنترل بررسی گردید و مشخص شد که قارچ‌کش‌های Terrazol و Terraclor در ابتدا از آلودگی میکوریزی ریشه گیاه پنبه جلوگیری کردند. این بازدارندگی بعد از 4 هفته ناپدید گشت و دیگر تأثیر ماندگاری بر آن نداشت. در حالی که Fenamiphos که یک نوع نماتدکش می‌باشد نه تنها اثر منفی نداشته است بلکه اثر تشدید کنندگی بر همزیستی میکوریزی در این گیاه داشته و رشد گیاه را نیز افزایش داده است (پاتینسون و همکاران، 1997). عامل دیگر نوع گیاه میزبان می‌باشد. آلتن و وست (1993) بیان نموده‌اند که استفاده از علف‌کش Tebuthiuron به میزان یک کیلوگرم در هکتار اسپورزایی قارچ‌های میکوریزی در ریزوسفر گیاه *Bromus tectorum* L را کاهش داده است، لیکن هیچ اثر منفی از لحاظ تولید اسپور قارچ‌های میکوریزی و همچنین درصد همزیستی در گیاه *Sitanion hystrix* در پی نداشته است.به طور کلی بر اساس مطالعات صورت گرفته تأثیر قارچ‌کش‌ها بر روی گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی به 3 گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول تأثیرات بازدارندگی داشته و همزیستی میکوریزی را کاهش می‌دهند، گروه دوم بدون تأثیر بوده و استفاده از گروه سوم باعث بهبود همزیستی میکوریزی می‌گردد. به عنوان مثال، تمام گزارشات موجود در ارتباط با Metalaxyl نشان می‌دهد که تأثیر این قارچ‌کش بر قارچ میکوریز سودمند و یا خنثی می‌باشد (نمک، 1980؛ آفک و همکاران، 1990، 1991؛ هتریک و ویلسون، 1991). دو مکانیسم برای توجیه اثرات مثبت آفت‌کش‌ها بر قارچ میکوریز بیان شده است، اول در صورتی که آفت‌کش بتواند فیزیولوژی گیاه میزبان را به گونه‌ای تغییر دهد که سبب افزایش قندهای محلول در عصاره ریشه‌ها گردد، در این صورت کلونیزاسیون تحریک خواهد شد (شواب و همکاران، 1982؛ جباجی- هار وکندریک، 1985). دوم در صورتی که آفت‌کش‌ها جمعیت ارگانیزم‌های مضر برای قارچ‌های VAM[1] را کاهش دهد، در این وضعیت نیز میکوریز تحریک می‌شود (هتریک و ویلسون، 1991). بنابراین بدون آگاهی‌های بیشتر در مورد مکانیزم‌های متقابل مطرح شده، داده‌ها در مورد تأثیرات آفت‌کش‌ها باید با احتیاط کافی بررسی شوند (پاتینسون و همکاران، 1997).

نتیجه‌گیری کلی

با جمعبندی نتایج این تحقیق و در نظر گرفتن عوامل تأثیرگذار سه‌گانه فوق می‌توان عنوان نمود که استفاده از قارچ‌کش Carboxin Thiram به صورت بذرمال در کشت گیاه گندم رقم چمران اثرات منفی در برقراری رابطه همزیستی میکوریزی نداشته و می‌توان زاد مایه این قارچ‌ها را به صورت همزمان با این قارچ‌کش مورد استفاده قرار داد. البته برای تأیید نتایج به دست آمده و

1. Vesicular Arbuscular Mycorrhizae

اظهار نظر قطعی لازم است آزمون‌های مزرعه‌ای با مقادیر متفاوتی از این قارچ‌کش به مرحله اجرا در آید.

جدول 1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی قطعه آزمایش (عمق 30-0 سانتی‌متر) (قطعه19)

Tex.	Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	OC	T.N.V	SP	EC dSm^{-1}	pH	C.E.C $Cmo.kg^{-1}$
			$mg.kg^{-1}$					٪				
لومی	1/02	7/88	0/46	2/16	233	7/9	0/72	8/2	32/5	1/01	7/7	13/3

جدول 2- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در آزمایش گلخانه‌ای

		میانگین مربعات									
منابع تغییرات(S.O.V)	درجه آزادی	تعداد پنجه	طول ساقه	طول خوشه	فاصله میانگره	تعداد دانه در خوشه	وزن دانه در خوشه	وزن هزار دانه	وزن تر اندام هوائی	وزن خشک اندام هوایی
قارچ	6	39/49**	10/89^{ns}	9/15^{ns}	2/28 ^{ns}	21/93^{ns}	0/06^{ns}	19/86^{ns}	177/93^{ns}	42/73**
قارچ‌کش	1	12/07^{ns}	10/83^{ns}	5/11^{ns}	2/31 ^{ns}	0/16^{ns}	0/11^{ns}	90/22**	150/11^{ns}	17/34^{ns}
قارچ x قارچکش	6	14/02^{ns}	1/21^{ns}	12/72^{ns}	0/47^{ns}	6/49^{ns}	0/02^{ns}	7/24^{ns}	42/32^{ns}	9/90^{ns}
خطا	42	11/73	10/24	10/67	1/14	26/22	0/04	10/91	92/63	9/91
درصد ضریب تغییرات		22/57	5/46	28/72	6/60	12/96	14/30	9/18	14/72	9/56

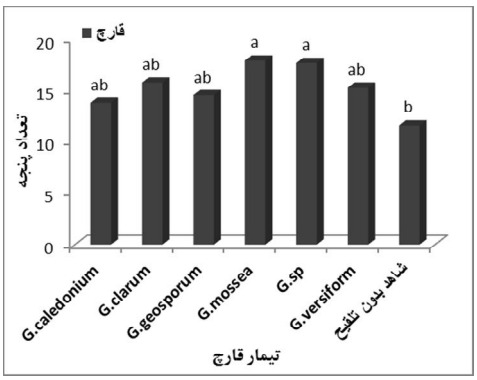
* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 5% و 1% و ns غیر معنی دار

جدول 3- تجزیه واریانس صفات بیولوژیکی در آزمایشگاه

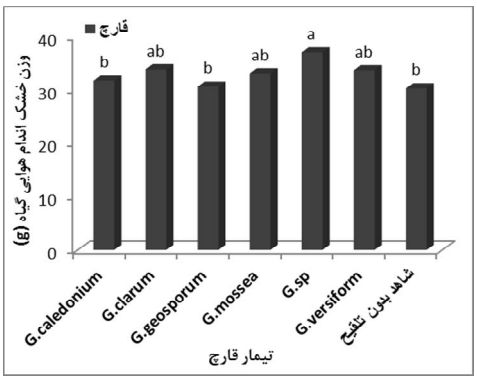
منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	تعداد اسپور	درصد کلونیزاسیون ریشه
قارچ	6	748/06**	226/25*
قارچکش	1	146/25**	299/46 ^{ns}
قارچ x قارچ کش	6	105/15**	116/30 ^{ns}
خطا	42	16/18	84/91
درصد ضریب تغییرات		29/23	16/61

جدول 4- مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ‌های میکوریز و قارچ‌کش در صفات بیولوژیکی مورد بررسی در آزمایشگاه

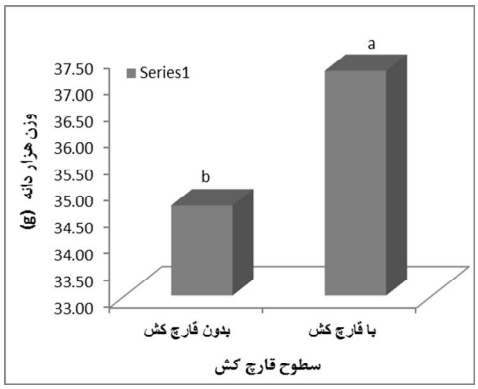
سطوح قارچ‌کش	تیمار میکوریزی	تعداد اسپور در محیط اطراف ریشه	درصد کلونیزاسیون ریشه
بدون قارچ‌کش	*G.caledonium*	10^{b}	56/04
	G.clarum	$8/12^{b}$	53/31
	G.geosporum	$31/25^{a}$	46/48
	G.mosseae	$8/75^{b}$	58/05
	G.sp	$6/25^{b}$	50/06
	G.versiforme	$10/75^{b}$	61/11
	Blank	$9/87^{b}$	46/91
با قارچ‌کش	*G.caledonium*	$11/87^{b}$	58/02
	G.clarum	5^{b}	70/15
	G.geosporum	$34/37^{a}$	59/13
	G.mosseae	$32/50^{a}$	57/84
	G.sp	$7/12^{b}$	56/22
	G.versiforme	10^{b}	58/14
	Blank	$6/75^{b}$	44/84
حداقل تفاوت معنی‌داری Tukey		2/16	4/97



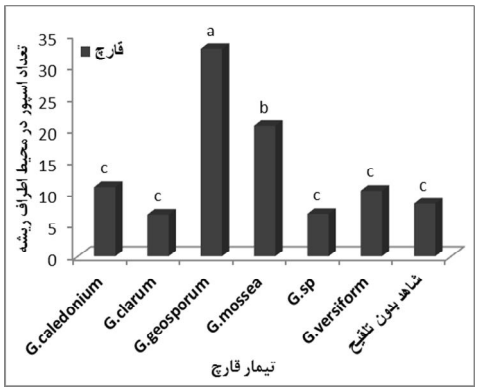
شکل 1- اثر اصلی قارچ میکوریز در تعداد پنجه



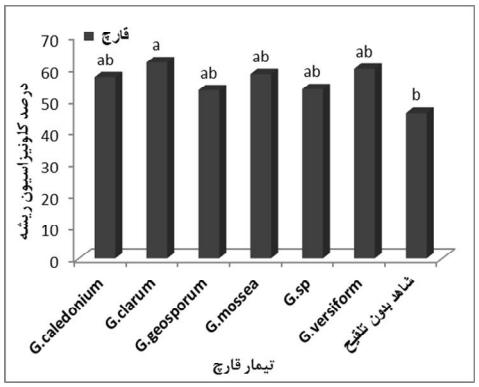
شکل 2- اثر اصلی قارچ میکوریز در وزن خشک اندام هوایی



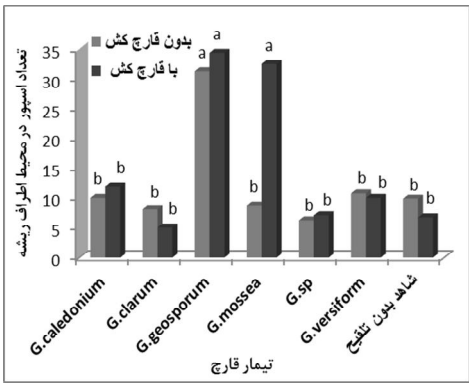
شکل 3- اثر اصلی قارچ‌کش در وزن هزار دانه



شکل 4- اثر اصلی قارچ میکوریزا در تعداد اسپور در محیط اطراف ریشه



شکل 5- اثر اصلی قارچ میکوریزا در درصد کلونیزاسیون ریشه



شکل 6- اثر متقابل قارچ میکوریزی و قارچ‌کش در تعداد اسپور تولید شده

فهرست منابع:

1. بهنیا، م. 1376. غلات سردسیری. چاپ دوم. انتشارات دانشگاه تهران
2. رجالی، ف. 1389. شناسایی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بومی اراضی زیر کشت گندم دیم و تعیین توانایی آن‌ها برای برقراری رابطه همزیستی با گیاه گندم، گزارش‌نهایی شماره 1515. موسسه تحقیقات خاک و آب.

3. رجالی، ف. ، ه. اسدی رحمانی، ک. خاوازی، ا. اصغرزاده، م. افشاری. 1389. جایگاه کودهای بیولوژیک فسفاتی و ضرورت توسعه آنها درکشاورزی ایران، اولین کنگره چالش‌های کود درایران : نیم قرن مصرف کود، 12-10 اسفند 1389، تهران.
4. علی احیایی، م. و ع. ا. بهبهانی‌زاده. 1372. شرح روش‌های تجزیه خاک (جلد اول). مؤسسه تحقیقات خاک و آب. نشریه شماره 893. تهران، ایران.
5. نصیری محلاتی، م.، ع. کوچکی، پ. رضوانی، ع. بهشتی. 1380. اگرواکولوژی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
6. Afek, U., J. A. Menge, and E.L. V. Johnson. 1990.Effect of *Pythium ultimum* and metalaxyl treatment on root length and mycorrhizal colonization of cotton, onion, and pepper. Plant Dis. 74:117-120.
7. Afek, U.,J. A. Menge, and E.L. V. Johnson. 1991. Intraction among mycorrhizae, soil solarization,metalaxyl, and plants in the field. Plant Dis. 75:665-671
8. Alexander, M. 1965. Most probable number method for microbial populations. P. 1467-1472. In: Black, C.A. (ed.) Methods of soil analysis, part 2: Chemical and microbial properties. American Society of Agronomy, Madison, WI.
9. Al-Karaki, G.N. 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza 10:51–54.
10. Allen E. B., and N. E. West. 1993. Nontarget effects of the herbicide tebuthiuron on mycorrhizal fungi in sagebrush semidesert. Mycorrhiza 3: 75-78
11. Alten, H. von, A. Lindemann, F. Schonbeck. 1993. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza by fungicides or rhizosphere bacteria. Mycorrhiza 2:167-173
12. Azcón-Aguilar, J. M. Barea, 2002. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. Scientia Horticulturae, Volume 68, Pages 1-24.
13. Bethlenfalvay, G. J. and Linderman, R. G. 1992. Mycorrhizae in sustainable agriculture. ASA special publication number 54, US.
14. Bhattarai, T. and D. Hess. 1993. Yeild responses of Nepalese spring wheat (Triticum aestivum) cultivars to inculation with Azospirillum spp of Nepalese origin. Plant and Soil 151: 67-76
15. Chen, J. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use. October 2006,16 - 20. Thailand. 11 pp.
16. Cochran, W.G. 1950. Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number" method. Biometrics 6: 105-116
17. Copman, R.H., C.A. Martin, J.C. Stutz. 1996. Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or non-saline Soils. Hortscience 31: 341-344.
18. Cordier, C., S. Gianinazzi, V. Gianinazzi-Pearson. 1996. Colonization Patterns of root tissues by phythophtora nicotianae Var Parasitica related to reduced diseade in mycorrhizal tomato. Plant and Soil 185: 223-232.
19. Dehne, H.W. 1985. Influence of pesticides on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizae. Colloq INRA 31:255-263.
20. Dehne, H.W. 1986. Untersuchungen zum Einflul von Pflanzenbehandhmgsmitteln auf das Auftreten der VA-Mycorrhiza. Meded Fac Landbouww Rijksuniv Gent 51:465-475
21. DeLorenzo, M.E., G.I. Scott, P.E. Ross. 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review. Environ Toxicol Chem 20:84-98.
22. Fang, Y.C., A.C. McGraw, M. Hakam, J.M. Hendrix. 1983. A procedure for isolating single-spore cultures of ertain endomycorrhizal fungi. New Phytol 93 : 107-114
23. Fisher, R. A. and F. Yates. 1974. Statistical tables for biological, agricultural and medical research. Oliver and Boyd, Edinburgh (Table VIII 2: 66).

24. Forster, H., H. Buchenauer and F. Grossmann. 1980. Nebenwirkungen der systemischen Fungizide Triadimenol und Triadimefon auf Gerstenpflanzen. II. Cytokininartige Effekte. Z Pflanzenkr Pflanzenschutz 87 : 640-653.
25. Gerdemann, J.W., T.H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet-sieving and decanting. Trans Br Mycol Soc 46:235-244
26. Giovannetti, M., B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.
27. Hetrick, B.A.D., and G.W.T. Wilson.1991. Effect of mycorrhizal fungus species and metalaxyl application on microbial suppression of mycorrhizal symbiosis. Mycologia 83:97-102.
28. Hogland, D.R and D.I. Arnon. 1950. The Water Culture Method for Growing Plants Without Soil. Calif.Agric.Exp.Stn.Circ.,pp.39-347
29. Jabaji-Hare, S.H., and W.B. Kendrick. 1985. Effect of fosetyl-Al on root exudation and on composition of extracts of mycorrhizal and nonmycorrhizal leek roots. Can. J. Plant Pathol. 7:118-126.
30. Jalali, B.L., K.H. Domsch. 1975. Effects of systemic fungitoxicants on the development of endotrophic mycorrhiza. p. 619-626. In: Sanders, F.E., B. Mosse and P.B. Tinker. (eds.) Endomycorrhizas. Academic Press, London New York San Francisco.
31. Kapoor, R., V. Chaudhary and A.K. Bhatnagar. 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in Artemisia annua L. Mycorrhiza 17:581-587.
32. Kelman, W. M. and C. O. Qualset. 1991. Breeding for salinity stressed Environments:Recombinant Inbred wheat line under saline irrigation. Crop Sci. 31: 1223-1228.
33. Li, T., and Z. Zhiwei. 2005. Arbuscular mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in southwest China. Applied soil Ecology 29:135-141.
34. Mark,G.L. and A.C. Cassells. 1996. Gentoype-dependence in the interaction between Glomus fasiculatum, Phytophthora fragariae and the wild Strawberry (*Fragaria Vesca*). Plant and Soil .185: 233-239.
35. Marulanda, A., R. Azcon,Rviz, J.M. Lazano. 2003. Contribution of Six arbuscular mycorrhizal fangal isolates to water uptake by *Lactuca Sativa* Plants Under drought Stress. Physiologia Plantarum 119: 1-8.
36. Nagahashi, G., D.D. Douds, J.Y. Abney. 1996. Phosphorus amendment inhibits hyphal branching of the VAM fungus Gigaspore margarita directly and indirectly through its effect on root exudation. Mycorrhiza 6 (5): 403-408.
37. Nemec, S. 1980. Effects of 11 fungicides on endomycorrhizal development in sour orange. Can J Bot 58 : 522-526.
38. Newman, E.I. 1966. A method of estimating the total length of root in a sample. Journal of Applied Ecology 3: 139-145.
39. Norris, J. R., D. J. Varma, A. K. 1994. Techniques for mycorrhizal research. Academic Press, New York.
40. Pant, H.K. and K.R. Reddy, 2003. Potential internal loading of phosphorus in a wetlands constructed in agricultural land. Water Research. 37: 965-972
41. Pattinson, G. S., D. I. Warton, R. Misman, P. A. McGee. 1997. The fungicides Terrazole and Terraclor and the nematicide Fenamiphos have little effect on root colonisation by Glomus mosseae and growth of cotton seedlings. Mycorrhiza 7: 155–159
42. Rillig, M.C., S.F. Wright, V.T. Eviner. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin Soil aggregation: Comparing effects of five plant species. Plant and Soil 238: 325-333.

43. Schwab, S.M., E.L.V. Jjohnson, and J.A. Menge. 1982. Influence of simazine on formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Chenopodium quinona* Willd.Plant Soil 64:283-287.
44. Smith S.E. and D.J. Read. 1997. Mycorrhizal Symbiosis, Academic Press. San Diego. CA.
45. Smith, F.A. and S.E. Smith. 1997. Structural diversity in Vesicular-arbuscular mycorrhizal Symbiosis. New Phytologist 137: 373-388.
46. Stevenson, F. J. 1986. Cycles of Soil Carbon, Nitrogen, Phosphours, Sulfur, Micronutrients.Wiley, New York.
47. Treseder, K.K. 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO2 in field studies. New Phytologist 164:347–355
48. Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil 255: 571-586.
49. Vig, A. C. and G. Dev. 1984. Phosphorus adsorption characteristics of some acid and alkaline soils. J. Indian Soc. Soil Sci. 32, 235-239.
50. Wu, S.C., Z.H. Cao, Z.G. Li, K.C. Cheung, and M.H. Wong. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125:155-166.

بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر شاخص‌های رشد گندم تحت تنش شوری

کبری ثقفی[1]*، جعفر احمدی، احمد اصغرزاده و اشرف اسمعیلی‌زاد

دانشجوی کارشناسی ارشد سابق دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره) و کارشناس ارشد موسسه تحقیقات خاک و آب؛ Kobra_saghafi@yahoo.com

دانشیار، عضو هیأت علمی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)؛ njahmadi910@yahoo.com

استادیار پژوهش، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب؛ a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

کارشناس ارشد میکروبیولوژی آزمایشگاه بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب؛ nobless55@yahoo.com

چکیده

با توجه به روند افزایشی توسعه اراضی شور و کمبود اراضی زراعی مطلوب برای کشاورزی شناسایی راهکارهایی که باعث افزایش مقاومت این گیاهان در برابر شرایط شور می‌شود از اهمیت زیادی برخوردار است. استفاده از باکتری‌های محرک رشد یکی از این راهکارها محسوب می‌شود. بنابراین به منظور بررسی تأثیر چند گونه از باکتری‌های محرک رشد و ترکیب این گونه‌ها در شرایط تنش شوری بر شاخص‌های رشد دو رقم گندم، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری در سه سطح (0/335 (شوری آب آبیاری به عنوان شاهد)، 6 و 14 دسی‌زیمنس بر متر (که از طریق اضافه نمودن نمک به آب با EC 335 میکروزیمنس بر مترتهیه گردید)) و فاکتور باکتریهای PGPR در هشت سطح شامل 1- (تیمار بدون باکتری به عنوان شاهد (Control)) 2- (*آزوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of*) 3- (*ازتوباکتر کروکوکوم سویه 5*) 4- (*سودوموناس فلورسنس سویه 169*) 5- (*آزوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of*+ *ازتوباکتر کروکوکوم سویه 5*) 6- (*آزوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of* + *سودوموناس فلورسنس سویه 169*) 7- (*ازتوباکتر کروکوکوم سویه5* + *سودوموناس فلورسنس سویه 169*) و 8 - (*آزوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of* + *ازتوباکتر کروکوکوم سویه 5* + *سودوموناس فلورسنس سویه 169*) در گلخانه موسسه تحقیقات خاک و آب و به روش کشت در شن (Sand Culture) انجام شد. ارقام مورد استفاده در آزماش شامل دو رقم کویر (متحمل به شوری) و قدس (حساس به شوری) بودند. نتایج نشان داد که تنش شوری تأثیر معنی‌داری برشاخص‌های مرتبط با ریشه و اندام هوایی دارد ($P<0.01$). به نحوی که با افزایش میزان شوری آب آبیاری، میانگین صفات مذکور کاهش یافت. همچنین نتایج بیانگر تأثیر معنی‌دار و مثبت باکتری‌های PGPR به ویژه ترکیب چند باکتری از جنس‌های متفاوت در شرایط شور بود ($P<0.01$). در مجموع میانگین اکثر صفات در نمونه‌هایی که بذرها به وسیله باکتری‌های ترکیبی با جنس‌های متفاوت تلقیح شده بودند بالاتر بود براساس نتایج حاصل از مقایسه بین ارقام نتایج بیانگر تأثیر بیشتر باکتری‌ها در رقم حساس بوده است. بنابراین،بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش مشخص شد که در سطوح شوری مورد مطالعه، تلقیح با باکتری‌های منتخب باعث کند شدن روند کاهش رشد در صفات مورد مطالعه می‌گردد و باکتری‌های PGPR توانستند شاخص‌های رشد گیاه را در شرایط شور به طور معنی‌داری بهبود بخشند.

واژه‌های کلیدی: *آزوسپیریلوم*، *ازتوباکتر*، تنش شوری، *سودوموناس*، گندم، مورفولوژیک

مقدمه

شوری خاک و آب از عوامل محدود کننده رشد و حاصلخیزی محصولات کشاورزی در اکثر نقاط کشور از

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: کرج، میدان استاندارد، بعد از رزکان نو، بلوار امام خمینی، موسسه تحقیقات خاک و آب کد پستی 311-31785

* دریافت: 91/9/20 و پذیرش: 92/2/5

جمله نواحی خشک و نیمه خشک می‌باشد. برابر آمار موجود، در مطالعات خاکشناسی و طبقه بندی اراضی، حدود 6/8 میلیون هکتار از اراضی کشاورزی کشور دارای خاک‌هایی با درجات مختلف شوری تشخیص داده شده است. حدود 1/1 میلیون هکتار (27/5درصد) از این اراضی دارای شوری 14 تا 16 دسی‌زیمنس بر متر و بیش از 2/4 میلیون هکتار (57 درصد) دارای شوری 16 تا 32 دسی‌زیمنس بر مترند که در این شرایط فقط تعداد معدودی از گیاهان خیلی متحمل به شوری قادر به رشد و تولید رضایتبخش هستند. (مومنی، 1389). از اینرو شناسایی و ایجاد راهکار برای گیاهان جهت رشد در مناطق شور بسیار حائز اهمیت است. شوری آب و خاک معلول، وجود مقادیر زیاد نمک بوده و اثرات تنش شوری ناشی از کاهش میزان آب در گیاه، عدم تعادل تغذیه‌ای گیاه، سمیت یون‌های سمی مانند Na^+ و Cl^- و تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] می‌باشد (کافی و همکاران، 1379). برای مقابله با تنش شوری روش‌های مختلفی از جمله آبشویی خاک‌های شور، مدیریت مناسب آبیاری و کشت، استفاده از ارقام گیاهی مقاوم به شوری، دست‌ورزی ژنتیکی و شناسایی و استفاده ازراهکارهای بیولوژیک یعنی استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه جهت تلقیح بذر یا گیاهچه برای تسهیل رشد گیاهان در خاک‌های شور می‌باشد (باسیلیو و همکاران 2004؛ مایاک و همکاران، 2004 الف و ب). در سال‌های اخیر به دلیل مشکلات اقتصادی ناشی از افزایش رو به رشد بهای کودهای شیمیایی از یک سو و مسائل زیست محیطی مرتبط با مصرف غیر اصولی این کودها از قبیل ایجاد آلودگی‌های محیطی، افت سطح حاصلخیزی خاک و کاهش کیفیت محصولات از سوی دیگر، محققان را بر آن داشته تا در پی شناسایی و استفاده از راهکارهای بیولوژیک با استفاده از بیوتکنولوژی میکروبی در جهت حل این معضلات باشند. قرار گرفتن ایران در اقلیم گرم و خشک و شور و قلیایی بودن درصد بالایی از زمین‌های زراعی کشور ضرورت استفاده از راهکارهای بیولوژیک را بیش از پیش نمایان می‌سازد (ICID, 2002).

گیاهان در مواجهه با تنش شوری همانند سایرتنش‌های دیگر نظیر سرما، گرما، فلزات سنگین از طریق افزایش سطح هورمون اتیلن به تنش‌های محیطی و بیولوژیکی پاسخ می‌دهند. اتیلن در خاک توسط مکانیسم‌های زیستی و غیر زیستی تولید می‌شود. (کلوپر، 2003) تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های ریزوسفری می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن در گیاهان در هنگام بروز تنش جلوگیری نموده و سبب کاهش اثرات منفی این هورمون در رشد و توسعه اندام‌های گیاهی به ویژه ریشه شوند. باکتری‌های PGPR[2] از طریق تولید آنزیم ACC– دآمیناز[3] میزان تولید اتیلن را تنظیم می‌کنند. این آنزیم به صورت غیر مستقیم و عمدتاً از طریق کاهش سطح اتیلن تنشی در گیاه باعث تداوم رشد گیاه می‌گردد (گریکو و گلیک، 2001).

همچنین محققان زیادی با مطالعه و بررسی تأثیر سویه‌های مختلف PGPR بر تعدیل اثرات تنش شوری، در انواع گیاهان (شوکلا و همکاران، 2011) گیاه Arachis hypogaea و (ژانگ و همکاران، 2006) بر سویا، (چنگ و همکاران، 2007) گیاه کلزا، (مایاک و همکاران، 2003) بر رو ی گیاه گوجه‌فرنگی و کلزا، (نادیم و همکاران، 2007) بر روی گیاه ذرت، (هان ولی، 2005) کاهو، (مارسلی و همکاران، 1999) گیاه تربچه (مسلمی و همکاران، 2011) گیاه ذرت و (ساراوانکومر و سامیاپن، 2007) گیاه بادام زمینی)). توانایی سویه‌های مختلف را در افزایش مقاومت به تنش‌ها را به کاهش فعالیت اتیلن توسط آنزیم ACC deaminase در این باکتری‌ها نسبت داده‌اند.

مکانیسم اثر گذاری باکتری بر تعدیل اثرات مضر ناشی از تنش می‌تواند متأثر از سایر ویژگی‌های باکتری نیز باشد باکتری‌ها همچنین با تولید انواع متابولیت‌های میکروبی مانند اکسین، جیبرلین، سیتوکنین و ... مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه و در نتیجه جذب آب و مواد غذایی را تغییر می‌دهند. از طرفی این باکتری‌ها با ترشح انواع آنتی بیوتیک ها، سیانید هیدروژن، سیدروفور و آنزیم‌های لیتیک قادر به کنترل برخی از عوامل بیماری-زای ریشه هستند

دوبلاری و همکاران (2003) مشاهده کردند که تلقیح گیاهان با انواع باکتری‌هایی که توانایی تولید اکسین را داشته‌اند در مقایسه با شاهد، ریشه‌های بلندتر، تارهای کشنده طویل‌تر و انشعابات ریشه فرعی بیشتری را درپی داشته است. کاهش رشد می‌تواند در اثر تغییر در توازن تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (فیتو هورمون‌ها) در اثر تنش باشد. تحت شرایط نامساعد محیطی سطوح درونزای فیتو-هورمون‌ها دچار تغییرات اساسی می‌شود و برخی از سویه‌های PGPR قادرند از طریق دخالت در غلظت فیتوهورمون‌های شناخته شده، رشد و نمو گیاهان را افزایش دهند. این فیتوهورمون‌ها روی الگوی رشد ریشه گیاه تأثیر گذاشته و باعث تولید ریشه‌های بزرگتر، با

1. Reactive Oxyegen Species

2. Plant Growth Promoting Bacteria

3. ۱ aminocyclopropane-1-carboxylate

انشعابات و سطح مؤثر بیشتر می‌گردد. بنابراین تیمار گیاهان با باکتری‌های محرک رشد که مولد تنظیم‌کننده‌های رشدی هستند به عنوان یک عامل متقابل روی گیاهان متأثر از تنش می‌تواند روشی ممکن جهت بهبود اثرات تنش‌های محیطی غیر زیستی شود.

تأثیر تلقیح با سویه‌هایی متفاوت از باکتری سودوموناس، در افزایش شاخص‌های رشد از طریق شاخص‌های فیزیولوژیکی نظیر میزان آب نسبی برگ و پتانسیل آب برگ در سطوح مختلف شوری، در گیاه کلزا توسط (جلیلی و همکاران، 2009) گزارش شده است. آنان عنوان کردند که باکتری‌های PGPR گیاه را جهت تولید متابولیت‌های سازگار ترغیب نموده، در نتیجه با افزایش پتانسیل اسمزی در داخل گیاه شرایط برای جذب آب در محیط شور فراهم می‌شود. عمو آقایی و همکاران (1384) در تحقیقی برای اثر آزوسپریلوم در شرایط شور بر عملکرد گندم، تجمع مواد تنظیم کننده اسمتیک نظیر پرولین و گلایسین بتائین رادر بالا بردن تحمل به شوری در هر سویه را علت مقاومت به شوری بیان کرده‌اند و گزارش کردند که در شرایط تنش رطوبتی، گیاهچه ذرت تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم به طور قابل توجهی غلظت پرولین بالاتری نسبت به تیمار کنترل (بدون تلقیح) نشان داد. همچنین بسیاری از تنش‌های محیطی باعث می‌شوند که گونه‌های اکسیژن فعال بیش از ظرفیت دفاعی سیستم طبیعی گیاه تولید شده و باعث خسارت به گیاه شود (پان و همکاران، 2006). گزارش کردند باکتری‌ها با تغییر در مکانیزم دفاعی گیاه سبب پاکسازی یا کاهش رادیکال‌های مخرب اکسیژن شده واز میزان خسارت ناشی از اثرات مضر تنش جلوگیری می‌کند

بنابراین با توجه به گستردگی قابل تأمل خاک-های شور در ایران و نظر به جایگاه و اهمیت گندم به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات استراتژیک و با توجه به اهمیت موضوع و ضرورت به کارگیری روش‌های مناسب برای کاهش اثرات شوری و از آنجا که تحقیقات در زمینه اثرکاربرد کودهای بیولوژیک مخصوصاً به صورت ترکیبی از باکتری‌های PGPR بسیار محدود بوده است، این تحقیق با هدف بررسی اثر کودهای بیولوژیک مختلف در فرمولاسیون‌های ترکیبی و منفرد در شرایط شور بر دو رقم حساس و مقائم به شوری گندم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال 1389 در آزمایشگاه بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک وآب و گلخانه آن مؤسسه در کرج به مورد اجرا در آمد. آزمایش به روش کشت در شن (Sand Culture) انجام شد. تهیه بستر کشت ماسه مورد نیاز از سواحل دریای مازندران تهیه شد و جهت کاهش هدایت الکتریکی ناشی از نمک-های رسوب کرده بر روی ذرات ماسه و جلوگیری از افزایش pH ناشی از محلولیت نمک‌ها، آب‌شویی و اسید-شویی با استفاده از محلول 10 درصد اسید کلریدریک رقیق انجام شد. پس از هر نوبت اسیدشویی سه مرتبه با آب معمولی آب کشی شدند در نهایت پس از خشک شدن، ماسه‌ها در آون با دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 4 ساعت استریل گردیدند. گندم مورد نیاز برای انجام آزمایش از بخش غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردید. بذرها با استفاده از الکل 96 درصد به مدت یک دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم با 1/5 درصدکلر فعال به مدت 5 دقیقه استریل سطحی شده و به منظور حذف سمیت هیپوکلریت سدیم بذرها با استفاده از آب مقطر استریل 10 بار آبکشی شدند.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با دو فاکتور و در سه تکرار و برای هر یک از ارقام به طور جداگانه در شرایط کاملاً مشابه انجام شد. فاکتور یک: شامل تنش شوری در سه سطح (0/335 (شوری آب آبیاری به عنوان شاهد)، 6 و 14 دسی‌زیمنس بر متر (که از طریق اضافه نمودن نمک به آب با EC 335 میکروزیمنس بر متر تهیه گردید)) و فاکتور باکتری‌های PGPR در هشت سطح شامل 1- (تیمار بدون باکتری به عنوان شاهد (Control)) 2-(*ازوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of-*) 3- (*ازتوباکتر کروکوکوم* سویه *5*) 4- (*سودوموناس فلورسنس* سویه *169*) 5- (*ازوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of* + *ازتوباکتر کروکوکوم* سویه *5*) 6- (*ازوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of* + *سودوموناس فلورسنس* سویه *169*) 7- (*ازتوباکتر کروکوکوم* سویه *5* + *سودوموناس فلورسنس* سویه *169*) و 8 - (*ازوسپیریلوم لیپوفروم* سویه *of* + *ازتوباکتر کروکوکوم* سویه *5* + *سودوموناس فلورسنس* سویه *169*) در این آزمایش از ارقام گندم هگزاپلوئید (*Triticum aestivum* L.)قدس (حساس به شوری) و کویر (متحمل به شوری) استفاده شد

برای تهیه مایه تلقیح ابتدا یک لوپ از جدایه باکتری مورد نظر به طور اسپتیک به ارلن‌های100 میلی‌لیتری حاوی 50 میلی‌لیتر محیط کشت عمومی[1] (*NB*) انتقال داده شد و به منظور رشد سوسپانسیون مورد نظر روی شیکر –انکوباتور به مدت 48 ساعت قرار داده شد. مایه تلقیح‌های ترکیبی نیز از ترکیب مایه تلقیح‌های اصلی با نسبت‌های یکسان در ارلن‌هایی که از قبل استریل شده

[1] Nutrient Broth

بود تهیه و استفاده شد. برای کشت باکتری‌ها رقت‌های 10^{-4} تا 10^{-7} انتخاب گردید. مقدار یک دهم میلی‌لیتر از هر رقت به تعداد دو تکرار به پلیت‌های خالی حاوی محیط کشت اختصاصی هر باکتری منتقل شد. محیط کشت اختصاصی مورد نظر برای رشد باکتری *ازتو باکتر LG*، برای *آزوسپریلوم* [1] *RC* و برای *سودوموناس* [2] *KB* بود. قبل از تلقیح، تراکم جمعیت باکتری‌ها به روش شمارش کلونی تعیین گردید به طوری که در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح 10^8سلول باکتری وجود داشت

جهت آغشته کردن بذرهای مربوط به هر تیمار با مایه تلقیح باکتریایی از ماده چسباننده صمغ عربی برای چسبندگی بهتر بذرها استفاده شد. پس از آماده سازی، بذور هر رقم با باکتری‌های مورد نظر تلقیح شده، و بر روی پتری‌دیش‌های حاوی آب-آگار یک درصد پخش و در داخل انکوباتور در دمای 27 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت جوانه‌دار شدند. برای کاشت بذرها از گلدان-های پلاستیکی به ارتفاع 30 سانتی‌متر با قطر دهانه 25 سانتی‌متر استفاده شده و به هر گلدان 4/5 کیلوگرم ماسه اضافه شد. در هر گلدان تعداد 15 بذر جوانه زده در عمق 2 سانتی‌متری و با فواصل مساوی کاشته شدند. یک هفته بعد از کشت جهت آبیاری گلدان‌ها و به منظور تأمین نیازهای غذایی از محلول غذایی هوگلند[3] استفاده شد. این محلول هفته‌ای 3 بار به مقدار توصیه شده و متناسب با تعداد گلدان‌ها تهیه و پس از تنظیم pH تا حد رطوبت Fc[4] به گلدان‌ها اضافه شد. آبیاری و تغذیه گیاهان تا آغاز مرحله سه برگی توسط محلول غذایی هوگلند (تایز و زایگر، 2002) فاقد شوری و پس از مرحله سه برگی با اعمال تیمارهای شوری بود. برای جلوگیری از وارد شدن شوک به گیاهان، تیمارهای شوری به صورت تدریجی اعمال گردید. هم چنین به منظور اطمینان از حصول شوری مورد نظر هر هفته یک بار هدایت الکتریکی آب زیر گلدانی اندازه‌گیری می‌شد.

پس از اتمام دوره رشد، گیاهان از سطح خاک قطع شده و سپس شاخص‌های رشد، پارامترهای مربوط به اندام هوایی (شامل وزن تر و خشک و ارتفاع اندام هوایی) و همچنین پارامترهای مربوط به ریشه (شامل وزن تر و خشک، حجم، طول و سطح ریشه) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش جهت اندازه‌گیری حجم ریشه، پس از برداشت ابتدا جهت سهولت جداسازی ریشه‌ها از گلدان‌ها، هر یک از گلدان‌ها به مدت یک ساعت در ظرفی حاوی آب قرار داده شده و پس از آن عمل جدا سازی و شستشوی ریشه‌ها انجام گردید. سپس ریشه‌ها در استوانه‌ای مدرج با حجم معین آب قرار داده شد. میزان افزایش حجم آب در استوانه مدرج پس از قرار گرفتن ریشه در آن به عنوان حجم ریشه ثبت گردید اندازه‌گیری وزن‌تر ریشه پس از اندازه‌گیری حجم انجام شد به و با ترازو وزن تر هر یک از ریشه‌ها تعیین شد. برای سنجش وزن خشک ریشه و اندام هوایی نمونه-ها در آون با دمای 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت خشک شده و با ترازوی با دقت 0/01گرم توزین شدند. طول ریشه‌ها با رابطه زیر براورد گردید (نیومن، 1966).

طول ریشه (cm) = [وزن ریشه (mg)] × 0/89

همچنین برای اندازه‌گیری سطح ریشه از رابطه اتکینسون به شرح زیر استفاده شد (بهن، 1979).

سطح ریشه (m^2) = 2[حجم ریشه(m^3) × طول ریشه (cm) × π]$^{0/5}$

داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار9.2 SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال مربوطه انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزارExcel 2007 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس برای صفات وزن تر وخشک ریشه و اندام هوایی و همچنین حجم، طول و سطح ریشه برای هر دو رقم قدس و کویر درجدول شماره 1 ارائه شده است. برای هر دو رقم اثرات اصلی فاکتور شوری و باکتری در سطح احتمال ($P\leq0.01$) معنی‌دار گردید. هر چند در نتایج تجزیه واریانس صفات اثر متقابل شوری × باکتری برای تعدادی از صفات تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد، اما مقایسه میانگین اثر متقابل با آزمون دانکن تیمارها را از لحاظ آماری در گروه‌های غیر یکسان قرار داد.

اثر فاکتور شوری بر صفات مورد بررسی

نتایج مقایسه میانگین (جدول 2) برای صفات مورد بررسی بیانگر این بود که با افزایش سطح شوری، مقدار حجم ریشه، طول و سطح ریشه و همچنین وزن‌تر و خشک ریشه و وزن‌تر و خشک اندام هوایی کاهش می-یابد به این ترتیب که با افزایش غلظت نمک تیمار شاهد (غیرشور) به تیمار با شوری 14 دسی‌زیمنس بر متر شاهد مقدار کاهش در: حجم ریشه در رقم قدس30 درصد و در رقم کویر17درصد، در وزن تر ریشه در رقم قدس35 درصد و در رقم کویر 28 درصد و مقدار کاهش در وزن خشک ریشه در رقم قدس 36 درصد و در رقم کویر 33

---

1. Rejo-Congo
2. King-B
3. Hogland
4. Field Capacity

درصد بود. با افزایش غلظت نمک به ترتیب 39 و 34 درصد کاهش در وزن‌تر اندام هوایی و 29 و 21 درصد کاهش در وزن خشک اندام هوایی در ارقام قدس و کویر مشاهده شد. تنش شوری سبب کاهش در ارتفاع گیاهان شده و متوسط مقدار کاهش در ارتفاع گیاهان با افزایش غلظت نمک در رقم قدس 28 درصد و در رقم کویر 18 درصد بود. همچنین نتایج نشان داد که سطح و طول ریشه نیز از اثرات سوء نمک در محیط کشت متأثر شده و به طور متوسط مقدار کاهش درسطح و طول ریشه در رقم قدس و کویر به ترتیب 16 و 13درصد بود

نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شوری تمام صفات مورد مطالعه کاهش معنی‌داری داشتند به عبارتی شوری با شاخص‌های رشد رابطه معکوس داشت. کاهش شاخص‌های رشد در ریشه از جمله طول ریشه با افزایش غلظت نمک به دلیل ارتباط مستقیم ریشه با نمک می‌باشد. اندام ریشه چون بیشتر از سایر اندام‌ها در معرض تماس نمک می باشد به عنوان یک فیلتر عبور یون‌ها را کنترل کرده و نسبت مطلوب یون‌های سدیم و پتاسیم را برای فعالیت‌های سلول فراهم می‌سازد (کافی و همکاران، 1379). در این مطالعه کاهش وزن تر و خشک ریشه و ساقه در هر دو ژنوتیپ قدس و کویر کاملاً مشهود بود. یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش شاخص‌های رشد در اثر افزایش شوری را می‌توان به کاهش پتانسیل اسمزی و در نتیجه کاهش انرژی آب آزاد دانست.

(روند تغییر در صفات مختلف در سطوح مختلف شوری در نمودارهای شکل 1 نشان داده شده است).

اثر فاکتور باکتری بر صفات مورد بررسی

نتایج تجزیه واریانس (جدول 1) در مورد کلیه صفات مورد مطالعه تأثیر معنی‌دار فاکتور باکتری بر صفات در سطح احتمال ($P\leq0/01$) را نشان داد. همچنین نتایج مقایسه میانگین (جدول 3)، گروه‌بندی تیمارهای باکتری در مورد صفات تحت بررسی و میزان تغییر ایجاد شده در اثر تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد که سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار در هر دو رقم نسبت به شاهد (عدم تلقیح با باکتری) شده است را نشان داد.

منحنی روند تغییر در شاخص‌های مورد مطالعه در اثر تلقیح با باکتری نسبت به شاهد (عدم تلقیح با باکتری) در نمودارهای شکل 2 نشان داده شده است).

اثر متقابل شوری و باکتری در صفات مورد بررسی

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیب باکتری با سطوح شوری در جدول شماره 4 ارائه شده است. در اکثر صفات مورد بررسی تیمارها در گروه آماری متفاوتی قرار گرفتند و تلقیح با باکتری تا حد زیادی سبب تعدیل اثرات مخرب ناشی از تنش در کلیه صفات مورد بررسی گردید.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها ملاحظه شد که کاربرد باکتری‌ها به صورت تیمارهای مرکب باکتری‌ها از چند جنس دارای تأثیر بیشتری در افزایش شاخص‌های رشدی و تعدیل شرایط تنش بوده است اثرات هم افزایی متقابل کاربرد ترکیبی این باکتری‌ها دلیل افزایش شاخص‌های رشد در تیمارهای ترکیبی می‌باشد. به نظر می‌رسد که تلقیح بذور گیاهان با باکتری‌های محرک رشد با افزایش رشد ریشه‌ها باعث افزایش فراهمی آب و مواد غذایی شده و رشد رویشی و زایشی گیاه را افزایش داده و باعث افزایش شاخص‌های رشد و نهایتاً عملکرد محصولات می‌گردد (حمیدی و همکاران، 1389).

کاربرد باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم به صورت ترکیبی با باکتری سودوموناس در این آزمایش ضمن داشتن قابلیت تحریک رشد گیاه به علت اثرات سینرژیستی باکتری‌ها بر روی یکدیگر باعث بهبود مضاعف رشد گیاه می‌شوند (رخزادی و همکاران، 1389). (آگامبردیوا، 2009) نیز در مطالعه‌ای افزایش 52 درصدی رشد ریشه گندم در اثر تلقیح *Pseudomonas aureantiaca* TSAU22, *Pseudomonas extremorientalis TSAU*6 و *Pseudomonas extremorientalis TSAU20* با توان تولید آنزیم ACC دآمیناز را مشاهده کردند و کلونیزاسیون ریشه که باعث تولید فیتوهورمون‌ها می‌شود را عامل سازگاری گیاهان در شرایط شور اعلام کردند. همچنین (رودلاس و همکاران، 1999) عنوان کردند علاوه بر اثرات انفرادی باکتری‌های محرک رشد، تحریک رشد گیاه می‌تواند به وسیله تلقیح دوگانه با سایر میکروارگانیسم‌ها به واسطه اثرات سینرژیستی یا تشدیدکنندگی بهبود یابد. (تیلاک و همکاران، 1982) نیز اثرات تلقیح توأم *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* را در تولید زیست‌توده خشک ذرت و سورگوم را مثبت و معنی‌دار گزارش کردند. (رای و گاور، 1988) در یک آزمایش گلدانی اثرات منفرد و توأم *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* را بر رشد و عملکرد گندم مورد مطالعه قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که تأثیر توأم این دو باکتری بیشتر از اثر منفرد هر یک از آنها است.

نتایج حاصله از این آزمایش در مورد هر دو رقم قدس و کویر بیانگر تأثیر متفاوت کارایی جدایه‌های مختلف بر شاخص‌های رشدی گندم بود. به همین دلیل برای استفاده از پتانسیل مفید این باکتری‌ها در تحریک رشد و نمو گیاهان، تحقیق برای انتخاب سویه‌های برتر کاملاً ضرورت دارد. همچنین نتایج این تحقیق بیانگر الزام

دقت عمل در استفاده از سویه‌های مناسب برای ارقام مختلف و یا در مناطق مختلف بوده و ضرورت تحقیق برای یافتن سویه‌های هومولوگ با هر رقم زراعی و نیز سازگار با شرایط اقلیمی برای افزایش کارایی باکتری‌ها را در شرایط شور یا سایر شرایط نشان می‌دهد. (بهاتاری و هس ،1993) اعلام کرده‌اند که هر نوع سویه با رقم خاصی از گندم سازگاری دارد و تعبیر رقم همولوگ و سویه را به کار برده‌اند. (یوان و اسکروت، 1986) نیز در گزارش آزمایش تلقیح گیاهان زینتی با سویه‌های مختلف سودوموناس فلورسنس و افزایش رشد بوسیلهٔ سویهٔ E6 عنوان کردند.

نتایج این آزمایش نشان داد شوری باعث تأخیر و اختلال در رشدگردیده است ولی تیمار بذر با باکتری-های محرک رشد سبب خنثی کردن شرایط ناشی از تنش شده و سبب تقویت صفات مرتبط با رشد گردیده است.بنابراین می‌توان گفت باکتری‌ها نقش مؤثری در القای تحمل به شوری و برطرف نمودن محدودیت‌های ایجاد شده توسط این تنش محیطی از قبیل اثرات اسمزی، سمیت یونی و عدم تعادلات تغذیه‌ای را دارد. نتیجه قابل توجه دیگرکه در بررسی اثرات باکتری‌ها به وضوح قابل مشاهده است تأثیر ناچیز و یا کم سویه منتخب باکتری ازتو باکتریا سویه‌های ترکیب شده با این سویه، مخصوصاً در رقم کویر، در تعدیل اثرات تنش شوری در برخی صفات است بنابراین به نظر می‌رسد شاید بتوان این مسئله را به سازگاری سویه با رقم نسبت داد. و اینگونه عنوان کرد که هر نوع سویه با رقم خاصی از گندم ساز گاری دارد و تعبیر رقم همولوگ و سویه را به کار برد. نتایج این تحقیق همچنین بیانگر الزام در دقت عمل، در استفاده از سویه‌های مناسب برای ارقام مختلف و در مناطق مختلف می‌باشد و ضرورت تحقیق برای یافتن سویه‌های هومولوگ با هر رقم زراعی و نیز سازگار با شرایط اقلیمی، برای کارایی بهتر باکتری‌ها را در شرایط شور یا سایر شرایط نشان می‌دهد.

ضرایب همبستگی ساده پیرسونی

بررسی ضرایب همبستگی ساده پیرسونی بین شاخص‌های رشد در هر دو رقم قدس و کویر به تفکیک در جدول شماره 6 ارائه شده است.

بررسی این ضرایب در هر دو رقم مشخص ساخت که در داخل هر رقم بین کلیه صفات همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. در رقم کویر بیشترین ضریب همبستگی بین وزن خشک ریشه با وزن تر ریشه (0/94)، وزن تر اندام هوایی (0/94) و وزن خشک اندام هوایی (0/92) و در رقم قدس بین وزن تر ریشه با وزن خشک اندام هوایی (0/96) و حجم ریشه (0/94) مشاهده شد. به طورکلی با توجه به همبستگی صفات ریشه‌ای با سایر صفات مورفولوژیکی می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که باکتری‌های محرک رشد مورد بررسی در این پژوهش احتمالاً با ساز و کار تولید هورمون‌های گیاهی تحریک کننده رشد سبب افزایش رشد و نمو و توسعه ریشه شده و جذب آب و عناصر غذایی افزایش یافته و در نتیجه موجب افزایش رشد گیاه و اندام هوایی در ارقام مورد بررسی شده است. تقویت رشد اندام هوایی گیاهان تحت شرایط تنش توسط باکتری‌ها می‌تواند مربوط به افزایش جذب آب به خاطر افزایش نفوذ پذیری غشاء و یا به خاطر افزایش دسترسی ترکیبات آلی محلول باشد که در نتیجه تراوش ریشه گیاه تولید می‌شود. ریشه‌ها، ترکیبات قابل حل در آب مانند اسیدها، قندها و اسیدهای آلی را آزاد می‌کنند که به مصرف میکروارگانیسم می‌رسند. در حقیقت، میکروارگانیسم‌های تراوشات ریشه را از طریق تولید هورمون‌های گیاهی و یا به طور مستقیم به وسیله آسیب فیزیکی ریشه‌ها افزایش می‌دهند. اگر چه با اطمینان نمی‌توان گفت که کدامیک از این شاخص‌ها کاملاً با تحمل به شوری همبستگی دارد، ولی این شاخص‌ها درجات مختلفی از همبستگی با تحمل به شوری را نشان می‌دهند.

جدول 1- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک مورد بررسی در ارقام قدس و کویر تحت تنش شوری و تیمارهای باکتری

رقم	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
			ریشه						اندام هوایی	
			حجم ریشه(m^3)	وزن تر ریشه ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک ریشه ($g.plant^{-1}$)	طول ریشه (mm)	سطح ریشه (cm^2)	ارتفاع ساقه (cm)	وزن تر اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)
قدس	باکتری	7	6/364**	17.29**	2/16**	171/31**	120/88**	164/42**	4/48*	2/36
	شوری	2	45/64**	124/49**	17/35**	2786/56**	1966/25**	1386/27**	87/93**	17/67**
	شوری× باکتری	14	0/742ns	0/87 ns	0/358 ns	28/43*	20/06**	75/05 ns	0/52 ns	0/152 ns

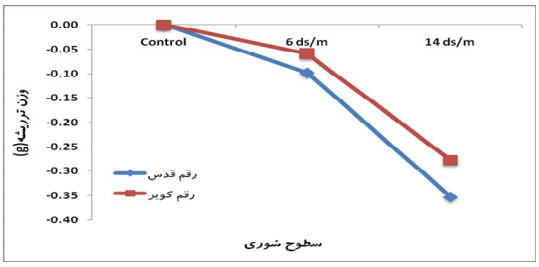
	خطا	48	1/94	3/06	0/894	7/19	10/23	71/23	2/89	1/04
	ضریب تغییرات		18/42	16/18	19/36	5/43	7/72	17/86	21/41	20/42
	باکتری	7	8/49**	15/28**	5/44**	431/08**	1674/12**	331/42**	14/98**	4/35**
	شوری	2	20/19**	72/59**	29/95**	2372/57**	304/18**	682/79**	86/53**	12/17**
کویر	شوری×باکتری	14	1/44 ns	2/07 ns	0/246 ns	19/56*	13/80*	20/01 ns	0/69 ns	0/171 ns
	خطا	48	2/45	2/95	0/53	6/79	5/06	63/65	2/43	0/96
	ضریب تغییرات		14/6	16/27	13/17	5/16	5/3	15/45	16/96	17/72

* و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5% و 1% و غیر معنی‌دار

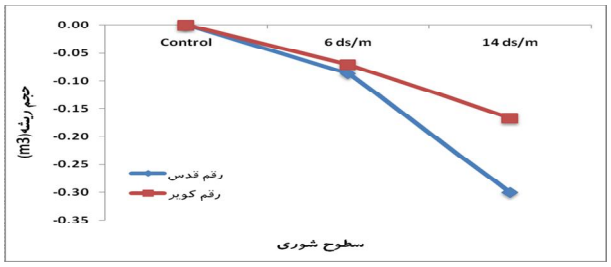
جدول 2- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک مورد بررسی در سه سطح شوری در ارقام قدس و کویر با آزمون دانکن

رقم	سطوح شوری	ریشه							اندام هوایی		
		حجم ریشه (m^3)	وزن تر ریشه ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک ریشه ($g.plant^{-1}$)	طول ریشه (mm)	سطح ریشه (cm^2)	ارتفاع ساقه (cm)	وزن تر اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)
قدس	شاهد (آب غیر شور)	8/93 a	12/50 a	6/60a	58/69 a	49/30 a	54/10a	9/59 a	5/77 a
	6 دسی زیمنس بر متر	8/16 a	11/28 b	5/81 b	51/70 b	43/43 b	48/54 b	8/38 b	5/31 b
	14 دسی زیمنس بر متر	6/25 b	8/09 c	4/22 c	37/54 c	31/53 c	39/07 c	5/84 c	4/10 b
کویر	شاهد (آب غیر شور)	10/66 a	11/89 a	6/55 a	58/31 a	48/98 a	57/37 a	11/17 a	5/99 a
	6 دسی زیمنس بر متر	9/91 a	11/20 a	6/04 b	53/74 b	45/14 b	50/59 b	9/02 b	5/89 b
	14 دسی زیمنس بر متر	8/88 b	8/59 b	4/41 c	27/39 c	96/32 c	46/84 b	7/38 c	4/71 b

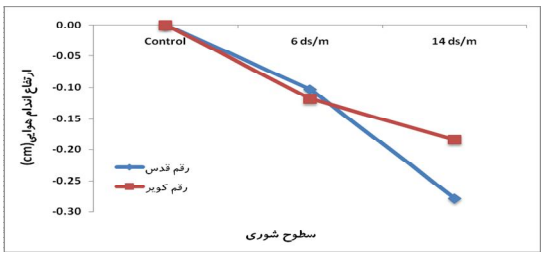
در هر ستون و برای هر صفت میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.



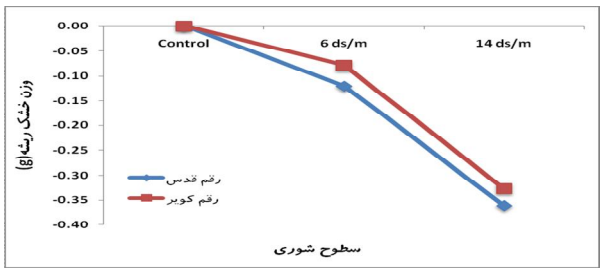
(الف)



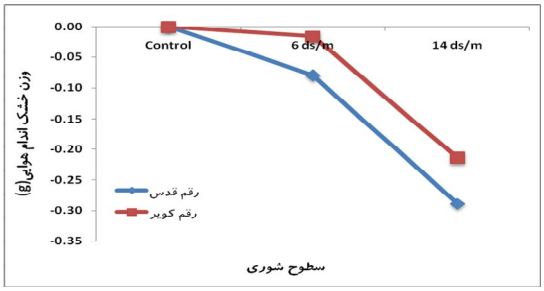
(ب)



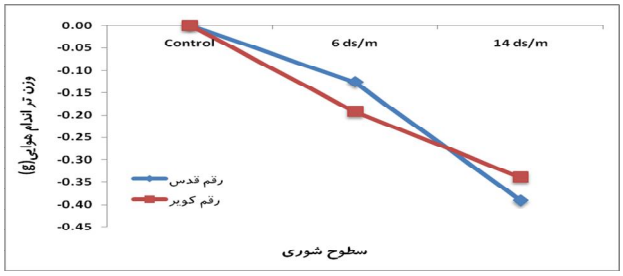
(پ)



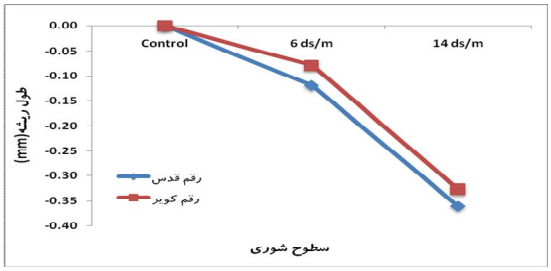
(ت)



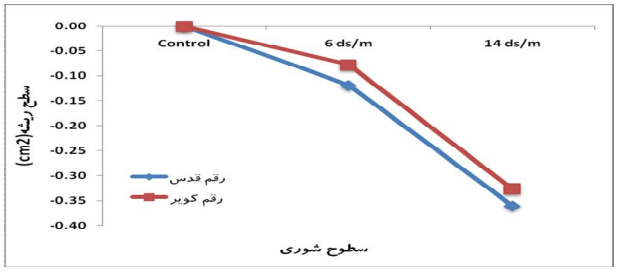
(ث)



(ج)



(چ)



(ح)

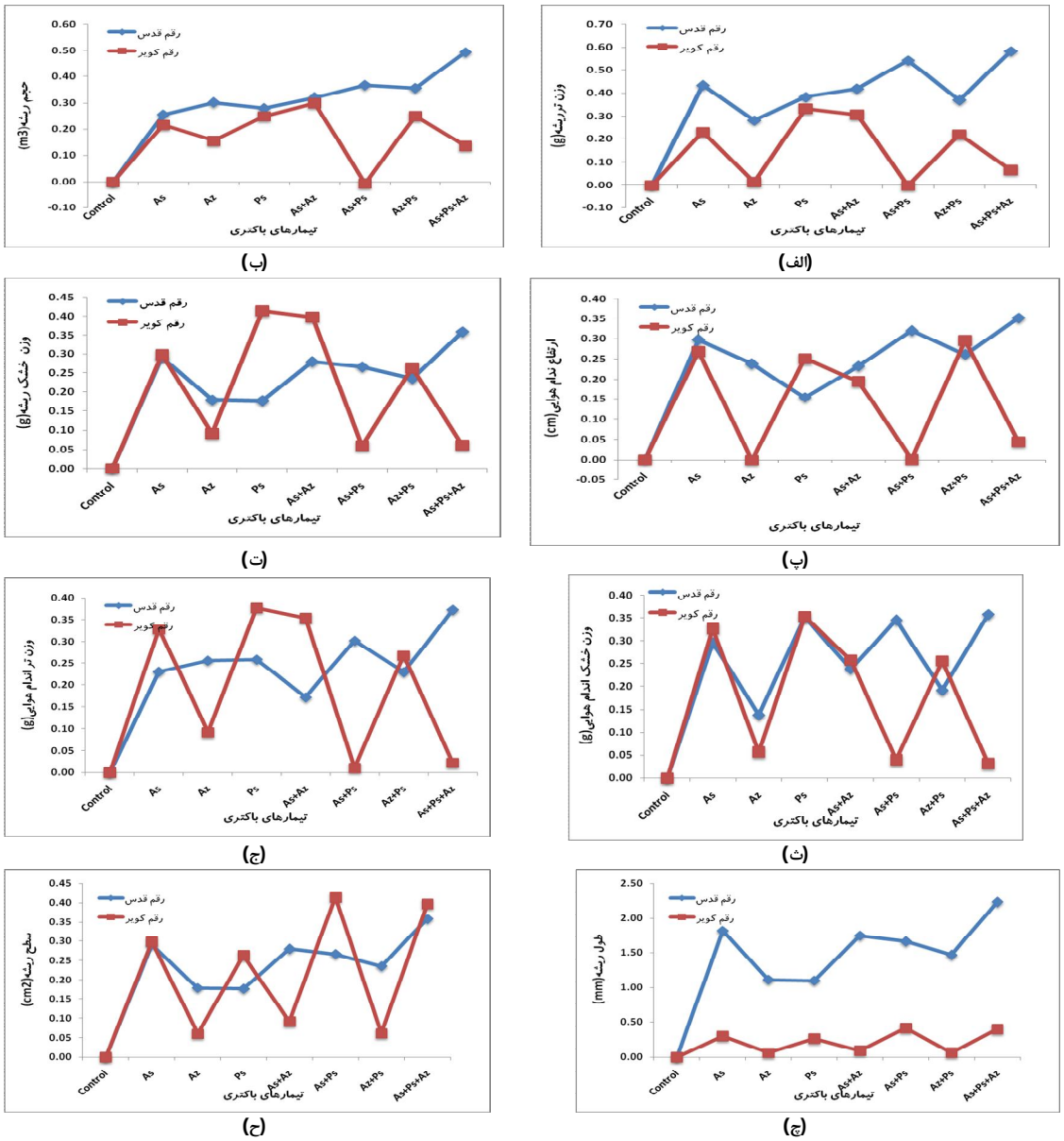
شکل 1- درصد و روند تغییرات تیمارهای مختلف شوری نسبت به شاهد

(الف) وزن تر ریشه، (ب) حجم ریشه، (پ) ارتفاع اندام هوایی ، (ت) وزن خشک ریشه، (ث) وزن خشک اندام هوایی، (ج) وزن تر اندام هوایی، (چ) سطح ریشه (ح) طول ریشه

جدول 3- مقایسه میانگین بین تیمارهای باکتریایی مورد بررسی در ارقام قدس و کویر با آزمون دانکن

رقم	باکتری	ریشه						اندام هوایی		
		حجم ریشه(m^3)	وزن تر ریشه ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک ریشه ($g.plant^{-1}$)	طول ریشه (mm)	سطح ریشه (cm^2)	ارتفاع ساقه (cm)	وزن تر اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)
قدس	*Control*	6/00b	7/72c	4/53b	40/32d	33/86d	38/36d	6/47b	4/08b
	As(of)	7/53a	11/06ab	5/85a	52/03b	43/71ab	76/49a	7/95ab	5/29a
	Az(5)	7/81a	9/89b	5/34ab	47/52c	39/92c	47/49b	8/12ab	4/65b
	Ps(169)	7/68a	10/67ab	5/33ab	47/43c	39/84c	44/24c	8/14ab	5/51a
	As+Az	7/92a	10/95ab	5/80a	51/59b	43/33ab	47/26bc	7/58ab	5/05ab
	As+Ps	8/20a	11/90a	5/74a	51/05b	42/88ac	50/61a	8/42a	5/49a
	Az+Ps	8/13a	10/57ab	5/60a	49/81bc	41/84bc	48/38b	7/95ab	4/86ab
	As+Ps+Az	8/96a	12/22a	6/15a	54/76a	46/01a	58/81a	8/88a	5/54a
کویر	*Control*	8/44b	9/22c	4/73b	42/09d	35/36d	45/60c	8/78c	4/74c
	As(of)	10/27a	11/33ab	6/14a	54/64b	45/90b	57/83a	10/33a	6/29a
	Az(5)	8/39b	9/20c	5/01a	44/61cd	37/48cd	46/62c	7/86c	4/93c
	Ps(169)	10/56a	11/23ab	5/98a	53/19b	44/68b	59/09a	9/86ab	5/96ab
	As+Az	9/75ab	9/34c	5/16a	45/95c	38/60c	45/52c	8/49bc	5/01bc
	As+Ps	10/55a	12/29a	6/69a	59/54a	50/01a	57/06a	10/71a	6/42a
	Az+Ps	9/59ab	9/83c	5/02b	44/67cd	37/53cd	47/59bc	7/95c	4/89c
	As+Ps+Az	10/98a	12/04a	6/61a	58/82a	49/41a	54/48ab	10/53a	5/96b

در هر ستون و برای هر صفت میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.



شکل 2- درصد تغییرات در تیمارهای مختلف باکتری نسبت به شاهد (بدون تلقیح با باکتری)

(الف) وزن تر ریشه، (ب) حجم ریشه، (پ) ارتفاع اندام هوایی، (ت) وزن خشک ریشه،(ث) وزن خشک اندام هوایی (ج) وزن تر اندام هوایی (ح) سطح ریشه(چ) طول ریشه

جدول 4- مقایسه میانگین صفات صفات مورفولوژیک برای اثر متقابل شوری و باکتری در رقم قدس و کویر با آزمون دانکن

رقم	شوری	باکتری	حجم ریشه(m^3)	وزن تر ریشه($g.plant^{-1}$)	وزن خشک ریشه($g.plant^{-1}$)	طول ریشه (mm)	سطح ریشه (cm^2)	ارتفاع ساقه (cm)	وزن تر اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک اندام هوایی ($g.plant^{-1}$)
			ریشه						اندام هوایی	
		0	7/00 af	9/05 ag	5/39 ch	47/97 fg	40/30 fh	44/27 ef	7/81 df	4/70 dg
		As(of)	9/00 ad	13/30 ac	7/12 ab	63/37 b	53/23 ab	52/56 a	9/83 ac	6/26 ab
		Az(5)	8/90ae	11/90 ae	6/61 ac	58/83 bd	49/42 bd	53/50 ad	9/58 ad	5/23 ag
	شاهد	*Ps(169)*	8/33 ae	11/92 ae	6/22 af	55/36 de	46/50ce	57/50 a	10/17 a	5/81ad
		As+ Az	9/20 ac	12/80 ad	6/85 ac	60/97 bc	51/21 bc	54/00 ac	8/94 ad	5/80 ad
		As+ Ps	10/00 a	13/90 ab	6/54 ad	58/21 cd	48/89 bd	57/00 a	9/99 ab	6/28 ab
		Az +Ps	8/80 ae	12/90 ad	6/29 ae	55/98 de	47/03 ce	56/00 a	10/00 ab	5/51 ae
		As+ Ps + Az	10/20 a	14/20 a	7/74 a	68/89 a	57/87 a	58/00 a	10/43a	6/53 a
		0	6/40 bf	8/03 gf	4/88 ch	43/43gh	36/48 gi	37/80f	6/90 eg	4/34 eh
		As(of)	8/00 ae	11/79 ae	6/20 af	55/18 de	46/35 ce	54/71 a	8/06 ce	5/39 af
		Az(5)	8/20 ae	10/21 cf	5/67 ag	50/ 46 f	42/39 eg	45/00 cf	9/39 ad	4/78 cf
قدس	6 (ds.m)	*Ps(169)*	8/10 ae	11/84 ae	5/62 ag	50/20 f	42/02 eg	51/82 ab	8/11 ce	6/10 ac
		As+ Az	8/30 ae	12/20 ae	5/64 af	50/20 f	42/17 eg	44/91 bf	7/93 de	5/36 af
		As+ Ps	8/60 ae	12/80 ad	6/31 ae	56/16ce	47/17 eg	51/63 ab	8/85 ad	5/71 ad
		Az +Ps	8/00 ae	10/50 cf	5/83 af	51/89 ef	43/59 df	49/10 ae	8/24 be	4/99 cg
		As+ Ps + Az	9/67 ab	12/90 ad	6/33 ce	56/34 ce	47/32 ce	53/33 a	9/56 ad	5//80 ad
		0	4/60f	6/07 g	3/32 h	29/ 55 k	24/82 k	33/00 g	4/69 i	3/20 h
		As(of)	5/60 ef	8/10 gf	4/22 eh	37/56 ij	31/55 ij	42/00 ef	5/97 gh	4/21 eh
		Az(5)	6/33 cf	7/57 gf	3/74 gh	29/33jk	27/96 jk	43/96 cf	5/40 gh	3/93 gh
	14 (ds.m)	*Ps(169)*	6/60 bf	8/26 gf	4/15 eh	36/94 ij	31/03 ij	23/39 f	6/14 fh	4/63 dg
		As+ Az	6/27 cf	7/84 gf	4/09 fh	43/61 gh	36/63 gi	42/88 df	5/86 gh	4/00 gh
		As+ Ps	6/00 bf	9/00 gf	4/36 dh	38/80 hi	32/60 ij	43/21 cf	6/43eh	4/48 dh
		Az +Ps	7/60 af	8/31 gf	4/67 ch	41/56 hi	34/91 hi	40/03 f	5/61 gh	4/09 fh
		As+ Ps + Az	7/00 af	9/55 df	4/39 dh	39/07 hi	32/82 ij	44/10 cf	6/64 eg	4/29 eh
		0	9/33 ac	10/43 ch	5/43 cf	48/33 gi	40/60 gh	52/00 eh	9/36 bd	5/3.5 ag
		As(of)	10/67 ac	12/18 be	7/24 ab	64/44bc	54/13 bc	59/93 ac	12/57 a	6/84 a
		Az(5)	9/28 ac	10/21 ch	5/63 bf	50/11 gh	42/09 gh	53/27 dg	9/27 bd	5/25 ag
	شاهد	*Ps(169)*	11/00 ac	11/91cf	6/98 ac	62/12 cd	52/18 ab	62/48 a	11/91 a	6/53 ac
		As+ Az	10/00 ac	10/33 ch	5/66 bg	50/31 gh	42/32 gh	50/38 eh	10/00 b	5/58 ag
		As+ Ps	11/33 ab	14/80 a	7/65 a	68/09 ab	57/19 ab	64/26 a	13/29 a	6/69 ba
		Az +Ps	12/00 a	10/78 cg	5/84 bf	51/98 g	43/66 fg	56/41 cd	9/62 bc	5/44 ag
		As+ Ps + Az	11/67 a	14/49 ab	7/99 a	71/11 a	59/73 a	60/20 ac	13/30 a	6/20 ae
		0	8/67 ac	9/93 dh	5/03 dh	44/77 ij	37/61 ij	47/80 gh	7/81dg	4/98 di
		As(of)	10/67 ac	11/15 cg	6/35 ae	56/52 ef	47/47 ef	58/11 ac	9/86 b	6/72 a
		Az(5)	8/47 ac	10/30 ch	5/62 bg	50/02 gh	42/02 gh	42/00 j	7/83 dg	5/20 du
کویر	6 (ds.m)	*Ps(169)*	11/13 ac	12/41 ad	6/48 ae	57/67 de	48/45 de	60/40 ab	9/99 b	6/38 ad
		As+ Az	9/33 ac	9/70 ei	5/87 bf	52/24 gf	43/89 fg	43/69 ij	8/69 bcd	5/60 af
		As+ Ps	11/00 ac	12/87 ac	6/97 ac	62/03 cd	52/11 cd	54/61 cf	10/02 b	6/89 a
		Az +Ps	9/10 ac	10/67 ch	5/21 cg	46/37 hj	38/95 gi	44/05 lh	7/99 cf	4/84 ei
		As+ Ps + Az	10/93 ac	12/55 ad	6/78 ad	60/34 ce	50/69 ce	54/03 df	9/99 b	6/50 ad
		0	7/33 c	7/29 i	3/73 h	33/20m	27/89 m	37/00 j	6/16 g	3/90 gi
		As(of)	9/47 ac	10/66 ch	4/83 eh	42/99 jk	36/11 jk	55/45 df	8/57 bd	5/32 bf
		Az(5)	7/43 bc	7/10 li	3/79 h	33/73 m	28/33 m	41/60 j	6/48 gf	4/35 gi
	14 (ds.m)	*Ps(169)*	9/54 ac	9/38 fi	4/47 fh	39/78 kl	33/42 kl	54/40 df	7/67 dg	4/96 ei
		As+ Az	9/93 ac	8/00 ih	3/96 gh	35/24 m	29/61 ml	42/50 aj	6/78 eg	3/86 ih
		As+ Ps	9/33 ac	9/19 gi	5/45 ch	48/51 gi	40/75 gi	52/30 dg	8/82 bd	5/67 af
		Az +Ps	7/67 bc	8/03 ih	4/01 hg	35/69 lm	29/98 ml	42/30 j	6/24 g	4/40 fi
		As+ Ps + Az	10/33ac	9/09 gi	5/06 dh	45/03 ij	37/83 ij	49/20fh	8/30 be	5/19 di

در هر ستون و برای هر صفت میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول 5- ضرایب همبستگی ساده پیرسونی در بین صفات مورد بررسی در دو رقم کویر (متحمل به شوری) و قدس(حساس به شوری)

صفات	رقم	ارتفاع ساقه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	حجم ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه	سطح ریشه
ارتفاع ساقه	قدس	1							
	کویر	1							
وزن تر اندام هوایی	قدس	0/81**	1						
	کویر	0/86**	1						
وزن خشک هوایی	قدس	0/87**	0/89**	1					
	کویر	0/83**	0/85**	1					
حجم ریشه	قدس	0/87**	0/90**	0/90**	1				
	کویر	0/83**	0/80**	0/75**	1				
وزن تر ریشه	قدس	0/84**	0/91**	0/96**	0/94**	1			
	کویر	0/81**	0/90**	0/85**	0/79**	1			
وزن خشک ریشه	قدس	0/67**	0/77**	0/87**	0/80**	0/81**	1		
	کویر	0/79**	0/94**	0/92**	0/80**	0/94**	1		
طول ریشه	قدس	0/85**	0/94**	0/85**	0/77**	0/90**	0/92**	1	
	کویر	0/75**	0/80**	0/65**	0/83**	0/69**	0/76**	1	
سطح ریشه	قدس	0/86**	0/91**	0/83**	0/87**	0/89**	0/94**	0/85**	1
	کویر	0/79**	0/83**	0/87**	0/67**	0/77**	0/70**	0/91**	1

* و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5% و 1% و غیر معنی‌دار.

فهرست منابع:

1. اخگر، ع.، ن. صالح راستین، ح. رحیمیان و م. ج. ملکوتی. 1387 جداسازی، شناسایی و بررسی کارایی باکتری‌های ریزوسفری دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز در کاهش اثرات تنش شوری بر رشد کلزا . رساله دکتری خاکشناسی، دانشگاه تهران. 163 صفحه.
2. جلیلی، ف.، ک. خاوازی، ا. پذیرا و ه. اسدی رحمانی. 1386 بررسی تأثیر باکتری‌های سودوموناس فلورسنت محرک رشد گیاه بر تعدیل اثرات مضر شوری در کشت کلزا. رساله دکتری خاکشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. 124 صفحه.
3. حمیدی، آ.، ا. اصغرزاده، ر. چوگان، م. دهقان شعار، ا. قلاوند و م. ج. ملکوتی. 1389. بررسی کاربرد کودهای ریزوباکتریایی افزاینده رشد گیاه (PGPR) در زراعت ذرت با نهاده کافی. مجله علوم محیطی. سال 4، شماره 4، صفحات 20-1.
4. رخزادی، ا.، ا. اصغرزاده، ف. درویش، ق. نورمحمدی، ا. مجیدی و و. توشیح. 1387. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک آزوسپیریلوم، ازوتوباکتر، پسودوموناس و مزوریزوبیوم بر تجمع ماده‌ی خشک و عملکرد نخود (Cicer arietinum L.) دهمین کنگره علوم زراعت و اصالح نباتات ایران
5. عموآقایی، ر.، ا. مستأجران.، و گ. امتیازی. 1384. اثر آزوسپیریلوم و اسیدیته قلیائی آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم. مجله زیست شناسی. جلد 18، شماره 3، صفحات 256– 248.
6. کافی، م.، م. لاهوتی، ا. زند.، ح. ر. شریفی و م. گلدانی. 1379. فیزیولوژی گیاهی (جلد اول). انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد. 456 صفحه.

7. مستأجران، ا.، ر. عموآقایی و گ. امتیازی. 1384. اثر آزوسپیریلوم و اسیدیته قلیائی آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم. مجله زیست شناسی. جلد 18، شماره 3، صفحات 256– 248.

8. مومنی، ع. 1389. پراکنش جغرافیائی و سطوح شوری منابع خاک ایران. پژوهش های خاک، شماره 3، صفحات 15-1

9. Bacilio, M. Rodriguez, H. Moreno, M. Hernandez, J. P. and Bashan, Y. 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedling by agfp-taged *Azospirillum lipoferum*. Biology and Fertiliity of Soils 40: 188-193
10. Bhattarai, T. and Hess ,D. 1993. Yeild responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum*) cultivars to inculation with *Azospirillum* spp of Nepalese origin.Plant and Soil 151: 67-76.
11. Bohn, W. 1979. Methods of studying root systems. Ecological Studies 33:188. Springer-Verlag, Berlin.
12. Cheng, Z. Park, E. and Glick, B.R. 2007. 1-Aminocyclopropane-1- carboxylate deaminase from Pseudomonas putida UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. Canadian Journal of Microbiology 53:912-918.
13. Dobbelaere, S. Vanderleyden, J. and Okon, Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences 22: 107-149.
14. Grichko, V. P. and Glick, B. R. 2001. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase containing plant growth promoting bacteria. Plant Physiology and. Biochemestry 39:11-17.
15. Han, H. S. and Lee, K. D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of Lettuce under soil salinity. esearch Journal of Agriculture and Biological Sciences 1: 210-215.
16. ICID (International Commission on Irrigation and Drainage). 2002. Irrigation and Food Production Information about ICID Network Countries [online]. Available at http://icid.org/
17. Klopper, J. W. 2003. A review of mechanisms for plant growth promoting by PGPR. 6th international PGPR workshop, 5-10 october 2003, calculla, India.
18. Marcelis, L.F.M. and Hooijdonk, H.V. 1999. Effect of salinity on growth, water use and nutrient use in radish (*raphanus sativus* L.). journal of *Plant and Soil* 215: 57-64.
19. Mayak, S. Tirosh, T. and Glick, B. G. 2004a. Plant Growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants salt stress. Plant Physiology and. Biochemestry 42:565-572.
20. Mayak, S. T. Tirosh, T. and Glick, B. G.. 2004b. Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science 166:524-530.
21. Moslemi, Z. Habibi, D. Asgharzadeh, A. 2011 .Effects of super absorbent polymer and plant growth promoting rhizobacteria on yield and yield components of maize under drought stress and normal conditions. African Journal of Agriculture Research 6:4471–4476
22. Nadeem, S. Zahir, Z.A. Naveed, M. and Arshad, M. 2007. Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through ACC-deaminase activity.Canadian Journal of Microbiology 53 : 1141-1149.
23. Newman, E. I. 1966. A method of estimating the total length of root in asampel. Journal of Applied Ecology 3:139-145.
24. Pan. Y. Wu, L. J. Yu, Z. L. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis fisch*). Plant Growth Regul 49: 157-165.
25. Patten, C. L. and Glick, B. R. 2002. The Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic acid in development of the host plant root system. Applied and Enviromental Microbiology 68:3795-3801.

26. Rai, S. N. and Gaur, A. C. 1988. Characterization of *Azotobacter* SPP. and effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* as inoculant on the yield and N-Uptake of wheat crop. Plant Soil 109: 131-134.
27. Rodelas, B. Lopez, J. G. Toledo, M. V. Pozo, C. and Salmeron, V. 1999. Influence of Rhizobium/Azotobacter and Rhizobium/Azospirillum combined inoculation on mineral composition of faba bean (Vicia faba L.). Biology and Fertiliity of Soils 29: 165–169.
28. Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. (2007). ACC deaminase from Pseudomonas fluorescens mediated saline resistance in groundnut (Arachis hypogea) plants. Jouranal of Applied Microbiology 102:1283-1292
29. SAS Institute. 2011. *SAS/STAT Users Quide*, version 9.2. SAS Institute. Inc. Cary, NC.
30. Shukla, P. Agarwal, P. K. and Jha , B. 2011. Improved salinity tolerance of Arachis hypogaea (L.) by the interaction of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, Journal of Plant Growth Regulation**.** (DOI: 10.1007/s00344-011-9231-y).
31. Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. Plant Physiology, Third edition.
32. Tilak, K. V. B. R. Singh,C. S. V. Roy, K. and Subba Rao, N. S. S. 1982. *Azospirillum brasilense* and *Azotobacter chroococcum* inoculum: effect on yield of maize (Zea mays L.) and sorghum (*sorghum bicolor*). Soil Biolgy &Biochemistry 14: 417-418.
33. Yuen G. Y. and Schroth, M. N. 1986. Interaction of *Pseudomonads fluorescens* strains E6 with ornamental plants and its effect on the composition of root colonization microflora. Phytopathology 76:176-179.
34. Zhang, M., L. Duan, X. Tian, Z. He, J. Li, B. Wang and Z. Li. 2006. Uniconazole-induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system. journal of Plant Physiology 164: 709-717.

تأثیر دو گونه قارچ آربوسکولار (*Glomu. mosseae* و *G. etunicatum*) بر جذب عناصر غذایی و تولید ریزغده در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت سیب‌زمینی

خسرو پرویزی، فرشاد دشتی[1]*، محمود اثنی‌عشری، فرهاد رجالی و مهرداد چایچی

دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان؛ **kparvizi@yahoo.com**

استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان؛ **dashti1350@yahoo.com**

دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان؛ **m.esnaasnari@basu.ac.ir**

استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، بخش بیولوژی خاک، کرج؛ **frejali@yahoo.com**

عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان؛ **mchaichi@yahoo.com**

چکیده

در این پژوهش به منظور بررسی اثرات همزیستی قارچ میکوریز در جذب عناصر غذایی، ارتقاء سازگاری گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت سیب‌زمینی در گلخانه و افزایش راندمان تولید ریزغده در آنها، گیاهچه‌هایی از دو رقم سیب‌زمینی (رقم‌های آگریا و سانته) با دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولارا (*Glomus.mosseae* و *G.etunicatum*) به صورت مجزا و در مخلوط با هم در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهارتکرار مایه‌زنی شدند. مایه‌زنی در گلخانه و در هنگام انتقال گیاهچه‌ها انجام شد. هشت هفته پس از مایه‌زنی درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاهچه‌ها تعیین شد و از میزان عناصر غذایی آنها (فسفر، آهن، روی و منگنز) اندازه‌گیری به عمل آمد. ریزغده‌های تولیدی به اندازه‌های مختلف تفکیک شده و عملکرد کل برآورد شده و درصد ماده خشک ریزغده نیز تعیین گردید. نتایج نشان داد که زاد مایهٔ قارچ بر میزان کلونیزاسیون و تمامی صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال 1% اثر معنی‌دار داشت. اثر نوع رقم صرفاً در مورد آهن و روی تفاوت معنی‌دار نشان نداد. اما در سایر صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال 1% معنی‌دار شد. با مقایسه میانگین صفات مشخص شد که مایه زنی باگونه *G.etunicatum* و مخلوط دو گونه بر شدت کلونیزاسیون ریشه، جذب عناصر غذایی و همچنین تعداد ریزغدهٔ تولیدی اثرات مثبت‌تری نسبت به گونه *G. mosseae* داشتند. بیشترین میزان جذب فسفر، آهن، روی و منگنز در گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با مخلوط دو گونه به دست آمد. بیشترین میزان ریزغده در مایه‌زنی با مخلوط دو گونه قارچ (متوسط تعداد 13/81 عدد ریزغده در گیاهچه) حاصل گردید که نسبت به کاربرد جداگانه دو گونه و تیمار شاهد در سطح 0/05 تفاوت معنی‌دار داشت. با کاربرد جداگانهٔ دو گونه قارچ و نیز مخلوط آنها درصد ماده خشک ریزغده افزایش پیدا کرد که تفاوت‌ها با تیمار شاهد در سطح 0/05 معنی‌دار شد. در مجموع مایه‌زنی گیاهچه‌های سیب‌زمینی با دو گونه قارچ میکوریز به صورت جدا و در مخلوط با هم کمک قابل توجهی به جذب عناصر غذایی کرد که به نوبه خود ضمن افزایش زیست توده گیاهی اثرات مثبتی در استقرار گیاهچه‌ها و افزایش راندمان تولید ریزغده در آنها داشت.

واژه‌های کلیدی: درصدکلونیزاسیون، عملکرد، غلظت عناصر غذایی، گیاهچهٔسیب‌زمینی، همزیستی میکوریزی

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: همدان دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی کد پستی: 6517833131

* دریافت: 91/9/20 و پذیرش: 92/2/5

مقدمه

میکوریزا نوعی زندگی همزیستی بین قارچ و ریشه گیاهان می باشد که با تأمین قندهای فتوسنتزی تولید شده توسط گیاهان به عنوان منبع کربن آلی، قارچ غـیرخودکفا[1] به حیـات خود ادامه داده و بقاء و تکثیر آن تضمین می‌گردد. در مقابل این رابطه همزیستی سبب بهبود رشدگیاه از طریق افزایش جذب مواد غذایی، تحریک سنتز مواد تنظیم کننده رشد داخلی و افزایش راندمان فتوسنتز می‌شود (فری و اسچوپ، 1991 و 1992، نوریس و همکاران، 1992 و رخا و همکاران، 2009).

اثرات مثبت قارچ‌های میکوریز در تحرک بخشی به فسفر و جذب آن با مکانیسم های توسعه سطح ریشه، افزایش هدایت هیدرولیکی آب و تسهیل انتقال توده‌ای فسفر، افزایش تعرق در پتانسیل بالای آب در خاک و کمک به انتشار فسفر، ترشح ترکیبات آلی تعدیل کننده pH و افزایش فعالیت آنزیم پلی فسفات کیناز امکان پذیر می‌گردد (بیور و بورن، 1980، کاپاسیو و کالو، 1982 و دیوید و همکاران، 2007). نقش قارچ میکوریز در افزایش مقدار نیتروژن در گیاهان با تحریک بیان آنزیم نیترات رداکتاز و افزایش سطوح آنزیم دیکیناز گلوکان به خوبی مشخص شده است (شرامتی و همکاران، 2005). همچنین ثابت شده است که قارچ‌های میکوریز با ایجاد تعادل نسبی در جذب فسفر و نیتروژن می‌توانند از اثرات بازدارندگی و رقابتی آنها در جذب عناصر کم مصرف مس، آهن روی و منگنز بکاهند و به ایجاد تغذیه متعادل گیاهی هم کمک کنند (آزکون و همکاران، 2003 و چن و همکاران، 2005). قارچ میکوریز در افزایش جذب عناصر کم مصرف از طریق ترشح ترکیبات آلی سیدروفر به عنوان عامل کلاته کننده و نیز کاهش جذب آنها در شرایط سمیت با تحریک رشد و اثر رقیق سازی نقشی دو سویه و مثبت دارد (بگیاری و وارما، 1995).

در گیاهان حاصل از کشت بافت معمولاً مرحله سازگاری[2] نیاز به مدیریت خاص داشته و چنانچه با تدابیر کافی انجام نشود ممکن است استقرار گیاهچه‌ها را به تأخیر انداخته و توسعه و نمو آنها را با مشکل مواجه کند و در مواردی حتی منجربه مرگ آنها بشود. اغلب در این مرحله شوک ناشی از انتقال[3] توقف رشد ایجاد کرده و از کارآیی و راندمان نهایی محصول می‌کاهد. گزارش شده است که در حدود 10 تا 14 درصد از محصولات گل وسبزی که از طریق کشت بافت تولید می‌شوند در مرحله انتقال آسیب دیده و یا به استاندارد تجاری قابل عرضه به بازار نمی‌رسند. مشکل اساسی بدلیل عدم توسعه سیستم ریشه‌ای کارآمد در آنها می‌باشد (کلرک و بروگ، 1992). این مشکل از طریق بکارگیری قارچ‌های میکوریز در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در چندین محصول باغی مرتفع شده است (کیرمن و همکاران، 1984، راولانرینا و همکاران، 1989، وارما و اسچیوپ، 1995 و هبتی و همکاران، 2001) همچنین در پژوهش‌های مختلف در محصولات متعدد باغی و زراعی بر اثر مایه‌زنی با قارچ میکوریز شاخص‌های رشد افزایش معنی‌دار داشته و منجربه تولید گیاهچه‌های یکدست و یکنواخت تر شده است (اوسوکاینن و وستبرگ، 1994 و وستبرگ و استوان، 1994).

در سیب‌زمینی هرچند پژوهش‌های کمتری در مایه‌زنی قارچ میکوریز بر گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت انجام شده اما نتایج آنها در کارآیی فتوسنتز و توسعه فاکتورهای رشد و عملکرد نهایی مؤثر و مثبت بوده است (دوفی و همکاران، 1999 و الیزابت و همکاران، 2000) در مقابل در بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز بر میزان جذب عناصر غذایی در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت فقط چند پژوهش محدود صورت گرفته است. یااوو و همکاران (2002) نتیجه گرفتند که با مایه‌زنی قارچ در هنگامی که آلودگی ریزوکتونیا در گیاهچه‌های سیب‌زمینی انجام می‌شود میزان جذب عناصر غذایی نسبت به تیمارهای غیرمیکوریزایی افزایش معنی‌دار دارد. در میزان جذب عناصر غذایی در مقایسه تیمارهای میکوریزایی و بدون آلودگی با رایزوکتونیا تفاوت معنی‌داری با تیمارهای شاهد در رقم "گولدراش" بوجود نیامد اما در رقم "LP8922" تفاوت در جذب مواد غذایی بین تیمارهای میکوریزایی و شاهد معنی‌دار شد. نتایج پژوهش‌های مختلف در رابطه با اثر میکوریز داخلی بر عملکرد و راندمان تولید محصول در سیب‌زمینی بسته به نوع رقم سیب‌زمینی و ایزولهٔ انتخابی از قارچ متفاوت بوده است. گراهام و همکاران (1996) دریافتند که مایه‌زنی سیب‌زمینی با سویه قارچ *Glomus. fasciculatum*، عملکرد را افزایش می‌دهد در حالیکه گونهٔ *G.mosseae* قادر به افزایش معنی‌داری در عملکرد نبود. داویس و همکاران (2005) با مایه‌زنی قارچ میکوریز در شرایط گلخانه موفق به افزایش عملکرد در حد 65% در مقایسه با شاهد در رقم "یانگای" سیب‌زمینی شدند.

دربرنامه تولید ریزغده در سیب زمینی علاوه بر نیاز به استقرار مناسب‌تر گیاهچه‌ها، راندمان تولید ریزغده و نسبت تکثیر آن نیز مسئله مهمی است که می‌بایستی مورد

---

1. Heterotrophic fungus.
2. Acclimation.
3. Transfer shock.

توجه قرار گیرد. برآوردها از نسبت تولید ریزغده به گیاهچه حاکی از میزان نسبتاً پایین آن در برنامه‌های مختلف تکثیری در داخل کشور دارد و مجریان پروژه‌های مختلف این مسئله را به عنوان یک ضعف عمده در نظر می‌گیرند و از این موضوع اظهار نگرانی می‌نمایند. به طوری که در پژوهشی دیگر که نگارنده انجام داده‌اند متوسط تولید ریزغده به گیاهچه در حد 6/5 عدد ریزغده به ازاء هر گیاهچه حاصل گردیده که نسبتی به مراتب پایین‌تر از میزان تولید آن در کشورهای پیشرو در این زمینه است (اشراف و همکاران، 1387). نظر به اهمیت تأثیر قارچ میکوریز بر جذب عناصر غذایی و محدودیت پژوهش‌های انجام گرفته در گیاهچه‌های میکوریزایی شده پس از انتقال به گلخانه، لازم است همراه با اندازه گیری راندمان تولید ریز غده و عملکرد نهایی، تغییرات عناصر غذایی و چگونگی تأثیر رابطه همزیستی بر این فاکتورها نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر کاربرد دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولارا *G. mosseae* و *G.etunicatum* بر میزان جذب عناصر غذایی و همچنین عملکرد کمی و کیفی گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت سیب‌زمینی انجام شد. محل اجرای پژوهش آزمایشگاه کشت بافت و گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان بود. اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا انجام شد. در این آزمایش مایه‌زنی با قارچ میکوریز در گلخانه و در زمان انتقال گیاهچه‌های حاصل از رشد تک‌گره‌ها به گلدان‌ها انجام گرفت. طرح آزمایشی مورد استفاده آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کامل تصادفی بود که دو گونه قارچ میکوریز (*G.mosseae* و *G. etunicatum*) به صورت مجزا و در مخلوط با هم به همراه شاهد در چهار سطح در قالب یک فاکتور و نوع رقم (سانته و آگریا) به عنوان فاکتور دیگر در دو سطح مد نظر قرار گرفت. هر تیمار آزمایشی در چهار تکرار انجام شد و در هر تکرار هم تعداد 16 گیاهچه در هر سینی کاشت با تراکم 80 گیاهچه در متر مربع به صورت جداگانه کشت شدند. بدین منظور گیاهچه‌های انتخابی از دو رقم آگریا و سانته با زادمایه از دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار به صورت مجزا و همچنین مخلوط با هم مایه‌زنی شدند. جدایهٔ زادمایه از کلونیزه شدن دو گونهٔ قارچ با ریشه گیاهان سویا و ذرت در گلخانه موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شده و در کلکسیون میکروبی بخش بیولوژی نگهداری می‌شد. در هنگام کاشت گیاهچه‌ها، مقدار 1 گرم از ریشه‌های کلونیزه شده هر گونهٔ قارچ که واجد 120 عضو از اندام فعال قارچ[1] بود به عنوان زادمایه در محل کاشت هر گیاهچه و در مجاورت ریشه‌ها قرار گرفت. در تیمار اختلاط دو گونه، جهت مایه‌زنی هر گیاهچه و از هر گونه مقدار نیم گرم از مخلوط خاکی ریشه‌های کلونیزه شده توزین و با همدیگر مخلوط شدند. سپس در زمان کاشت گیاهچه‌ها در محل کاشت و در مجاورت ریشه قرار گرفتند. با توجه به اینکه جمعیت زادمایه در هر دو گونه یکسان بود بنابراین انتخاب نیم گرم از هر گونه در تیمار مخلوط دو گونه ظرفیت یکسانی را در توزیع جمعیت فعال قارچ نسبت به تلقیح جداگانه از گونه‌ها فراهم می‌کرد. گیاهچه‌ها در محیط کشتی که ترکیبی از پیت و پرلایت (به نسبت 2:1) بود و به وسیله دستگاه ضدعفونی خاک (با استفاده از بخار آب) ضدعفونی شده بود، کشت شدند. عملیات داشت و مراقبت از گیاهچه‌ها در تیمارهای شاهد (بدون استفاده از زادمایه) و تیمارهای مایه‌زنی شده به صورت یکسان انجام گرفت. تغذیه گیاهچه‌ها با کود کامل فلورال (در بسته‌های 2/5 کیلوگرمی، با ترکیب (N.P.K) به نسبت 20:20:20 و حاوی تمام عناصر کم مصرف تولیدی شرکت چیفو در کشور ایتالیا) به غلظت 3 در هزار و به صورت محلول با حجم یکسان (200cc در هر جعبهٔ کاشت) در هر 12 روز صورت پذیرفت (اشراف و همکاران، 1387). شرایط محیط گلخانه از نظر نور و دما به صورت خودکار تنظیم شد. در دو ماه اول کاشت و قبل از غده‌زایی طول روز با 16 ساعت تنظیم شد و دوره نوری بیشتر با روشن نمودن لامپ‌های سدیمی فشار بالا به صورت خودکار با زمان‌سنج مرکزی تأمین شد. در دو ماه آخر دورهٔ رشد، طول روز معمولی 12 ساعته و کمتر برقرار شد. در ارتباط با شدت نور معمولاً با توجه به استفاده از گلخانه با پوشش شیشه‌ای، شدت نوری معادل 20 تا 22 هزار لوکس قابل دریافت بود اما در روزهای ابری و بارانی با روشن کردن لامپ‌های سدیمی فشار بالا (با توزیع 2 عدد لامپ 250 واتی در هر 10 متر مربع از سطح گلخانه) و تأمین شدت نوری معادل 5000 لوکس به ازاء هر لامپ، کمبود نور در گلخانه جبران شد. دمای داخلی گلخانه با تنظیم سیستم تهویه مطبوع و حرارت مرکزی در محدوده 16 تا 18 درجه سانتی‌گراد در شب و 24 تا 26 درجه در روز تأمین شد.

هشت هفته پس از مایه‌زنی گیاهچه‌هایی به صورت تصادفی برداشت شده و جهت ارزیابی شدت کلونیزاسیون ریشه از روش فیلیپس و هایمن (1970) استفاده شد.

[1]. Propagule

درصد کلونیزاسیون ریشه ها براساس روش بیرمن و لیندرمن (1980) محاسبه شد. به منظور اندازه‌گیری میزان جذب مواد غذایی نمونه‌هایی به صورت تصادفی از گیاهچه‌ها انتخاب وپس از خشک کردن در آون و عصاره‌گیری به روش خشک سوزانی (Dry ashing)، فسفر با دستگاه اسپکتروفتومتر و آهن، روی و منگنز با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند (امامی، 1375).

در هنگام برداشت، ریزغده‌های تولیدی پس از توزین به چهار کلاس با اندازه‌های متفاوت تفکیک شده (بزگتر از 5 گرم، 3 تا 5 گرم، 1تا 3 گرم و کوچکتر از 1 گرم)، تعداد آنها در هر کلاس بذری مشخص شده و بر اساس نسبت به گیاهچه موجود در هر جعبه کاشت متوسط تعداد ریزغده در هر گیاهچه و در هر تکرار برآورد گردید. جهت اندازه‌گیری ماده خشک ریزغده سه نمونه تصادفی از هر تکرار جدا شده وکاملاً شسته شده و خشک شدند سپس توزین شدند. برش‌هایی به صورت چیپس از آنها تهیه شد ودر آون در دمای 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت قرار گرفتند. چند نوبت توزین شده پس از رسیدن به وزن ثابت، درصد ماده خشک آنها از تقسیم وزن نهایی بر وزن اولیه و ضرب عدد حاصل در 100 تعیین شد. در خاتمه محاسبات آماری داده‌های حاصل از طریق نرم‌افزار SAS انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای 5% استفاده گردید.

نتایج

با مقایسه میانگین داده‌های حاصل از آزمایش و بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص شد که اثر قارچ‌های میکوریز بر شدت کلونیزاسیون، میزان جذب فسفر و عناصر کم مصرف در سطح 1% معنی‌دار شد. اثر نوع رقم بر میزان فسفر، درصد کلونیزاسیون و نیز مقدار جذب روی در سطح 1% معنی‌دار شد. اما نوع رقم تفاوت معنی‌داری در میزان جذب منگنز و آهن ایجاد نکرد. اثرات متقابل رقم و قارچ میکوریز صرفاً در میزان فسفر و شدت کلونیزاسیون ریشه در سطح 5% معنی‌دار شد بیشترین میزان درصد کلونیزاسیون در گیاهچه‌های سیب‌زمینی درمایه‌زنی با مخلوط دو گونهٔ قارچ حاصل شد که با متوسط 58 درصد نسبت به کاربرد گونه *G. etunicatum* با متوسط 55/28 درصد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5% نشان نداد اما با گونه *G. mosseae* (با متوسط 36/62 درصد) تفاوتها در سطح 5% معنی‌دار شد. از طرفی واکنش دو رقم در پاسخ به شدت کلونیزاسیون در تیمارهای مختلف میکوریزایی روند مشابهی نداشت و رقم سانته نسبت به رقم آگریا به شیوه‌ای مؤثرتر تحت تأثیر مایه‌زنی با مخلوط دو گونه ونیز مایه‌زنی با گونه *G. etunicatum* قرار گرفت (جدول 1).

میزان فسفر در گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با گونه *G. etunicatum* و مخلوط دو گونه بسیار به هم نزدیک بود که به ترتیب با متوسط 0/436 % و 0/445 % نسبت به گیاهچه های مایه‌زنی شده با گونه *G. mosseae* و تیمارهای شاهد (عدم مایه‌زنی با قارچ) اختلاف معنی‌دار در سطح 5% نشان دادند. روند جذب فسفر در تیمارهای میکوریزایی و شاهد در دو رقم آگریا و سانته روال مشابهی نداشت و بویژه در رقم آگریا در تیمارهای میکوریزایی سطح جذب فسفر بالاتر از رقم سانته بود. بیشترین میزان جذب آهن، روی و منگنز در تیمار با مخلوط دو گونه و نیز گونهٔ *G. etunicatum* بدست آمد که در مقایسه با گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با گونه *G.mosseae* و تیمار شاهد تفاوت‌ها در سطح 5% معنی‌دار شد. همچنین نسبت جذب این عناصر در گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با گونه *G. mosseae* به مراتب بالاتر از تیمارهای شاهد بود و اختلاف معنی‌داری بین آنها بوجود آمد. روند تغییرات جذب عناصر غذایی ریزمغذی در دو رقم در این تیمارها نسبتاً مشابه بود (جدول1).

مایه‌زنی با قارچ در هر دو رقم سبب افزایش معنی‌دار در تعداد ریزغدهٔ تولیدی در همه اندازه‌ها و نیز تعداد کل ریزغدهٔ تولیدی شد. همچنین وزن خشک ریزغده نیز تحت تأثیر کاربرد با قارچ میکوریز قرار گرفت و تفاوت معنی‌دار در سطح 1% با تیمار شاهد حاصل شد. اثر نوع رقم و همچنین اثر متقابل رقم و قارچ میکوریز در تولید اندازه ریزغده در تمامی کلاسها و همچنین تعداد کل ریزغده در گیاهچه در سطح 1% معنی‌دار شد (جدول 2 و شکل 1). اما اثر متقابل رقم و قارچ میکوریز در درصد ماده خشک ریزغده معنی‌دار نشد (شکل 2). در متوسط تعداد ریز غدهٔ بزرگتر از 5 گرم، دو رقم در مایه‌زنی با مخلوط دو گونه نسبت به کاربرد جداگانه و تیمار شاهد (عدم مایه‌زنی قارچ میکوریز) تعداد بیشتری ریزغدهٔ درشت تولید کردند که در رقم سانته با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت اما در رقم آگریا تفاوت معنی‌داری با مایه‌زنی با گونه*G. etunicatum* نداشت. در متوسط تعداد ریزغده در محدوده 3 تا پنج گرم با مایه‌زنی قارچ افزایش معنی‌داری در تولید ریزغده بوجود آمد. دو رقم در کاربرد دو گونهٔ قارچ میکوریز به صورت مجزی و نیز تیمار شاهد عکس‌العمل یکنواختی داشتند. اما با کاربرد مخلوط دو گونه، رقم سانته بیشترین میزان تعداد ریزغده را در این اندازه تولید نمود که با سایر تیمارها در این رقم

و نیز رقم آگریا تفاوت معنی‌دار در سطح 5% نشان داد. رقم سانته نسبت به آگریا در مایه‌زنی با قارچ ریزغدهٔ بیشتری در محدوده 1 تا 3 گرم تولید نمود. به طوری که در این اندازه همه تیمارهای میکوریزایی افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند. اما در رقم آگریا صرفاً با مخلوط دو گونه قارچ تفاوت معنی‌دار با شاهد (عدم کاربرد قارچ) حاصل شد. در تعداد ریزغدهٔ تولیدی در اندازه کوچکتر از 1 گرم دو رقم کاملاً متفاوت از هم عمل کردند. در رقم سانته بیشترین میزان ریزغده در این اندازه در مایه‌زنی با مخلوط دو گونه بدست آمد که با سایر تیمارها در این رقم تفاوت معنی‌دار داشت. در مقابل در رقم آگریا بیشترین میزان ریزغده در این اندازه در مایه‌زنی با گونه *G. etunicatum* حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با مخلوط دو گونه نداشت اما با گونه *G.mosseae* و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول2). در مجموع دو رقم بیشترین تعداد کل ریز غده در گیاهچه را در مایه‌زنی با مخلوط دو گونه قارچ میکوریز تولید کردند که در رقم سانته با متوسط تولید 19/02 با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان داد اما در رقم آگریا (با متوسط تعداد 8/60 عدد) تفاوت معنی‌دار در مایه‌زنی با گونه *G.etunicatum* نداشت (شکل 1). با مایه‌زنی گیاهچه‌ها توسط قارچ‌های میکوریز درصد ماده خشک ریزغده به صورت قابل توجهی افزایش پیدا کرد به طوری که میانگین درصد ماده خشک ریزغده در هر دو رقم در تیمارهای میکوریزایی تفاوت معنی‌دار در سطح 5% با تیمار شاهد نشان داد. میزان افزایش ماده خشک ریزغده در هر دو رقم در گیاهچه های مایه‌زنی شده با گونه *G.etunicatum* و مخلوط دو گونه بیشتر از میزان آن در مایه‌زنی با گونه *G.mosseae* بود. هرچند تفاوتها در سطح 5% معنی دارنشد. وضعیت تغییر ماده خشک در هر دو رقم در تیمارهای مختلف روند مشابهی داشت. در مجموع میزان تولید ماده خشک ریزغده در رقم آگریا نسبت به رقم سانته بیشتر بود و تفاوت دو رقم در سطح 5% با آزمون دانکن معنی دار شد (شکل2).

بحث

اثرات قارچ میکوریز در تسهیل جذب فسفر، تحریک رشد و افزایش کارآیی و عملکرد سیب‌زمینی در شرایط مزرعه با پژوهش‌هایی چند مورد تأیید قرار گرفته است. اما پژوهش‌های کمتری در بررسی اثرات آن در جذب فسفر و سایر عناصر کم مصرف در شرایط کشت بافت و در هنگام انتقال گیاهچه‌ها صورت گرفته است. اثرات قابل توجه قارچ میکوریز در افزایش جذب فسفر، آهن منگنز و روی در این پژوهش و بویژه در تیمار مخلوط قارچ می‌تواند به عنوان یک دستآورد مهم تلقی شود. از آنجاییکه محدودیت منابع غذایی در محیطهای کشت معمول (پیت و پرلایت) در کشت گیاهچه‌ها وجود دارد، قارچ میکوریز با افزایش جذب عناصر غذایی می‌تواند خلأ ناشی از کمبود آنها را جبران کند. همچنین در شرایطی که استفاده از مواد غذایی تکمیلی از طریق کودهای شیمیایی شبیه این پژوهش مد نظر باشد، قارچ میکوریز ضمن افزایش جذب به کارآمدی بهتر سیستم تولید در گلخانه کمک می‌کند.

فسفر و عناصر غذایی کم مصرف همواره با مشکلات بیشتری در جذب توسط گیاهان زراعی و بویژه در سیب‌زمینی مواجه هستند. این محدودیت‌ها به ویژه با اثرات آنتاگونیستی فسفر بالا در ممانعت از جذب روی و یا مقدار منگنز بیشتر در ممانعت از جذب روی دو چندان نیز می‌شود (جایاچاندران و همکاران، 1992 و دیوید و همکاران، 2007). قارچ میکوریزا با اثر رقیق سازی و تحریک رشد ضمن کاهش جذب هر کدام از عناصر در شرایط سمیّت و افزایش جذب در شرایط کمبود عنصر، اثرات آنتاگونیستی را تا حدودی تعدیل می‌کند. در این پژوهش تفاوت قابل توجهی در میزان جذب فسفر و هر سه عنصر ریز مغذی در دو رقم سیب‌زمینی سانته و آگریا در تیمار شاهد و تیمارهای میکوریزایی وجود داشت. این یافته تأییدی بر نتایج پژوهش جرلف (1977) می‌باشد که ارقام سیب‌زمینی را از لحاظ قابلیت جذب عناصر غذایی به تیپ‌های کارآمد[1] و واکنشی[2] تقسیم نمود.

مایه‌زنی با مخلوط دو گونه قارچ در مقایسه با کاربرد مجزای دو گونه در افزایش جذب عناصر غذایی و راندمان تولید ریزغده مؤثرتر بود. به نظر می‌رسد در ایجاد رابطه همزیستی، دو گونه قارچ بر همدیگر همکنش مثبت داشته و با تقویت اثر همدیگر پاسخ سیگنالی موثرتری را در جهت استقرار بر ریشه در گیاهچه‌های سیب‌زمینی بوجود می‌آورند. قابلیت بالای مخلوط قارچ‌های میکوریز در ایجاد رابطه همزیستی مؤثر در گیاهچه‌های سیب‌زمینی قبلاً با پژوهش الیزابت و همکاران (2000) نیز به اثبات رسیده بود.

ضریب تکثیر نسبتاً پایین از مشکلات اصلی برنامه‌های تولید هسته بذری در سیب‌زمینی می‌باشد. این نقیصه نه تنها هزینه تولید را افزایش می‌دهد در عین حال با افزایش شانس آلودگی در دوره‌های تکثیر طولانی‌تر، سلامت تولید بذر گواهی شده را نیز با خطر مواجه می‌کند (استروویک و ویرسما، 1999) با این وصف امروزه با

1. Efficient type.
2. Responsive type.

اجرای پروژه‌های مختلف در صدد رفع این معضل برآمده و با انجام روش‌های نوین از جمله استفاده از شیوهٔ هواکشت موفقیت‌هایی نیز کسب شده است (اُتازو، 2010). ثابت شده است که مایه‌زنی قارچ‌های میکوریز در سیستم هواکشت بسیار موفق بوده و امروزه به عنوان یک روش سالم و مؤثر در تکثیر زادمایه از قارچ میکوریز به کار گرفته می‌شود (آیجدو و همکاران، 2010). پیشنهاد می‌شود که با توجه به موفقیت‌آمیز بودن نتایج پژوهش اخیر در افزایش ضریب تکثیر، در برنامه‌های تولید بذر سیب‌زمینی با روش هواکشت نیز مایه‌زنی با قارچ میکوریز مورد آزمون و بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع با نتایج این پژوهش مشخص شد که مایه‌زنی گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در سیب‌زمینی با قارچ میکوریز تأثیر قابل توجهی در کارآیی جذب مواد غذایی و در نتیجه تحریک رشد در آنها دارد. افزایش قدرت رشد گیاهچه‌ها ضمن اینکه به استقرار مطلوب‌تر آنها در محیط گلخانه کمک کرد، در عین حال ضریب تکثیر گیاهچه و ماده خشک ریزغده را نیز به صورت معنی‌داری افزایش داد. افزایش در ضریب تکثیر به ازاء هر واحد در بیشتر تیمارهای میکوریزایی تا حدی بیشتر از دو برابر بود. این افزایش معنی‌دار در راندمان تولید ریزغده در گیاهچه‌های سیب‌زمینی یک دستآورد مهم در برنامه کشت بافت سیب‌زمینی در تولید بذر می‌باشد که نقطه عطفی در استفاده مطلوب‌تر، سالم‌تر و کارآمدتر از این تکنولوژی محسوب می‌شود.

سپاسگزاری

از زحمات بی‌دریغ خانم مهندس قربانی و همچنین مساعدت آقای مهندس نوائی مسئول گلخانه کشت بافت در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان تشکر می‌نماییم. همچنین از تلاش‌های جناب آقای مهندس یزداندوست عضو هیأت علمی و رئیس بخش تحقیقات اصلاح بذر در ایجاد هماهنگی لازم در اجرای پروژه قدردانی می‌گردد.

جدول 1- مقایسه میانگین اثرات اصلی رقم، قارچ‌های میکوریز و نیز اثرات متقابل آنها بر درصد کلونیزاسیون و غلظت عناصر غذایی در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

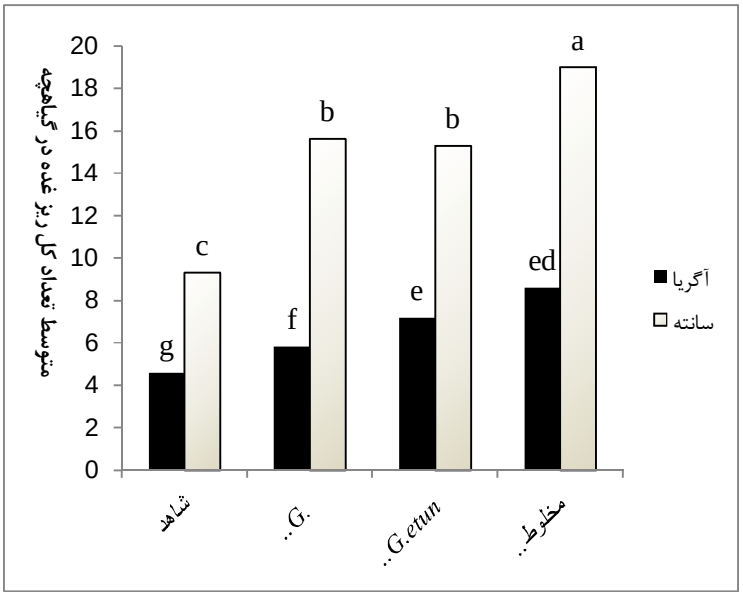
تیمارها			عنصر غذایی		
سطوح رقم			آهن	منگنز	منگنز
	درصد کلونیزاسیون	فسفر (%)	(میلی‌گرم در کیلوگرم)	(میلی‌گرم در کیلوگرم)	(میلی‌گرم در کیلوگرم)
آگریا	34/12 a	0/384 a	268/93 a	148/50 b	98/87 a
سانته	40/81 a	0/332 b	255/37 a	184/87 a	96/87 a
سطوح مختلف قارچ میکوریز					
شاهد(بدون زادمایه قارچ)	0/00 c	0/210 c	174/63 c	97/37 c	64/50 c
مایه‌زنی با قارچ (گونه *G. mosseae*)	36/62b	0/340 b	250/00 b	163/25 b	92/62 b
مایه‌زنی با قارچ (گونه *G. etunicatum*)	55/28 a	0/436 a	305/88 a	194/00 a	115/25 a
مایه‌زنی با قارچ (مخلوط دو گونه)	58/00 a	0/445 a	318/13 a	212/12 a	119/12 a
اثرات متقابل رقم و قارچ میکوریز					
آگریا × بدون زادمایه قارچ	0/00 d	0/221 d	175/00 d	87/50 e	65/50 c
آگریا × گونه *G. mosseae*	35/25 c	0/341 c	246/75 c	137/50 d	91/00 b
آگریا × گونه *G. etunicatum*	49/25 b	0/487 a	321/25 ab	175/25 c	114/00 a
آگریا × مخلوط دو گونه	52/00 b	0/486 a	331/75 a	192/75 bc	117/00 a
سانته × بدون زادمایه قارچ	0/00 d	0/200 d	173/25 d	107/25 e	63/50 c
سانته× گونه *G. mosseae*	38/00 c	0/339 c	253/25 c	189/00 bc	94/25 b
سانته × گونه *G. etunicatum*	61/25 a	0/385 b	290/50 b	211/75 ab	116/50 a
سانته × مخلوط دو گونه	64/00 a	0/405 b	304/50 ab	231/50 a	121/25 a

حروف غیر مشابه در هر ستون با اثر مربوطه، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشد.

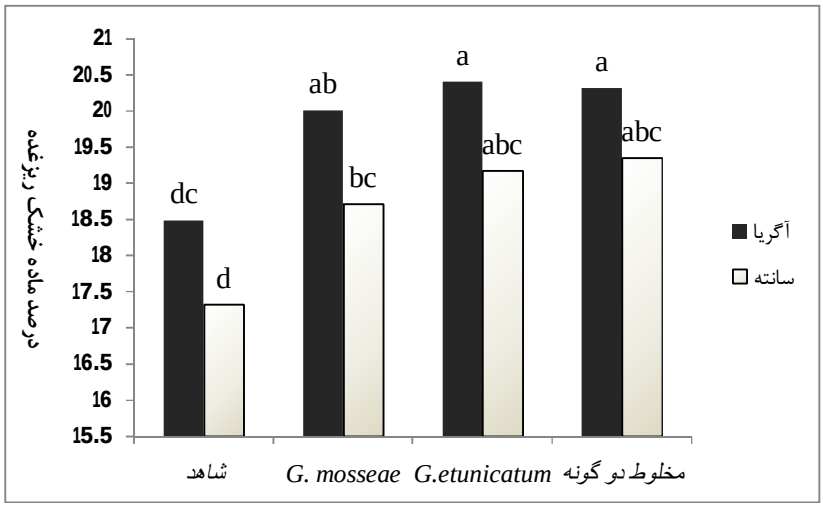
جدول 2- مقایسه میانگین اثرات اصلی رقم، قارچ‌های میکوریز و نیز اثرات متقابل آنها بر تولید ریزغده در اندازه‌های مختلف در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

تیمارها	اندازه ریزغده			
سطوح رقم	تعداد ریزغده در گیاهچه (بزرگتر از 5 گرم)	تعداد ریزغده در گیاهچه (3-5 گرم)	تعداد ریزغده در گیاهچه (1-3 گرم)	تعداد ریز غده در گیاهچه (کوچکتر از 1 گرم)
آگریا	2/05 a	1/23 a	1/78 b	1/49b
سانته	0/83 b	1/31 b	6/94 a	5/71 a
سطوح مختلف قارچ میکوریز				
شاهد (بدون زادمایه قارچ)	1/17 c	0/68 c	2/61 d	2/50 c
مایه‌زنی با قارچ (گونه *G. mosseae*)	1/33 b	1/21 b	4/46 c	3/71 b
مایه‌زنی با قارچ (گونه *G. etunicatum*)	1/40 b	1/11 b	4/91 b	3/82 b
مایه‌زنی با قارچ (مخلوط دو گونه)	1/87 a	2/08 a	5/46 a	4/38 a
ترکیب‌های مختلف رقم با سطوح قارچ میکوریز				
آگریا × بدون زادمایه قارچ	1/92 b	0/65 d	1/32 f	0/72 f
آگریا × گونه *G. mosseae*	1/82 b	1/25 c	1/70 e	1/05 f
آگریا × گونه *G. etunicatum*	2/22 a	1/15 c	1/65 e	2/17 e
آگریا × مخلوط دو گونه	2/25 a	1/87 b	2/45 d	2/02 e
سانته × بدون زادمایه قارچ	0/42 e	0/72 d	3/90 c	4/27 d
سانته× گونه *G. mosseae*	0/85 d	1/17 c	7/22 b	6/37 b
سانته × گونه *G. etunicatum*	0/58 e	1/07 c	8/17 a	5/47 c
سانته × مخلوط دو گونه	1/5 c	2/30 a	8/47 a	6/75 a

حروف غیر مشابه در هر ستون با اثر مربوطه، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشد.



شکل 1- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و قارچ میکوریز بر تولید کل ریز غده در گیاهچه‌های سیب‌زمینی



شکل 2- مقایسه میانگین مربوط به اثر رقم و قارچ میکوریز بر درصد ماده خشک ریز غده در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

فهرست منابع:

1. اشراف، ح، دشتی، ف و پرویزی، خ. 1387. بررسی کاربرد پاکلوبوترازول و تراکم کشت گیاهچه های سیب زمینی بر میزان تولید ریزغده و کیفیت آن. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه بوعلی سینا همدان.
2. امامی، ع. 1375. روشهای تجزیه گیاه .جلد اول، نشر آموزش کشاورزی، کرج، 128 صفحه.
3. Azcón, R., Ambrosano, E. and Charest, C. 2003 Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. Plant Science 165: 1137-1145.
4. Bagyaraj, D.J and Varma, A. 1995. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and plants, and their importance in sustainable agriculture in arid and semi-arid tropics. Advances in Microbial Ecology 14: 119-142.
5. Beever, R.E and Burns, D.J.V. 1980. Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. Advances in Botanical Research 8: 128-137.
6. Bierman, B. and Linderman, R.G. 1980. Quantifying vesicular – arbuscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization. New Phytologist 87:63 – 67.
7. Capaccio, L.C and Callow, J.A. 1982. The enzymes of polyphosphate metabolism in vesicular arbuscular mycorrhizas. New Phytologist 91: 81-97.
8. Chen, X., Chunhua, Wu., Jianjun, T and Shuijin, Hu. 2005. Arbuscular mycorrhiza enhance metal lead uptake and growth of host plant under a sand culture experiment. Chemospher J 60: 665-671.
9. David, D., Gerald, N., Carolyn, R and Paul, R.H. 2007. Inoculation with Arbuscular mycorrhizal fungi increases the yield of potatoes in a high P soil. Biological Agriculture and Horticulture 25: 67-78.
10. Davies, Jr., Calderón, F. T.and Huainan, Z. 2005. Influence of arhuscular on growth, Yield, and leaf elemental concentration of 'Yungay' potatoes. Hort Science 40: 381-385.
11. Duffy, E. M., Hurley, E.M and Casseles, A.C. 1999. Weaning performance of potato microplants following bacterization and micorrhization. Potato Res 42: 521-527.
12. Elizabeth, M., Duffy, A and Cassele, C. 2000. The effect of inoculation of potato microplant with arbuscular mycorrhizal fungi on tuber yield and tuber size distribution, Applied Soil Ecology 15: 137-144.

13. Frey, B and Schuep, F. 1992. Transfer of Symbiotically fixed nitrogen from berseem(*Trifolium alexandrium L.*) to maize via vesicular arbuscular mycorrhizal hyphae. New Phytologist 122: 447-454.
14. Gerloff, S. 1977. Plant efficiencies in use of N, P and K. in: adaptation to mineral stress in problem soils. New York7 Cornell Univ Press. pp. 161– 174.
15. Graham, S.O., Green, N.E and Hendrix, J.W. 1996 The influence of vesicular- arbuscular mycorrhiza on growth and tuberization of potatoes. Mycologia Journal 68: 925-929.
16. Habte, M., Miyasaka, S.C and Matsuyama, D.T. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi improve early forest tree establishment. Plant nutrition Food security and sustainability of agro-ecosystems. Kluwer Academic Publishers, Netherland. pp. 644-645.
17. Ijdo, M., Cranenbrouck, S., and Declerck, S. 2010. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. Mycorrhiza Spriger-Verlag, 2010.
18. Jayachandran, K., Schwab, A.P and Hetrick, B.A.D. 1992. Mineralization of organic phosphorus by vesicular mycorrhizal fungi. Soil Biology and Biochemical 9: 897-903.
19. Kierman, J.M., Hendrix, J.W., Soltz, L.P. and Moronek, D.M. 1984. Characterization of strawberry plants produced by tissue culture and infected with specific mycorrhizal fungi. Horticultural Science 19: 883-885.
20. Klerk, G.I and Brugge, J. 1992. Factors affecting adventitious root formation in microcuttings of Malus. Agronomie Journal 12: 747-755.
21. Norris, J.R., Read, D.J and Varma, A.K. 1992. Methods in microbiology, Vol. 23, Academic press, UK.
22. Otazu, V. 2010. Manual on quality seed potato production using aeroponics. International potato Cenre (CIP). Lima, Peru. 44 pp.
23. Ravolanirina, F., Gianinazzi, S., Trouvelot, A. and Carre, M. 1989. Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstocks. Agriculture Ecosystem and Environment 29: 323-327.
24. Rekha, B., Shruti, C., Rashmi, S., Sharma, A.K and Johri, B. 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and nutrient status of *Dalbergia sissoo*. Tropical Ecology Journal 50 (2): 231-242.
25. Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied L., Varma, A. and Oelmuller, R. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch degrading enzyme glucan water dikinase in tobacco and Arabidopsis roots through a homeodomain transcription factor that binds to conserved motif in their promoters. Journal Botany and Chemistry 280: 26241-26247.
26. Struik, P.C. and Wiersema, S.G. 1999. Seed Potato Technology. Wageningen Press, Wageningen, Netherland.
27. Usoukainen, M. and Vestberg, M. 1994. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizas on rooting, weaning and subsequent growth of micropropagated Malus (L) Moench. Agriculture Science Finland 21: 66-72.
28. Varma, A. and Schuepp, H. 1995. Mycorrhization of mycorrhizal plantlets. In 'Mycorrhizae: biofertilizers for the future' (eds. Adholeya A and Singh S), Tata Energy Research Institute, New Delhi. pp. 322-327.
29. Vestberg, M. and Estaun, V. 1994. Micropropagated plants, an opportunity to positively management of mycorrhizal activities. Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystem'. Birkhauser Verlag, Basel/Switzerland. pp. 217-226.
30. Yao, M. K., Tweddell, R. J and Desilets, H. 2002. Effects of two Vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of microplanted potato plantlets. Mycorrhiza Journal 12: 235-242.

Effect of Two Mycorrhizal Fungi Species (*Glomus mosseae* and *G. etunicatum*) on Mineral Nutrients Uptake and Minituber Production in Potato Plantlets

K. Parvizi, F. Dashti[1]*, M. Esna-ashari, F. Rejali and M. Chiechi
PhD student of Horticultural Department, Bu- Ali sina university, Hamedan;
E-mail: kparvizi@yahoo.com.
Assist Professor, Horticultural Department, Bu- Ali sina university, Hamedan;
E-mail: dashti1350@yahoo.com
Associate Professor, Horticultural Department, Bu- Ali sina university, Hamedan;
E-mail: m.esnaasnari@basu.ac.ir
Assist Professor, soil science institute, Soil Biology Department, Karaj;
E-mail: frejali@yahoo.com
Faculty member of Agricultural and Natural Resources Research center of Hamedan;
E-mail: mchaichi@yahoo.com

Abstract

To evaluate the effects of mycorrhizal symbiosis on nutritional absorption, acclimation of potato plantlets, and efficiency of minituber production, plantlets of two potato cultivars (Agria and Sante) derived from tissue culture were inoculated with two species of mycorrhizal fungi. Inoculation was carried out when plantlets were transferred to the greenhouse. A pot experiment was conducted using a factorial based completely randomized design with four replications. Eight weeks after inoculation, colonization percentage was assayed. In addition, mineral contents (P, Fe, Zn, and Mn) were measured. After harvesting, minitubers were separated by size and total yield was estimated. In addition, dry matter of minitubers was determined. Results showed that mycorrhizae inoculants had significant effect ($p \leq 0.01$) on colonization and all parameters. Effect of cultivar did not show significant difference in Fe and Zn, but, in other traits, it was significant. By mean comparisons, it was demonstrated that inoculation with *G. etunicatum* and mixed inoculants had more positive effect on colonization intensity, minituber production, and nutrient contents, compared with *G. mosseae*. The highest amount of P, Fe, Zn and Mn was obtained in plantlets inoculated with the mixed inoculant, which was not significantly different than plantlets inoculated with *G. etunicatum*, but showed significant difference with plantlets inoculated with *G. mosseae* in all nutrients. The highest number of minitubers (13.81 per plantlet) was observed in mixed inoculants that significantly ($p \leq 0.05$) was different than the two separated inoculants and the control treatment. In both cultivars, dry matter of minituber was increased significantly ($p \leq 0.05$) by application of mixed inoculant and in the separately inoculated mycorrhizal treatment compared with the control treatment. Overall, inoculation of potato plantlets by the two species of mycorrhiza (both separately and mixed) caused notable increase in nutrient absorption. In turn, this effect improved the biomass of the plantlets and, consequently, helped them to acclimate better and be more efficient in minituber production.

Keywords: Colonization percentage, Mineral nutrients concentration, Mycorrhizal symbiosis, Potato plantlet, Yield.

[1.] Corresponding author: Assist of Prof, Horticultural Department, Bu- Ali Sina University, Hamedan.
* Receive: December, 2012 & Acceptance: April, 2013

An Evaluation of the Influence of PGPR on Wheat Growth Indices under Saline Stress

K. Saghafi[1*], J. Ahmadi, A. Asghar-zadeh and A. Esmailizad
Former Graduate Student Imam Khomeini International University;
E-mail: kobra_saghafi@yahoo.com
Associate Professor, Imam Khomeini International University, Iran; E-mail: njahmadi910@yahoo.com
Assistant Professor, Soil&Water Research Institute, Iran; E-mail: a_asgharzadeh_2000@yahoo.cm
Soil&Water Research Institute, Iran; E-mail: nobless55@yahoo.com

Abstract

Given the expanding trend of saline lands and the insufficiency of suitable fields for agricultural purposes, it is important to identify ways for increasing plant resistance to salinity. Using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) is one such approach. The following study aimed to analyze the effects of different PGPR bacteria and their combination on two wheat cultivars. The experiment was carried out using a randomized factorial design with three replications. The factors used included salt stress at three different levels (0.335 $dS.m^{-1}$(control), 6 $dS.m^{-1}$, and 14 $dS.m^{-1}$ electrical conductivity of water). The second factor consisted of 8 biological treatments of PGPR as follows: 1-(without bacteria (control), 2-*(Azosprillium lipoferum of), 3-Azotobacter choococcum 5), 4-(Pseudomonas fluorescens 169), 5-(Azosprillium lipoferum of + Azotobacter choococcum5),6-(Azosprillium lipoferum of + Pseudomonas-fluorescens169), 7-(Azotobacter choococcum 5+Pseudomonas fluorescens-169),8-(Azosprillium lipoferum of+Azotobacter choococcum5+Pseudomonas fluorescens 169*). The experiment was carried out in the Soil and Water Research Institute greenhouse using a sand culture method. The two wheat cultivars used in the study included Kavir (resistant to salinity) and Qods (sensitive to salinity). Results showed that saline stress had a significant effect on the growth parameters related to the plant root and aerial organs ($p<0.01$). It was observed that an increase in the amount of salinity in the irrigation water led to a decrease in the average of the traits mentioned ($p<0.01$). Also, results showed that PGPR bacteria, especially those composed of different species had a positive impact under salt stress. Overall, most growth traits displayed a higher average in the case of seeds that had been inoculated with a combination of different bacteria. According to the results, these bacteria had positive effects on increasing growth parameters in the sensitive cultivar. The results obtained also pointed to a positive and significant influence for *PGPR* bacteria under salt stress and indicated that under different levels of salinity, inoculating seeds with the selected bacteria would lead to a reduction of the salinity-induced growth-retarding effects in the traits being studied. The PGPR bacteria were also able to significantly improve the plants' growth parameters under salt stress.

Keywords: *Azosprillium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, Morphologic trait, Salt stress.

[1.] Corresponding author: Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran
[*] Receive: December, 2012 & Acceptance: April, 2013

Effect of Carboxin-thiram on Symbiosis of Wheat and Arbuscular Mycorrhizal Fungi

A. Esmaeilizad[1]*, F. Rejali and J. Vandyousefi
Microbiology graduated student, Islamic Azad University, Karaj Branch, College of Science, Microbiology Department, Iran; E-mail: noblesse55@gmail.com
Assistant Professor, Scientific Staff of Soil Biology Department, Soil and Water Research Institute, Iran; E-mail: frejali@yahoo.com
Professor, Scientific Staff of Islamic Azad University, Karaj Branch,
E-mail: neglab1@yahoo.com

Abstract

Biofertilizers not only have positive effects on soil sustainable fertility, but also beneficial economic and environmental attributes. Therefore, they can be used as a suitable substitute to replace all, or at least some of, the chemical fertilizers. Arbuscular mycorrhizal fungi are one of the most important kinds of biofertilizers. Considering the wide use of Carboxin thiram to control fungus pathogens in wheat cultivation in Iran, this project was designed and performed to define the effects of this fungicide on the symbiosis establishment between wheat and different species of arbuscular mycorrhizal fungi. In a greenhouse test, the effect of Carboxin thiram was studied at two rates of zero and 2gr/1000 gr on symbiosis of 6 mycorrhizal fungal species (*Glomus clarum, Glomus caledonium, Glomus mosseae, Glomus sp, Glomus geosporum, Glomus versiforme)*, wheat (cv.Chamran) growth indexes, spore population, and root colonization percentage. Results showed that seed treatment with Carboxin thiram had no significant effect on yield components of wheat (cv.Chamran). Inoculation with the mycorrhizal fungi and using Carboxin thiram significantly increased spore population ($p<0.01$) and root colonization ($p<0.05$). Maximum and minimum spore population in symbiosis produced by *G.geosporum* and *G.clarum* fungi in Carboxin thiram treatment were 34.37 and 5 spores per gram of soil, respectively. Finally, we concluded that using wheat seeds of cv. Chamran treated with Carboxin thiram had no negative effects on mycorhizal symbiosis of wheat with the studied fungi.

Keywords: Biofertilizer, Root colonization, Wheat cv. Chamran

[1.] Corresponding author: Microbiology Department, College of Science, Islamic Azad University, Karaj Branch, Rajaee Shahr, Karaj
* Receive: December, 2012 & Acceptance: April, 2013

Response of Soil Macrofauna Community to Variation of Crop Type and Management in Shirvan Region

Gh. Rassam[1]*, A. Soltani, A. Dadkhah and A. Khoshnood Yazdi

Assistant Prof,, Ferdowsi University of Mashhad. Shirvan College of Agricultural Sciences. Plant Production Department; E-mail: rassam@ferdowsi.um.ac.ir

Prof. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Agronomy Department; E-mail: afsoltani@yahoo.com

Assistant Prof. Ferdowsi University of Mashhad. Shirvan College of Agricultural Sciences. Plant Production Department; E-mail: dadkhah@ferdowsi.um.ac.ir

Lecturer, Ferdowsi University of Mashhad. Shirvan College of Agricultural Sciences. Plant Production Department; E-mail: khoshnood@ferdowsi.um.ac.ir

Abstract

Soil macrofauna are important components of soil biodiversity. Three habitats of macrofauna were selected in alfalfa fields, low-input and high-input wheat fields to study the effect of crop type and management on soil macrofauna community in Shirvan region. Six sample units were considered in each habitat. In each sample unit, the macrofauna collected in pitfall traps were sorted and counted in terms of family. Data were analyzed using contrast analysis, ANOSIN and PCA. The contrast analysis showed that Shannon index in alfalfa (SI: 2.11) was larger than wheat (SI: 1.88). The ANOSIN analysis revealed that the soil macrofauna communities of the two crops were different, since beneficial macrofauna such as spiders, ground beetles and earthworms were more abundant in the alfalfa field. Major reason for this abundance was lower soil disturbance and the perennial mode of growth of alfalfa. Although there was no significant difference between low-input and high-input management of wheat, different compositions of macrofauna were formed in the two managements. The greater tendency of the soil beneficial macrofauna to reside in low-input wheat fields was attributed to lack of herbicides application and low use of nitrogen in low-input management. Overall, it was concluded that improvement of soil macrofauna biodiversity required application of low-input management and inclusion of legumes in crop rotation.

Keywords: Biodiversity**,** Alfalfa**,** Low-input wheat**,** High-input**.**

[1.] Corresponding author: Plant Production Department, Shirvan Collage of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad.

* Receive: December, 2012 & Accepted: April, 2013

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth Parameters and Nutrients Uptake of Sour Orange (*Citrus aurantium*) under Water Stress Conditions

Z. Paymaneh and M. Zarei[1]*

Former M Sc Student, Shiraz University. College of Agriculture. Soil Science Department;
E-mail: z.paymaneh@yahoo.com.
Assistant Professor, Shiraz University. College of Agriculture. Soil Science Department;
E-mail: Mehdizarei@shirazu.ac.ir.

Abstract

Drought stress can cause yield decrease of many crops in many arid and semiarid regions of the world. Recent droughts have decreased yield of citrus in the country. Arbuscular mycorrhiza employs the mechanisms such as increased nutrients uptake to alleviate the effects of water stress in host plants. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus mosseae and Glomus versiforme* on growth and nutrients uptake by sour orange (*Citrus aurantium*) were assessed in a sterilized soil in a greenhouse experiment. The experiment had a completely randomized design in a factorial arrangement with two factors and three replications for each treatment. The factors were mycorrhizal treatments at three levels (inoculation with *Glomus mosseae, Glomus versiforme,* and the control) and water stress at four levels (irrigation intervals of 2, 4, 6 and 8 days). Water stress decreased shoot and root dry weights and nutrients uptake (P, N, Fe, Cu, Mn), but increased Zn content in the shoots and roots. Shoot and root dry weights and contents of P, N, K, Cu, Mn and Zn were more in mycorrhizal plants than in the control plants. Root colonization was higher in mycorrhizal than nonmycorrhizal plants. In mycorrhizal citrus rootstock, root colonization decreased as drought stress levels increased.

Keywords: *Glomus mosseae, Glomus versiforme*, Citrus, Drought stress.

[1.] Corresponding author: Soil science Department, Collage of Agriculture Shiraz University of Shiraz.
* Receive: January, 2013 & Acceptance: April, 2013

Genetic Diversity and Symbiotic Effectiveness of Rhizobia Isolated from Root Nodules of *Medicago sativa* L.

A. A. Soltani Toolarood, H. A. Alikhani[1]*, G. R. Salehi Jozani, H. Asadi Rahmani, K. Khavazi and A. A. Pourbabaee

Former PhD student of Tehran University and Assistant professor of University of Mohaghegh Ardabili; E-mail: ali_soltani_t@yahoo.com
Associate professor, Tehran University; E-mail: halikhan@ut.ac.ir
Assistant professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran; E-mail: gsalehi@abrii.ac.ir
Assistant professor, Soil and Water Research Institute of Iran; E-mail: asadi_1999@yahoo.com
Assistant professor, Soil and Water Research Institute of Iran; E-mail: kkhavazi@yahoo.com
Assistant professor, Tehran University; E-mail: pourbabaei@ut.ac.ir

Abstract

The symbiotic nitrogen fixation resulting from the rhizobia–legume interaction can act as a sustainable source of nitrogen in many agricultural systems. Better N_2 fixation can be achieved by selecting superior rhizobia from native populations. Genetic characterization and biodiversity of the native rhizobia population can be useful for the selection of inoculant strains. In this study, the plant infection, symbiotic effectiveness, and genetic diversity of 48 rhizobia isolated from root nodules of *Medicago sativa* L., cultivated in different sites of Hamedan Province, was studied by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of PCR-amplified intergenic spacer (ITS). Analysis of the 16S-23S (ITS) fragment showed considerable diversity within these microsybionts. At the similarity of 70%, these rhizobia were clustered into 6 groups: I, II, III and IV. Plant infection test results showed that most strains formed nodules on the roots of host plant. No nodules were observed on the roots of plants inoculated with KH16, KH24, KH6, KH10, KH133, and KH193. According to the results of symbiotic effectiveness test, strains were divided into four groups: non effective, relatively effective, effective, and highly effective strains.

Keywords: *Medicago sativa* L., Biodiversity, Plant infection, Symbiotic effectiveness

[1.] Corresponding author: Soil Science Department , Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University college of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj.
* Received: December, 2012 & Accepted: April, 2013