جنگل و فرآورده‌های چوب، مجلهٔ منابع طبیعی ایران
دورهٔ ۷۰، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۶
ص ۶۱-۷۰

دانشکده منابع طبیعی
دانشگاه تهران

اثر تلقیح فرانکیا بر رشد، تغذیهٔ معدنی و تثبیت نیتروژن در توسکای قشلاقی

احسان کهنه[۱]، امیر لکزیان[۲*]؛ علیرضا آستارایی[۳]، کاظم خاوازی[۴]

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم خاک، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲. استاد، گروه علوم خاک، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳. دانشیار، گروه علوم خاک، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد. مشهد، ایران
۴. دانشیار، مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۰۹، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۲۳

چکیده

توسکای قشلاقی با اکتینومیست فرانکیا همزیست بوده و قادر به تثبیت زیستی نیتروژن و تأمین نیاز خود است؛ بنابراین شناسایی جدایه‌های کارامد فرانکیا با توانایی زیاد تثبیت نیتروژن، برای افزایش رشد و بهبود وضعیت تغذیه‌ای توسکای قشلاقی ضروری است. بدین منظور ۲۵ گره ریشه‌ای فرانکیا از ریشهٔ درختان توسکای قشلاقی در نقاط مختلف استان گیلان برداشت شد. سوسپانسیون گره‌ها در شرایط گلخانه‌ای به نهال‌های رشدکرده در شن استریل تلقیح شد. پس از ده هفته گیاهان برداشت شده و خصوصیات رویشی، تغذیه‌ای و مقدار نیتروژن تثبیت‌شده در آنها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیشتر گره‌های ریشه‌ای سبب بهبود خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای نهال‌ها نسبت به شاهد شده‌اند. مقدار نیتروژن تثبیت‌شده در نهال‌ها از ۰/۰۱۷ تا ۰/۳۳۷ میلی‌گرم نیتروژن در میلی‌گرم گره متغیر بود؛ بیشترین مقدار نیتروژن در نهال‌های تلقیح‌شده با تیمار *Alnus glutinosa*6 تثبیت‌شده است. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین وزن گره، زیست‌تودهٔ گیاه و غلظت عناصر غذایی گیاه وجود داشت که بیانگر اثر مثبت تلقیح میکروبی است. با توجه به نتایج می‌توان گفت که برای رشد بهتر و کمک به استقرار نهال‌های توسکا، تلقیح آنها با جدایه یا سویه‌های مناسب فرانکیا ضرورت دارد. بر این اساس تیمار AG6 اثر بهتری بر رشد گیاهان دارد و می‌توان برای تکثیر و مطالعات بعدی از آن استفاده کرد.

واژگان کلیدی: توسکای قشلاقی، فرانکیا، گره ریشه‌ای، نیتروژن تثبیت‌شده.

مقدمه

توسکای قشلاقی (*Alnus glutinosa* (L.) Gaerth) بومی اروپا و شمال غربی آسیاست و در جلگه‌ها و جنگل‌های کم‌ارتفاع انتشار دارد. ارتفاع ۲۰۰ تا ۳۰۰ متر حد نهایی رویش آن است، بیشتر در بستر رودخانه‌های نیمه‌دائمی، حاشیه و دیوارهٔ رودخانه‌ها، مزارع، بیشه‌ها و مناطق نیمه‌باتلاقی و آب‌گرفته رشد می‌کند و یک زیرگونه از آن به‌نام (*Alnus glutinosa* Sp barbat (c.a.m) Yaltrick.1967) در جنگل‌های کم‌ارتفاع شمال ایران انتشار دارد. توسکا جزو گونه‌های گیاهی پیشاهنگ است و به‌دلیل توانایی تثبیت نیتروژن به‌عنوان کشت اصلی یا یک گونهٔ همراه و یاور در خاک‌های با حاصلخیزی کم یا اراضی تخریب‌شده به‌خوبی استقرار می‌یابد [۱] و به تشکیل جوامع گیاهی کمک می‌کند؛ بنابراین با توجه به اهمیت اقتصادی و اکولوژیکی این گونه، شناسایی روش‌های افزایش توان سازگاری و استقرار بهتر و عملکرد بیشتر این گونه برای

* نویسندهٔ مسئول، تلفن: ۰۵۱-۳۸۸۰۵۸۴۴
Email: lakzian@ferdowsi.um.ac.ir

حفظ محیط زیست، تولید چوب مورد نیاز صنایع و همچنین استفاده از آن در برنامه‌های حفاظتی بسیار ضروری است. در توده‌های جنگلی نیتروژن از عوامل اصلی محدودکنندهٔ رشد درختان است، ازاین‌رو در این زیست‌بوم‌ها، ریزجانداران تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن می‌توانند تأثیر مهمی داشته باشند. گیاهان لگومینوز به‌عنوان گیاه میزبان در فرایند تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، در خاک جنگل‌ها اهمیتی ندارند و گیاهان اکتینوریزی بسیار مهم‌اند. یکی از مهم‌ترین برهمکنش‌های ریزجانداران با گیاهان، همزیستی بین تعدادی از اکتینومایست‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن از جنس فرانکیا و گیاهان چوبی غیرلگومی است. برخلاف همزیستی ریزوبیوم- لگومینوز که بیشتر گیاهان میزبان به یک خانواده تعلق دارد، فرانکیا قادر به ایجاد گره‌های ریشه‌ای در همزیستی با گیاهان اکتینوریزی هشت خانوادهٔ گیاهی است که بیش از ۲۰۰ گونهٔ نهاندانه را شامل می‌شود [۲]، به‌علاوه گیاهان اکتینوریزی پراکنش جهانی دارند و بیشتر شامل درختان و درختچه‌های چوبی دولپه و چندساله‌اند. حدود ۴۰ میلیون تن یا ۳۱-۲۱ درصد از نیتروژن زیست‌بوم‌های خشکی را به طریق تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط زیست‌بوم‌های جنگلی نسبت می‌دهند [۳]. این آمارها قطعی نیست، ولی بر اهمیت و تأثیر تثبیت زیستی در بیلان جهانی نیتروژن در زیست‌بوم‌های جنگلی تأکید دارد. در تودهٔ جنگلی بیشترین مقدار تثبیت بیولوژیکی نیتروژن به همزیستی گیاهان اکتینوریزایی نسبت داده می‌شود که از این میان همزیستی فرانکیا با میزبان توسکا اهمیت ویژه‌ای دارد. توسکا از درختانی است که با اکتینومایست‌های جنس فرانکیا همزیستی دارد و در نتیجهٔ این همزیستی، غده‌های ریشه‌ای تشکیل می‌شود. این غده‌ها محل تثبیت نیتروژن مولکولی و تأمین‌کنندهٔ نیتروژن مورد نیاز رشد گیاه است [۴]. مقدار تثبیت نیتروژن ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار در سال توسط همزیستی فرانکیا با توسکا گزارش شده است [۵]، درحالی که مقدار تثبیت نیتروژن در خاک جنگل توسط پروکاریوت‌های آزادزی حداکثر ۱ کیلوگرم و برای همیارها حداکثر ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در سال گزارش شده است. از دیدگاه اکولوژیکی نیز برهمکنش فرانکیا- توسکا بسیار مهم است، زیرا این همزیستی در سراسر جهان از قطب شمال تا استوا وجود دارد. رابطهٔ همزیستی فرانکیا با توسکای قشلاقی نیز گزارش شده است [۲]. مطالعات متعددی هم در زمینهٔ کارایی سویه‌های فرانکیای همزیست با توسکا و همچنین دربارهٔ اثر کاربرد زادمایهٔ فرانکیا بر رشد توسکای قشلاقی انجام گرفته است [۴، ۶].

تاکنون دربارهٔ تأثیر اکتینومایست‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن بر درختان جنگلی (نهاندانگان دولپه‌ای غیر لگومینوز) تحقیقی در ایران صورت نگرفته است. بیشترین کارهای تحقیقی در کشور روی باکتری‌های همزیست تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن از نوع ریزوبیوم با گیاهان لگومینوز مرتعی و زراعی است. در دیگر نقاط جهان تحقیقات وسیعی دربارهٔ اکتینومایست‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن همزیست با فرانکیا صورت گرفته است. اثر زادمایهٔ غدهٔ خردشده بر رشد نهال اکتینوریزی در مکان تهیهٔ غده مؤثرتر از دیگر مکان‌ها بوده است [۷]. گزارش شده که تلقیح غده‌های خردشدهٔ ریشه‌ای فرانکیا روی نهال‌های توسکا در خاک خزانه سبب افزایش تعداد و اندازهٔ گره‌های ریشه‌ای و همچنین افزایش رشد نهال شده است [۶]. تحقیقات نشان داد که تلقیح برخی از گونه‌های توسکا با زادمایه‌های فرانکیای CPI3 و ARI7 در خزانه موجب افزایش تعداد و اندازهٔ غده‌های ریشه‌ای روی تمام گونه‌ها در مقایسه با شاهد شد؛ اما رشد نهال‌های توسکا در خزانه تفاوت معنی‌دار نداشت، ولی تلقیح سوش‌های فرانکیا به‌طور مداوم به‌مدت ۵ سال، موجب بهبود رشد نهال‌های توسکا در شرایط مزرعه شد [۸].

با توجه به اینکه استان گیلان یکی از رویشگاه‌های مهم درختان توسکاست و اکتینومایست‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن

تأثیر مهمی در تثبیت نیتروژن و رشد درختان توسکا دارند، شناسایی و امکان کشت و تکثیر آنها در شرایط آزمایشگاهی به‌منظور تلقیح به خاک نهالستان‌های توسکا، روش مناسبی برای تولید نهال‌های قوی و شاداب است. این امر موجب می‌شود که استقرار و رشد نهال‌های توسکا در رویشگاه اصلی نیز اصلاح شود و بهبود یابد. متأسفانه تاکنون پژوهشی در زمینهٔ جداسازی، شناسایی و کاربرد فرانکیای همزیست با توسکا در ایران انجام نگرفته است؛ ازاین‌رو این تحقیق، به‌منظور بررسی کارایی فرانکیای همزیست با توسکای بومی ایران برای توسعهٔ فناوری تولید و کاربرد این ریزجانداران در رشد و تغذیهٔ گیاه میزبان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گره‌های فرانکیا

به‌منظور تهیهٔ زادمایهٔ فرانکیا، ۲۵ گره از ریشه‌های توسکای قشلاقی [۹] از استان گیلان جمع‌آوری شد (جدول ۱). مشخصات جغرافیایی هر منطقه با استفاده از دستگاه GPS ثبت شد. پس از انتخاب مکان موردنظر، گره‌های جوان و فعال (رنگ روشن پوست) از یک تک‌درخت در هر مکان برداشت شد. پس از برداشت، غده‌ها در ظروف حاوی دستمال کاغذی مرطوب و در محفظهٔ یخ به آزمایشگاه منتقل شد [۱۰]. در آزمایشگاه، خاک چسبیده به غده‌ها روی الک و زیر شیر آب به‌خوبی شسته شد و غده‌ها به‌مدت یک دقیقه با هیپوکلریت سدیم (۱ درصد کلرین فعال) و سپس آب‌اکسیژنه (۳۰ درصد) ضدعفونی سطحی شده و چندین بار با آب مقطر استریل آبکشی شدند. غده‌ها تا زمان استفاده در کیسه‌های پلی‌اتیلنی در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۱].

تهیهٔ زادمایهٔ فرانکیا

مقدار مساوی (وزنی) از پره‌های[1] هر گره جمع‌آوری‌شده (۲۵ عدد) به کمک تیغ جراحی استریل جدا شده و داخل لولهٔ اپندورف [۱] حاوی مقدار کمی آب مقطر استریل له شد. سپس سوسپانسیون حاصل با محلول ساکارز ۲ درصد به حجم رسانده [۱۲] و به این ترتیب ۲۵ نمونه مایهٔ فرانکیا، برای تلقیح آماده شد.

تهیهٔ بذر و تولید نهال توسکا

بذر از یک تک‌درخت توسکا جمع‌آوری شد. بذرها به‌مدت ده دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم (۱ درصد کلرین فعال) ضدعفونی شدند و سپس در پتری دیش‌هایی با ارتفاع ۳ میلی‌متر حاوی کاغذ صافی مرطوب در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند تا جوانه بزنند [۴]. پنج بذر جوانه‌زده به هر گلدان پلاستیکی با حجم ۳ لیتر و پرشده با شن استریل منتقل شده و به‌صورت هفتگی تا یک هفته قبل از افزودن زادمایه، با محلول غذایی با غلظت کم نیتروژن (یک‌چهارم) آبیاری شدند [۱۳]. گیاهان در گلخانه با دمای روزانهٔ ۲۸ و شبانهٔ ۱۴ درجهٔ سانتی‌گراد و روشنایی روزانهٔ ۱۴ ساعت قرار داده شد و پس از دو هفته، نهال‌ها تنک شدند و یک نهال در هر گلدان باقی ماند.

طرح آزمایشی و بررسی اثر زادمایهٔ فرانکیا بر رشد و تغذیهٔ توسکا

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت بود از: ۱. ۲۵ زادمایه به‌همراه یک شاهد؛ بعد از رسیدن نهال‌ها به شش‌هفتگی، حجم مساوی از سوسپانسیون زادمایهٔ تهیه‌شده به اطراف ریشهٔ نهال اضافه شد و نهال‌های شاهد نیز حجم مساوی از سوسپانسیون استریل‌شده دریافت کردند [۱۲]. دو هفته پس از تلقیح و هر هفته تا زمان برداشت، نهال‌ها با محلول غذایی ۱/۴ هوگلند فاقد نیتروژن آبیاری شدند [۱۳]. طی این مدت شرایط رویشی گیاهان شامل تغییرات ارتفاع و قطر یقه اندازه‌گیری و ثبت شد. غده‌ها، و اندام‌های هوایی و زمینی گیاه بعد از ده هفته در مرحلهٔ رویشی برداشت

1. Lobes

شده و پس از توزین، برای آزمایش‌های بعدی در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد در آون خشک شد. وزن خشک اندام هوایی، ریشه و غده، کارایی جذب (معادلهٔ ۱) [۱۴]، اثر تلقیح میکروبی [۱۵] (معادلهٔ ۲)، و مقدار نیتروژن تثبیت‌شده (معادلهٔ ۳) [۱۶] تعیین شد. غلظت نیتروژن کل موجود در نمونه‌های اندام هوایی به روش کجلدال اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت فسفر و پتاسیم پس از هضم خشک نمونه‌ها و عصاره‌گیری با اسیدکلریدریک ۲ نرمال، مقدار فسفر به روش رنگ‌سنجی با وانادات فسفومولیبدات با دستگاه اسپکتروفتومتر Apple PD303 و مقدار پتاسیم با قرائت با دستگاه فلیم‌فتومتر فاطرالکترونیک610G اندازه‌گیری شد [۱۷].

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف بررسی شد؛ سپس تجزیه‌وتحلیل آماری و مقایسهٔ میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون توکی در محیط SAS [۱۸] انجام گرفت.

نتایج و بحث

مشخصات جغرافیایی و نشانی مکان‌های جمع‌آوری گره‌های فرانکیای همزیست با توسکای قشلاقی در جدول ۱ ارائه شده است.

خصوصیات رویشی نهال‌ها

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که کاربرد زادمایهٔ فرانکیا در سطح آماری ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات رویشی نهال‌ها داشته است (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین ارتفاع ۳۶/۷ و ۱۸/۳ سانتی‌متر به‌ترتیب در نهال‌های تلقیح‌شده با مایهٔ AG8 و AG11 وجود دارد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند و افزایش حدود ۱۰۰ درصد ثبت شد؛ این تیمارها نسبت به شاهد به‌ترتیب ۴۷ و ۲۷ درصد افزایش و کاهش ارتفاع داشتند (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین قطر نهال‌ها نیز نشان داد که ۸۰ درصد از زادمایه نسبت به شاهد موجب افزایش ۳ تا ۴۰ درصدی قطر نهال شده است. بیشترین و کمترین قطر نهال به‌ترتیب با ۴/۷ و ۲/۹ میلی‌متر در تیمارهای AG4 و AG16 مشاهده شد (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که کاربرد ۱۹ عدد زادمایه نسبت به شاهد سبب افزایش وزن اندام هوایی به مقدار ۴ تا ۱۰۰ درصد شد؛ بیشترین و کمترین افزایش وزن اندام هوایی به‌ترتیب با ۵/۹ و ۲/۱ گرم در تیمار AG6 و AG16 مشاهده شد. دیگر زادمایه‌ها بدون تأثیر بودند یا حداکثر سبب کاهش ۴ درصدی وزن هوایی در مقایسه با تیمار شاهد شدند (جدول ۲). با مقایسهٔ میانگین‌ها مشخص شد که به‌جز تیمار AG19 که سبب کاهش ۵۵ درصدی وزن ریشه شد، دیگر مایه‌های تلقیح سبب افزایش ۳۶ تا ۳۰۰ درصدی وزن ریشه در مقایسه با شاهد شدند؛ بیشترین وزن ریشه با ۲/۹ گرم مربوط به تیمار AG6 است (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که وزن گره‌های ریشه‌ای با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشت و وزن گره‌ها بین ۰/۳ تا ۰/۹ گرم متغیر بود؛ بیشترین وزن گره در تیمار AG6 و کمترین وزن گره در تیمار AG19 مشاهده شد (جدول ۲).

تلقیح میکروبی اثر افزایشی معنی‌داری بر زی‌تودهٔ گیاه و وزن گره نشان داد. نهال‌های *Alnus nitida* و *Alnus maritime* تلقیح‌شده با سوسپانسیون گره‌های خردشدهٔ توسکا در مقایسه با نهال‌های شاهد، رویش سریع‌تر و بیشتر و نیتروژن بیشتری داشتند [۷]. با توجه به اینکه ضرایب همبستگی بین خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای گیاه مثبت و معنی‌دار است، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش رشد گیاهان تلقیح‌شده، ممکن است به‌دلیل افزایش کارایی جذب، افزایش قابلیت دسترسی عناصر و کارایی تلقیح میکروبی باشد.

$$\text{کارایی جذب عنصر (میکروگرم در میلی‌گرم ریشه)} = \frac{\text{مقدار عنصر در گیاه}}{\text{وزن ریشه}} \quad (۱)$$

$$\text{اثر تلقیح میکروبی (درصد)} = \frac{\text{وزن خشک گیاه تلقیح نشده} - \text{وزن خشک گیاه تلقیح شده}}{\text{وزن خشک کل گره‌ها در گیاه}} \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

$$\text{نیتروژن تثبیت‌شده (میلی‌گرم در میلی‌گرم گره)} = \frac{\text{نیتروژن کل در گیاه تلقیح نشده} - \text{نیتروژن کل در گیاه تلقیح شده}}{\text{وزن خشک کل گره‌ها در گیاه}} \quad (۳)$$

جدول ۱. مختصات جغرافیایی نقاط نمونه‌برداری‌شده

کد نمونه	شهرستان	نشانی	موقعیت جغرافیایی(UTM)	
			X	Y
AG4	املش	جادهٔ شلمان–املش	۴۳۱۳۰۱	۴۱۰۷۱۵۶
AG5	املش	جادهٔ اطاقور–روبه‌روی کارواش آیدین	۴۲۲۹۶۸	۴۱۰۶۹۴۹
AG6	آستانه	صفرابسته	۴۰۹۰۳۶	۴۱۳۳۲۹۹
AG7	آستانه	بندرکیاشهر– امیرکیاسر	۴۱۱۳۳۹	۴۱۴۱۵۱۸
AG8	آستانه	بندر کیاشهر–جادهٔ دهکدهٔ ساحلی	۴۰۸۵۵۵	۴۱۴۱۷۴۶
AG9	آستانه	نازکسرا– کنار مسجد ابوالفضل	۴۰۵۵۶۷	۴۱۳۰۹۱۴
AG10	آستانه	جادهٔ لشت‌نشا– انبار کود	۴۰۵۲۷۵	۴۱۲۷۲۱۷
AG11	آستانه	بندر کیاشهر– طرح سالم‌سازی	۴۰۹۷۲۸	۴۱۴۲۷۲۲
AG12	تالش	اسالم سیاه بیل	۳۲۳۱۴۹	۴۱۷۰۲۶۵
AG13	چابکسر	روبه‌روی پایگاه هلال‌احمر	۴۶۳۲۳۳	۴۰۱۹۱۲۲
AG14	چابکسر	بعد از پل اصلی	۴۶۱۳۳۸	۴۰۹۳۰۷۶
AG15	چابکسر	روبه‌روی پل هوایی اول جادهٔ قاسم‌آباد	۴۵۶۰۱۴	۴۰۹۵۷۱۵
AG16	چابکسر	جادهٔ کلاچای–جنب هتل گیل ماز	۴۵۲۷۸۰	۴۰۹۸۱۷۱
AG17	رامسر	کمربندی–روبه‌روی قایم کلایه	۴۷۸۳۶۹	۴۰۸۱۴۰۹
AG18	رامسر	جادهٔ چابکسر–قبل از گل نرگس	۴۶۷۴۷۷	۴۰۸۹۰۳۳
AG19	رشت	لشت‌نشا فخرآباد	۴۰۰۴۳۵	۴۱۳۹۳۹۴
AG20	رضوانشهر	گیسوم–پیلمبرا	۳۰۲۵۰۵۸	۴۱۷۱۲۱۱
AG21	سنگر	جادهٔ شاقاجی– کنار دکل مخابرات	۳۹۴۷۵۸	۴۱۱۱۱۵۱
AG22	سنگر	جادهٔ شاقاجی	۳۸۴۲۶۵	۴۱۱۰۶۳۳
AG23	سیاهکل	جادهٔ ازبرم	۴۰۴۵۷۳	۴۱۱۰۴۷۶
AG24	شلمان	جادهٔ شلمان–املش	۴۳۱۱۱۵	۴۱۰۹۷۴۰
AG25	فومن	جادهٔ ماسوله–روبه‌روی دانشکدهٔ فنی	۳۴۷۷۶۰	۴۱۲۰۶۰۲
AG26	فومن	پیش‌حصار	۳۴۶۶۱۹	۴۱۲۰۳۵۶
AG27	لنگرود	اطاقور–جادهٔ خرما	۴۲۰۶۵۴	۴۱۰۶۵۳۹
AG28	لنگرود	جادهٔ مریدان– روبه‌روی ورودی بام سبز	۴۲۶۰۳۷	۴۱۰۹۷۶۰

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین اثر جدایه‌های مختلف فرانکیا بر برخی خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای نهال‌های توسکای قشلاقی

مکان	ارتفاع سانتی‌متر	قطر میلی‌متر	وزن خشک (گرم)			غلظت عناصر (درصد)			کارایی جذب (میکروگرم در میلی‌گرم ریشه)			اثر تلقیح میکروبی (درصد)
	ساقه		ساقه	ریشه	گره	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	
شاهد	۲۵	۳/۳	۲/۴	۰/۶۶	۰/۰	۱/۶	۰/۴	۱/۲	۴۱/۴	۱۳/۱	۴۳/۶	۰/۰
AG4	۳۷/۳	۴/۷	۴/۱	۱/۷	۰/۷	۳/۲	۰/۸	۲/۲	۷۵/۵	۲۰/۰	۵۵/۱	۴۰/۸
AG5	۲۸	۳/۷	۴/۷	۱/۹	۰/۷	۳/۵	۱/۱	۳/۲	۸۷/۲	۲۸/۹	۸۲/۲	۴۷/۴
AG6	۲۹/۷	۴/۵	۵/۹	۲/۹	۰/۹	۴/۲	۱/۲	۳/۰	۸۵/۴	۲۳/۷	۶۰/۸	۵۹/۴
AG7	۳۱/۷	۴/۴	۳/۸	۰/۹	۰/۶	۳/۵	۰/۷	۱/۹	۱۶۱/۵	۳۱/۳	۸۴/۲	۳۷
AG8	۳۶/۷	۴/۶	۳/۸	۱/۶	۰/۶	۳/۸	۰/۷	۱/۹	۸۹/۴	۱۷/۱	۴۵/۸	۳۷/۷
AG9	۳۲/۷	۴/۴	۴/۱	۱/۶	۰/۷	۴/۰	۰/۸	۲/۲	۱۰۵/۹	۲۲/۰	۵۹/۶	۴۲/۳
AG10	۲۶/۳	۳/۹	۲/۷	۱/۲	۰/۵	۴/۶	۰/۷	۲/۲	۱۰۳/۵	۱۴/۹	۵۰/۳	۱۱/۵
AG11	۱۸/۳	۳/۰	۲/۷	۰/۹	۰/۵	۳/۸	۰/۷	۱/۹	۱۲۳/۸	۲۱/۶	۶۱/۲	۱۲/۴
AG12	۲۲	۳/۵	۳/۳	۰/۹	۰/۵	۴/۱	۰/۸	۲/۱	۱۵۱/۸	۲۹/۰	۷۷/۲	۲۷/۳
AG13	۲۱/۵	۴/۵	۲/۹	۱/۱	۰/۵	۳/۶	۰/۶	۱/۹	۱۰۰/۳	۱۷/۲	۵۴/۳	۱۷/۹
AG14	۲۰/۷	۴/۳	۲/۵	۱/۳	۰/۴	۳/۱	۰/۶	۱/۹	۶۰/۶	۱۰/۹	۳۶/۹	۶
AG15	۱۸/۷	۳/۱	۲/۲	۱/۱	۰/۳	۲/۷	۰/۵	۱/۷	۵۵/۵	۹/۹	۳۵/۶	۶/۷
AG16	۲۲	۲/۹	۲/۲	۱/۲	۰/۳۳	۲/۶	۰/۵	۱/۶	۴۸/۷	۸/۷	۲۹/۹	۹/۵
AG17	۳۲/۷	۳/۷	۲/۴	۰/۹	۰/۴	۲/۹	۰/۵	۱/۷	۸۵/۳	۱۴/۴	۴۹/۰	۳/۳
AG18	۳۰/۷	۴/۲	۳/۱	۰/۹	۰/۵	۳/۶	۰/۶	۱/۹	۱۲۹	۲۱/۶	۶۷/۱	۲۲/۱
AG19	۲۹	۳/۷	۲/۴	۰/۳	۰/۴	۲/۷	۰/۴	۱/۶	۲۱۳/۲	۳۶/۳	۱۲۷/۲	۱/۵
AG20	۲۷/۳	۳/۸	۲/۷	۱/۵	۰/۴	۳/۲	۰/۷	۲/۳	۵۶/۸	۱۱/۷	۴۰/۵	۱۰/۸
AG21	۲۶	۳/۸	۲/۹	۰/۹	۰/۵	۳/۵	۰/۵	۱/۷	۱۱۴/۵	۱۷/۸	۵۴/۶	۱۷/۲
AG22	۲۵	۲/۹	۳/۱	۰/۹	۰/۵	۳/۷	۰/۶	۲/۰	۱۳۴	۲۲/۹	۷۰/۴	۲۱/۷
AG23	۲۲/۵	۳/۸	۴/۷	۱/۰	۰/۳	۳/۷	۰/۵	۱/۸	۶۷/۷	۱۱/۹	۴۲/۱	۴۸/۱
AG24	۲۵	۳/۸	۲/۸	۰/۹	۰/۵	۳/۲	۰/۶	۲/۰	۱۰۰/۴	۱۸/۸	۶۳/۱	۱۴/۹
AG25	۲۶/۳	۴/۱	۲/۶	۱/۶	۰/۷	۲/۷	۰/۷	۲/۲	۹۲	۱۹/۱	۵۶/۲	۸/۶
AG26	۲۶/۳	۳/۸	۳/۸	۱/۸	۰/۶۳	۳/۲	۰/۷	۱/۹	۸۰/۹	۱۴/۵	۳۹/۴	۳۶/۱
AG27	۳۱/۳	۴/۲	۲/۱	۱/۳	۰/۳	۲/۵	۰/۵	۱/۷	۴۰/۳	۷/۳	۲۷/۱	۱۴/۷
AG28	۲۵/۳	۳/۳	۲/۷	۱/۵	۰/۴	۳/۲	۰/۶	۲/۲	۵۴/۳	۱۰/۹	۳۷/۱	۱۲
P							<۰/۰۰۰۱					
C.V%	۱۲/۲	۱۰/۸	۱۴/۲	۱۹/۲	۱۵/۰	۱۳/۵	۱۶/۶	۱۳/۲	۲۲/۲	۲۷/۳	۲۳/۱	۲۹/۹
LSD	۱۰/۴۷	۱/۳۳	۱/۴۱	۰/۷۶	۰/۲۳	۱/۵	۰/۳۵	۰/۸۵	۶۸/۲	۱۵/۹	۴۱/۵	۲۰/۴

غلظت و کارایی جذب عناصر غذایی

با تجزیهٔ واریانس مشخص شد که کاربرد زادمایهٔ فرانکیا در سطح آماری ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر مقدار عناصر غذایی نهال‌ها داشته است (جدول ۲). بیشترین و کمترین غلظت نیتروژن به‌ترتیب با ۴/۶ و ۱/۶ درصد در نهال‌های تلقیح‌شده با مایهٔ AG10 و شاهد وجود داشت (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که غلظت نیتروژن در همهٔ نهال‌های تلقیح‌شده با ۲/۵ تا ۴/۶ درصد بیشتر از نهال شاهد بود و افزایشی حدود ۵۶/۲ تا ۱۸۷/۵ درصد داشت. مقایسهٔ میانگین غلظت فسفر هم نشان داد که به‌جز زادمایهٔ AG19، بقیهٔ مایه‌های تلقیح، سبب افزایش ۲۵ تا ۲۰۰ درصدی فسفر گیاه شد (جدول ۲)، به‌طوری‌که تیمار AG6 با ۱/۲ درصد بیشترین مقدار فسفر را داشت. مایه‌های تلقیح فرانکیا سبب بهبود وضعیت پتاسیم در نهال‌ها شد. افزایش غلظت پتاسیم در نهال‌های تلقیح‌شده بین ۳۳ تا ۱۶۷ درصد متغیر بود، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین غلظت پتاسیم به‌ترتیب با مقادیر ۳/۲ و ۱/۲ درصد در نهال‌های تلقیح‌شده با مایه AG5 و شاهد وجود داشت (جدول ۲).

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که کاربرد مایه‌های تلقیح فرانکیا اثر معنی‌داری بر کارایی جذب عناصر داشت (جدول ۲). کارایی جذب نیتروژن با کاربرد همهٔ تیمارها به‌جز AG27 افزایش معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که نسبت به شاهد کارایی جذب در نهال‌های تلقیح‌شده بین ۱۸ تا ۴۱۵ درصد بیشتر بود. کمترین و بیشترین کارایی جذب نیتروژن با مقادیر ۴۰/۳ و ۲۱۲/۳ درصد به‌ترتیب در تیمارهای AG27 و AG19 مشاهده شد. مقایسهٔ میانگین کارایی جذب فسفر و پتاسیم هم نشان داد که نهال‌های تلقیح‌شده با AG19 به‌ترتیب با ۳۶/۳ و ۱۲۷/۲ درصد بیشترین کارایی جذب را داشتند (جدول ۲).

نمونه‌های فرانکیای جمع‌آوری‌شده از محل‌های مختلف، اثرهای مثبت و مفیدی بر تغذیه و کارایی جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم داشتند. همهٔ نمونه‌های بررسی‌شده سبب افزایش مقدار تثبیت نیتروژن در نهال‌های توسکا شدند. تلقیح همزمان یا جداگانهٔ فرانکیا و قارچ میکوریزی *Glomus intraradices* سبب افزایش معنی‌دار خصوصیات رویشی و وضعیت نیتروژن و فسفر در نهال‌های توسکای قشلاقی شد [۱۹]. افزایش غلظت و مقدار تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بعد از تلقیح فرانکیا هم می‌تواند بیانگر کارایی جدایه‌های مورد استفاده باشد. افزایش غلظت عناصر غذایی در نهال‌های تلقیح‌شده می‌تواند به‌عنوان مزیتی برای مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی استفاده شود.

اثر تلقیح میکروبی

با تجزیهٔ واریانس داده‌ها مشخص شد که اثر تلقیح میکروبی بین تیمارها تفاوت معنی‌داری دارد، به‌طوری‌که اثر تلقیح میکروبی از ۱/۵ درصد در تیمار AG19 تا ۵۹/۴ درصد در تیمار AG6 افزایش داشت (جدول ۲).

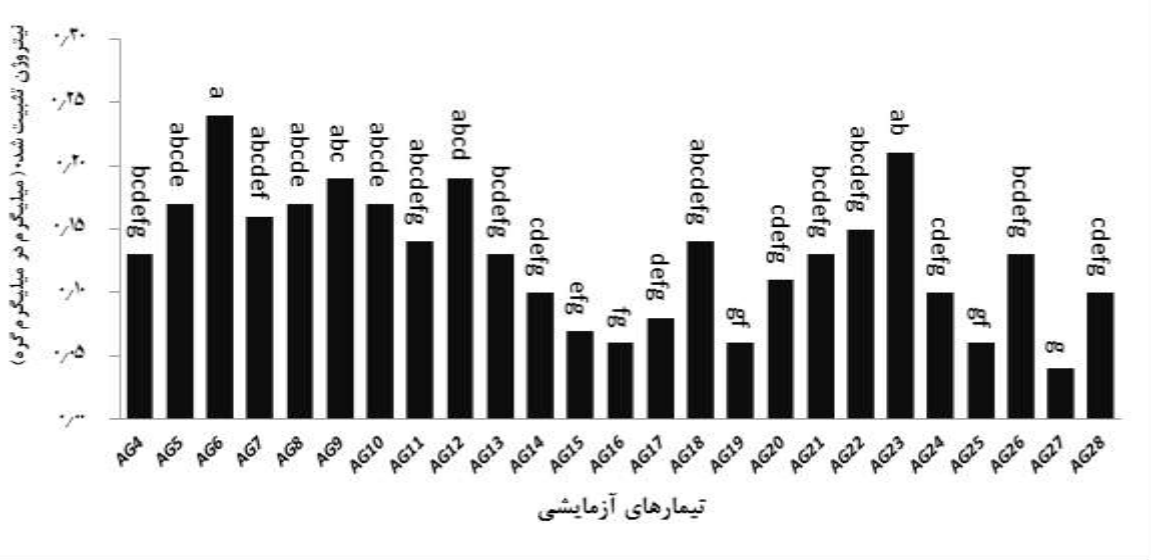
مقدار نیتروژن تثبیت‌شده

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تلقیح با فرانکیا اثر معنی‌داری بر مقدار تثبیت زیستی نیتروژن دارد. مقدار نیتروژن تثبیت‌شده در نهال‌ها از ۰/۰۱۷ تا ۰/۳۳۷ میلی‌گرم نیتروژن در میلی‌گرم گره متغیر بود. مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار نیتروژن در نهال‌های تلقیح‌شده با تیمار AG6 تثبیت شده است (شکل ۱).

جدول ۳. ضرایب همبستگی بین خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای نهال‌های توسکای قشلاقی

	تثبیت زیستی نیتروژن	کارایی جذب: پتاسیم	کارایی جذب: فسفر	کارایی جذب: نیتروژن	اثر تلقیح	وزن گره	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	وزن ریشه	وزن خشک اندام هوایی	قطر یقه
ارتفاع نهال	۰/۱۶	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۰۵	۰/۲۴*	۰/۲۱	۰/۱۱	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۱۹	۰/۳۲**	۰/۵۵**
قطر یقه	۰/۲۸*	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۰۴	۰/۱۰	۰/۲۶*	۰/۲۲	۰/۲۶*	۰/۱۵	۰/۲۶*	۰/۴۰**	۱
وزن خشک اندام هوایی	۰/۸۳**	۰/۲۲*	۰/۴۷**	۰/۱۳	۰/۳۸**	۰/۸۸**	۰/۶۹**	۰/۹۰**	۰/۵۷**	۰/۷۴**	۱	
ریشهٔ وزن خشک	۰/۷۰**	−۰/۳۴**	−۰/۱۴	−۰/۴۶**	۰/۱۴	۰/۶۸**	۰/۶۷**	۰/۷۲**	۰/۳۶**	۱		
غلظت نیتروژن	۰/۸۷**	۰/۱۳	۰/۳۰**	۰/۳۶**	۰/۱۳	۰/۶۴**	۰/۳۸**	۰/۵۴**	۱			
غلظت فسفر	۰/۷۸**	۰/۲۶*	۰/۵۰**	۰/۰۷	۰/۳۳**	۰/۸۵**	۰/۸۷**	۱				
غلظت پتاسیم	۰/۶۱**	۰/۲۱	۰/۳۱**	−۰/۱۱	۰/۳۶**	۰/۶۲**	۱					
وزن گره	۰/۸۴**	۰/۱۶	۰/۴۲**	۰/۱۴	۰/۱۹	۱						
اثر تلقیح میکروبی	۰/۲۷*	۰/۳۰**	۰/۲۹**	۰/۱۹	۱							
کارایی جذب نیتروژن	۰/۱۸	۰/۸۶**	۰/۸۳**	۱								
کارایی جذب فسفر	۰/۳۲**	۰/۹۳**	۱									
کارایی جذب پتاسیم	۰/۱۰	۱										

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد؛ * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد



شکل ۱. مقایسهٔ میانگین مقدار تثبیت نیتروژن در نهال‌های توسکای قشلاقی تلقیح‌شده با جدایه‌های مختلف فرانکیا (میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

ضرایب همبستگی بین صفات

ضرایب همبستگی پیرسون بین خصوصیات رویشی، تغذیه‌ای و بیولوژیکی نهال‌های توسکای تلقیح‌شده با جدایه‌های مختلف فرانکیا در جدول ۳ ارائه شده است. مشاهده می‌شود که وزن گره و تلقیح میکروبی اثر مثبت معنی‌داری بر مقدار تثبیت زیستی نیتروژن دارند. همبستگی مثبت و معنی‌داری هم بین وزن گره، زی‌تودهٔ گیاه و غلظت عناصر غذایی گیاه وجود دارد که بیانگر اثر مثبت تلقیح میکروبی است. وجود همبستگی بیانگر این است که تثبیت نیتروژن به فتوسنتز گیاهی وابسته است [۲۰].

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که جدایه‌های مختلف فرانکیا در مجموع اثر مثبتی بر رشد و خصوصیات تغذیه‌ای نهال‌های توسکای قشلاقی دارند و به‌طور میانگین سبب افزایش حدود ۳۰ درصدی رویش قطری و ارتفاعی نهال‌ها شدند. با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت برای رشد بهتر و کمک به استقرار نهال‌های توسکا، تلقیح آنها با جدایه یا سویه‌های مناسب فرانکیا ضرورت دارد. بر این اساس تیمار AG6 اثر بهتری بر رشد گیاهان داشت و برای تکثیر و مطالعات بعدی می‌توان از آن استفاده کرد.

References

[1]. Benson, D.R. (1982). Isolation of Frankia Strains from Alder Actinorhizal Root Nodules. Applied Environmental Microbiology, 44(2): 461-465.

[2]. Benson, D.R., and Silvestre, W.B. (1993). Biology of Frankia strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. Microbiological Reviews, 57(2): 293-319.

[3]. Burns, R.C., and Hardy, R.W.F. (1975). Nitrogen fixation in bacteria and higher plants. Springer-Verlag, New York.

[4]. Wolters, D.J., Akkermans, A.D.L., and Van Dijk, C. (1997). Ineffective Frankia Strains in wet stands of *Alnus Glutinosa* L. Gaertn. In the Netherlands. Soil Biology and Biochemistry, 29(11-12): 1707-1712.

[5]. Newton, M., El Hassen, B.A., and Zavitkovski, J. (1968). Role of red alder in western Oregon forest succession. In: "Biology of Alder". U.S. Department of Agriculture., Forest Service. Pacific Northwest Forest Range Experiment Station, Portland, Oregon, 73-83.

[6]. Wheeler, C.T., Hollingsworth, M.K., Hooker, J.E., McNeill, J.D., Mason, W.L., Moffat, A.J. and Sheppard, L.J. (1991). The effect of inoculation with either cultured Frankia or crushed nodules on nodulation and growth of *Alnus rubra* and *Alnus glutinosa* seedlings in forest nurseries. Forest Ecology and Management, 43(1-2): 153-166.

[7]. Schrader, J.A., and Graves, W.R. (2008). Nodulation and Growth of *Alnus nitida* and *Alnus maritime* Inoculated with Species-specific and Non-specific Frankia. Journal of Environmental Horticulture, 26(1): 29-34.

[8]. Moffat, A.J. (2000). Effect of inoculation with Frankia on the growth and nutrition of alder species and inter planted Japanese larch on restored mineral workings. Forestry, 73(3): 215-223.

[9]. Welsh, A.K., Dawson, J.O., Gottfried, G.J. and Hahn, D. (2009). Diversity of Frankia populations in root nodules of geographically isolated Arizona alder trees in central Arizona (United States). Applied and Environmental Microbiology, 75(21): 6913-6918.

[10]. Myrold, D.D. (1994). Frankia and the Actinorhizal Symbiosis. In: Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical properties-SSSA Book Series, no.5., Soil Science Society of America, Madison.

[11]. Vásquez, L., Pérez, N.O., and Valdés, M. (2000). Isolation and symbiotic characteristics of Mexican Frankia strains associated with *Casuarina*. Applied Soil Ecology, 14(3): 249-255.

[12]. Reddell, P., Rosbrook, P.A., Bowen, G.D., and Gwaze, D. (1988). Growth response in *casuarina cunninghamiana* plantings to inoculation with Frankia. Plant and Soil, 108(1): 76-86.

[13]. Hoagland, D.R., and Arnon, D.I. (1950). The water culture method for growing plant without soil. *California Agricultural Experiment Station:* Circular, *California*.

[14]. Gray, J.T., and Schlesinger, W.H. (1983). Nutrient use by evergreen and deciduous shrubs in southern California. Journal of Ecology, 71: 43-56.

[15]. Muthukumar, T., and Udaiyan, K. (2006). Growth of nursery-grown bamboo inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria in two soil types with and without fertilizer application. New Forests, 31(3): 469-485.

[16]. NG, B.H. (1987). The effects of salinity on growth, nodulation and nitrogen fixation of *Casuarina equisetifolia*. Plant and Soil, 103(1): 123-125.

[17]. Motsara, M.R. and Roy, R.N. (2008). Guide to laboratory establishment for plant nutrient analysis. FAO, Rome, Italy.

[18]. SAS Institute (2003). JMP: Statistics and graphics guide, version 5.1.SAS Institute, Cary, North Carolina.

[19]. Oliveira, R.S., Castro, P.M.L., Dodd, J.C., and Vosatka, M. (2005). Synergistic effect of *Glomus intraradices* and Frankia spp. on the growth and stress recovery of *Alnus glutinosa* in an alkaline anthropogenic sediment. Chemosphere, 60(10): 1462-1470.

[20]. Arnone, J.A., and Gordon, J.C. (1990). Effect of nodulation, nitrogen fixation and CO_2 enrichment on the physiology, growth and dry mass allocation of seedlings of *Alnus rubra* Bong. New Phytologist, 116: 55-66.

The effect of Frankia inoculation on growth, mineral nutrition, and N_2-fixation of *Alnus glutinosa*

E. Kahneh; Ph.D. Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. Iran

A. Lakzian[*]; Prof., Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. Iran

A. Astaraii; Assoc. Prof., Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. Iran

K. Khavazi; Assoc. Prof., Soil and Water Research Institute, AREEO, Karaj, I.R. Iran

(Received: 30 May 2015, Accepted: 14 December 2015)

ABSTRACT

Frankia symbiosis with Alnus *glutinosa* improves the growth and nutrition of the host plant. Therefore, the establishment of high N_2-fixing activities, active nodule-forming populations of Frankia in soil is desirable. In this study, seedlings of *A. glutinosa* were inoculated with Frankia isolated from twenty-five root nodules of *A. glutinosa* in different sites of Guilan province, northern Iran. The seedlings were grown in pots filled with sterilized sand in a green-house. The seedling growth, N_2-fixation and nodulation were measured 10 weeks after inoculation. The Inoculated seedling had higher dry weight of shoots, roots and nodules, and nutrients content compared to control. The N_2-fixing activity varied from 0.017 to 0.337 mg N mg^{-1} nodules. The greatest N_2-fixing capacity was observed in seedlings inoculated with AG6 Frankia crushed nodules compared with other treatments. There was a significant positive correlation coefficient between nodule dry weight, plant biomass and nutrients contents, that resulted of microbial inoculation effects. The results revealed that introduced Frankia could improve the growth and N_2-fixation of *A. glutinosa*. Thus, selection true sources of inoculums that have a considerable influence to *A. glutinosa* and optimizing the sustainable production of these inoculums are needed. We concluded that AG6 had a superior effect on *A. glutinosa* seedlings and can be used for future studies.

Keywords: *Alnus glutinosa*, Frankia, N_2-fixation, Root nodule.

[*] Corresponding Author, Email: lakzian@ferdowsi.um.ac.ir, Tel: 05138805844