جنگل و فرآورده‌های چوب، مجلهٔ منابع طبیعی ایران
دورهٔ ۷۳، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۹
ص ۲۹۵-۳۰۴ (پژوهشی)

دانشکده منابع طبیعی
دانشگاه تهران

DOI: 10.22059/jfwp.2020.295341.1058

تأثیر قارچ‌های اکتومیکوریزی بر جذب فسفر و رشد نهال‌های توسکای قشلاقی (*Alnus glutinosa*) در استان گیلان

احسان کهنه[1*]، امیر لکزیان[2]، علیرضا آستارایی[3]، کاظم خاوازی[4]، محبوبه مظهری[5]

۱. استادیار پژوهش، پژوهشکدهٔ چای، مؤسسهٔ تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، 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. استاد، مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۵. استادیار، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۴

چکیده

قارچ‌های اکتومیکوریزی با افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی، افزایش رشد و جذب عناصر غذایی می‌توانند در نهالستان‌های جنگلی سبب افزایش کیفیت و کمیت نهال‌ها شوند. از این‌رو به‌منظور بررسی اثر قارچ‌های اکتومیکوریزی بر رشد و جذب فسفر در نهال توسکای قشلاقی، آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار شامل قارچ *Cenoccum geophilum*، *Lactarius sp*، مصرف ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفات و شاهد در سه تکرار انجام گرفت. نمونهٔ خاک جنگلی با مقدار فسفر قابل دسترس کم، پس از استریل کردن با اتوکلاو، داخل گلدان‌ها توزیع شد. در هر گلدان یک نهال توسکای قشلاقی کاشته شده و با تیمار مورد نظر تلقیح شد. نهال‌ها در گلخانهٔ ایستگاه تحقیقات بذر و نهال جنگلی شلمان نگهداری شدند. پس از گذشت ده هفته از تلقیح، نهال‌ها برداشت شده و خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای آنها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که کاربرد قارچ‌ها موجب افزایش معنی‌دار ۳۰ درصدی قطر و ارتفاع و ۵۰ درصدی وزن خشک نهال در مقایسه با تیمار شاهد شده است. همچنین قارچ‌های اکتومیکوریزی در مقایسه با تیمار شاهد به‌ترتیب سبب افزایش ۱۸، ۸۲ و ۶۱ درصدی غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم در نهال‌های توسکا شده است. تفاوت درصد کلونیزاسیون ریشهٔ توسکا بین دو قارچ معنی‌دار بود، ولی از نظر کارایی تلقیح تفاوت معنی‌داری بین قارچ‌های اکتومیکوریزی وجود نداشت؛ بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که قارچ‌های اکتومیکوریزی سبب بهبود رشد و تغذیهٔ نهال‌های توسکای قشلاقی شده‌اند، اما مطالعات بیشتری برای شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریزی با کارایی بیشتر ضروری است.

واژه‌های کلیدی: توسکا، زی‌توده، کود زیستی، میکوریزای بیرونی.

مقدمه

توسکا جزو گونه‌های گیاهی پیشاهنگ است و به‌دلیل توانایی تثبیت نیتروژن، به‌عنوان کشت اصلی یا یک گونهٔ پرستار و یاور در خاک‌های با حاصلخیزی کم یا اراضی تخریب‌شده به‌خوبی استقرار می‌یابد [۱] و به تشکیل جوامع گیاهی کمک می‌کند. توسکاها از نظر زیست‌محیطی گیاهان مهمی بوده و منبع غذایی مهمی برای بسیاری از حیوانات و زنبور عسل هستند [۲]. اندام‌های مختلف گیاهی آن (ریشه، جوانه و

* نویسندهٔ مسئول، تلفن: ۰۱۳-۴۲۴۲۶۵۰۳
Email: e.kahneh@areeo.ac.ir

میوه) نیز کاربرد دارویی دارد [۳]. توسکا یکی از گونه‌های بومی تندرشد و باارزش جنگل‌های هیرکانی است که از نظر تعداد با ۴/۹ درصد، ششمین و ازنظر حجم چوبی با ۹/۰۸ درصد، چهارمین درخت تجاری جنگلی شمال کشور است [۴] و در برنامهٔ کلان احیای جنگل‌های مخروبهٔ شمال کشور، برای جنگلکاری اهمیت خاصی به آن داده شده است؛ بنابراین با توجه به اهمیت اقتصادی و اکولوژیکی این گونه، شناسایی روش‌های افزایش توان سازگاری و استقرار بهتر و عملکرد بیشتر این گونه برای حفظ محیط زیست، تولید چوب مورد نیاز صنایع و همچنین استفاده از آن در برنامه‌های حفاظتی بسیار ضروری است.

بسیاری از گیاهان اکتینوریزایی توانایی تشکیل همزیستی اندو و اکتومیکوریزایی را نیز دارند، بنابراین با ایجاد همزیستی چهارگانه، استقرار گیاهان در خاک‌های فقیر بهبود می‌یابد [۵]. قارچ‌های اکتومیکوریزی با افزایش جذب عناصر غذایی، آب و مقاومت گیاه به تنش‌های زنده و غیرزنده سبب رشد بهتر و افزایش زنده‌مانی نهال می‌شوند؛ بنابراین استفاده از قارچ‌های اکتومیکوریزی در نهالستان‌های جنگلی می‌تواند موجب کاهش مصرف نهاده‌ها و جلوگیری از آلودگی منابع آبی و خاکی شود [۶]. گزارش شده که سرعت جذب فسفر در توسکاهای اکتومیکوریزی پنج‌برابر توسکاهای غیر میکوریزایی است [۷]. در نهالستان‌های جنگلی قارچ‌های اکتومیکوریزی موجب افزایش رشد، شادابی [۸] و زنده‌مانی نهال‌ها پس از جابه‌جایی می‌شوند [۹]. تلقیح همزمان فرانکیا و قارچ اکتومیکوریزی آلپوا دیپلوپلوئوس (*Alpova diploploeus*) موجب افزایش رشد، تثبیت نیتروژن و جذب عناصر غذایی در توسکای تنویفولیا (*Alnus tenuifolia*) شده است [۱۰]، ارتفاع گیاه، وزن خشک ساقه، ریشه و گره نیز در تلقیح همزمان میکروارگانیسم‌ها نسبت به تلقیح جداگانه فرانکیا افزایش معنی‌دارتری داشته است. تلقیح توسکای سیبولدیانا (*Alnus sieboldiana*) با فرانکیا و جایگاسپورا مارگاریتا (*Gigaspora margarita*) در مقایسه با تلقیح جداگانهٔ فرانکیا سبب افزایش وزن خشک، ساقه، ریشه و گره شده است [۱۱]. کمبود فسفر، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن را در گیاهان اکتینوریزایی محدود می‌کند و شناسایی گونه‌های قارچ میکوریزی با کارایی بیشتر جذب فسفر برای موفقیت همزیستی چندگانه مهم است. بنابراین این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر دو گونه قارچ اکتومیکوریزی بر رشد و جذب فسفر در توسکای قشلاقی اجرا شد تا با شناسایی قارچ‌های مؤثر و همزیست با توسکا بتوان با روش بیولوژیکی کیفیت و کمیت نهال توسکا را افزایش داد.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ خاک و تولید نهال توسکا

نمونهٔ خاک سطحی (۳۰-۰ سانتی‌متر) با مقدار فسفر قابل دسترس کم، از ایستگاه تحقیقات بذر و نهال جنگلی شلمان تهیه شد. خاک هوا خشک شده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس دو بار و با فاصلهٔ ۴۸ ساعت در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و زمان یک ساعت استریل شد. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک پس از استریل کردن در جدول ۱ ارائه شده است. برای انجام آزمایش، گلدان‌ها با مخلوط استریل حاوی نسبت ۱:۱ خاک جنگلی با مقدار فسفر قابل دسترس کم و شن استریل پر شدند. بذر توسکای قشلاقی از یک تک‌درخت در منطقهٔ پیلمبرای تالش جمع‌آوری شد. بذرها به‌مدت ده دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم (۱٪ کلرید فعال) ضدعفونی شده و برای جوانه‌دار شدن در پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند. بذرها پس از جوانه زدن در گلدان‌های سه کیلوگرمی حاوی خاک یادشده کاشته شدند. گیاهان در گلخانهٔ ایستگاه تحقیقات بذر و نهال جنگلی شلمان شهرستان لنگرود استان گیلان، با دمای روزانهٔ ۲۸ و شبانهٔ ۱۴ درجهٔ سانتی‌گراد و روشنایی روزانهٔ ۱۴ ساعت قرار گرفتند [۱۲].

جدول ۱. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک آزمایش‌شده

pH	EC	جرم مخصوص حقیقی	جرم مخصوص ظاهری	کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر	پتاسیم	شن	سیلت	رس
	دسی‌زیمنس بر متر	گرم بر سانتی‌متر مکعب		درصد		میلی‌گرم در کیلوگرم			درصد	
۶/۱۱	۰/۸۱۱	۲/۴۹	۱/۴۳	۱/۱۴	۰/۱۵	۵/۱۶	۱۷۵	۴۲/۶	۳۶/۸	۲۰/۶

جدول ۲. ترکیب و مقدار مواد مورد نیاز برای محیط کشت MMN

ردیف	نام مادهٔ شیمیایی	مقدار مورد نیاز در یک لیتر
۱	$CaCl_2$	۰/۰۵ گرم
۲	NaCl	۰/۰۲۵ گرم
۳	KH_2PO_4	۰/۵ گرم
۴	$MgSO_4.7H_2O$	۰/۱۵ گرم
۵	$FeCl_3$1%	۱/۲ میلی‌لیتر
۶	thiamine HCl	۱۰۰ میلی‌گرم
۷	Malt Extract	۳ گرم
۸	Glucose	۱۰ گرم
۹	Agar	۲۰ گرم

تهیهٔ نمونه‌های قارچ

نمونهٔ قارچ سنوکوم جئوفیلوم (*Cenoccum geophilum*) به‌صورت کشت جامد دریافت شد و در محیط کشت MMN (جدول ۲) بازکشت و تکثیر شد. با توجه به فراوانی قارچ اکتومیکوریزی لاکتاریوس (*Lactarius sp*) در ریشهٔ درختان توسکا در منطقهٔ تحقیق، برای تهیهٔ مایهٔ تلقیح، میسلیوم‌های قارچی از خاک ریزوسفری درختان توسکای موجود در ایستگاه تحقیقات شلمان جمع‌آوری و پس از شناسایی اولیه، قطعاتی از میسلیوم‌ها در محیط کشت جامد MMN رشد داده شده و پس از بازکشت و خالص‌سازی برای تلقیح آماده شدند [۱۳]. مایهٔ تلقیح اکتومیکوریزی به روش نیم‌مک‌فارلند با تراکم جمعیتی ۱/۵×۱۰۸ سلول آماده شده و مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به منطقهٔ ریشهٔ هر نهال اضافه شد.

طرح آماری

به‌منظور بررسی تأثیر تلقیح قارچ اکتومیکوریزایی بر جذب فسفر و رشد نهال‌های توسکا، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار آزمایشی شامل ۱- دو نوع قارچ اکتومیکوریزایی: الف) سنوکوم جوفیلوم و ب) لاکتاریوس؛ ۲- مصرف فسفات به مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار؛ و ۳- تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ و بدون مصرف کود فسفاتی) با چهار تکرار و در مجموع شانزده گلدان در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. دیگر عناصر غذایی مورد نیاز بر مبنای توصیهٔ آزمون خاک به‌صورت یکسان به خاک همهٔ گلدان‌ها اضافه شد. در صورت نیاز به آب، آبیاری هر واحد آزمایشی جداگانه و با استفاده از آب مقطر استریل و به روش وزنی انجام گرفت. گیاهان پس از تلقیح به‌مدت ده هفته در گلخانه نگهداری شدند. سپس گیاهان برداشت شده و قطر و ارتفاع نهال، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، طول ریشه و غلظت عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم کل در اندام‌های گیاهی اندازه‌گیری شد.

تجزیهٔ شیمیایی خاک و گیاه

pH و هدایت الکتریکی خاک در نسبت ۱:۲ خاک به آب مقطر، کربن آلی به روش والکلی و بلاک، نیتروژن کل به روش کجلدال، فسفر قابل دسترس به روش رنگ‌سنجی و عصاره‌گیری با بیکربنات سدیم نرمال، پتاسیم قابل دسترس با

عصاره‌گیر استات آمونیوم نرمال و قرائت با دستگاه فلیم‌فتومتر و بافت خاک به روش هیدرومتری تعیین شد. غلظت نیتروژن کل موجود در نمونه‌های گیاهی به روش کجلدال اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت فسفر و پتاسیم پس از هضم خشک نمونه‌ها و عصاره‌گیری با اسیدکلریدریک دو نرمال، مقدار فسفر به روش رنگ‌سنجی با وانادات فسفومولیبدات و مقدار پتاسیم با قرائت با دستگاه فلیم‌فتومتر اندازه‌گیری شد [۱۴].

اندازه‌گیری طول ریشه

با استفاده از روش تقاطع شبکه، ابتدا شبکه‌ای شطرنجی با ابعاد ۱ در ۱ سانتی‌متر ترسیم و زیر پتری دیش چسبانده شد. سپس مقدار مساوی از ریشهٔ هر نهال داخل پتری دیش ریخته و کاملاً پخش شد. نقاط برخورد ریشه‌ها با خطوط عمودی و افقی شبکه شمارش شد و با استفاده از فرمول زیر طول ریشهٔ هر نهال محاسبه شد [۱۵].

(۱) طول ریشه (سانتی‌متر) = تعداد برخورد با شبکه × ۰/۷۸۶

تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه

برای بررسی تشکیل همزیستی میکوریزا ریشهٔ نهال‌ها کاملاً با آب شسته شده و سپس مقدار مساوی ریشه به‌طور تصادفی برداشت و در ظرف‌های حاوی اتانول ۶۰٪ نگهداری شد. سپس با بینی‌کولار گروه‌بندی نهال‌ها بر مبنای حضور یا نبود غلاف انجام گرفت. از روش تقاطع شبکه نیز برای محاسبهٔ درصد کلونیزاسیون میکوریزا استفاده شد. این روش بر پایهٔ تعداد برخورد ریشه‌ها با خطوط شبکه استوار است [۱۶].

تجزیه‌های آماری

تجزیهٔ واریانس خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای گیاهان، گره‌ها و خصوصیات خاکی برداشت‌شده پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروموف–اسمیرنوف، انجام گرفت. در صورت معنی‌دار بودن F، میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی مقایسه شدند. همبستگی بین مشخصه‌های اندازه‌گیری‌شده نیز تعیین شد. همهٔ تجزیه‌های آماری با نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

نتایج و بحث

خصوصیات رویشی نهال

با تجزیهٔ واریانس داده‌ها مشخص شد که کاربرد قارچ اکتومیکوریزی و فسفر بر قطر یقهٔ توسکا در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۳). مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که استفاده از قارچ موجب افزایش قطر یقه در توسکا شده است، ولی بین دو نوع قارچ استفاده‌شده تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

جدول ۳. تجزیهٔ واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات رویشی نهال

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات				
		قطر	ارتفاع	وزن خشک هوایی	وزن خشک ریشه	طول ریشه
تیمار	۳	۰/۹۶**	۷۵/۲**	۱/۴۸**	۰/۳۳**	۳۰/۷ns
خطای آزمایش	۱۲	۰/۰۵۴	۳/۵	۰/۰۲۵	۰/۰۲۸	۱۳/۴
ضریب تغییرات (٪)		۵/۹۱	۵/۵۱	۵/۷۹	۱۶	۱۶

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد ns: نبود تفاوت معنی‌دار.

نتایج نشان داد که مصرف قارچ‌های اکتومیکوریزی در مقایسه با شاهد به‌طور میانگین سبب افزایش ۳۰/۱۲ درصدی قطر نهال شده است. مصرف فسفر هم اثر معنی‌دار و مثبتی بر قطر یقهٔ توسکای قشلاقی داشته است (جدول ۴).

تجزیهٔ واریانس (جدول ۳) و مقایسهٔ میانگین ارتفاع

نهال‌ها (جدول ۴) مشخص کرد که در مقایسه با تیمار شاهد، استفاده از هر دو قارچ سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع نهال شده است، ولی بین دو قارچ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. نتایج نشان داد که به‌طور متوسط، قارچ‌های اکتومیکوریزی موجب افزایش ۳۰ درصدی ارتفاع نهال‌های توسکای قشلاقی شده‌اند، اما ارتفاع نهال در تیمارهای شاهد و مصرف فسفر اختلاف معنی‌داری ندارند (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین اثر قارچ اکتومیکوریزی و فسفر بر خصوصیات رویشی نهال‌های توسکای قشلاقی

منابع تغییر	میانگین مربعات				
	قطر یقه	ارتفاع	وزن خشک هوایی	وزن خشک ریشه	طول ریشه
	میلی‌متر	سانتی‌متر	گرم		سانتی‌متر
شاهد	۱/۰۹b	۲۸/۷۵b	۲/۱۵c	۰/۷۷b	۱۹/۳۷b
کود فسفاته	۱/۱۹ab	۳۱/۵۰b	۲/۳۱c	۰/۸۳b	۲۱/۸۷ab
سنوکوم	۱/۲۶a	۳۷/۵۰a	۳/۰۷b	۱/۳۰a	۲۵/۶۷a
لاکتاریوس	۱/۲۴ab	۳۷/۲۵a	۳/۳۷a	۱/۲۹a	۲۴/۲۷ab

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند.

مشاهده شد که اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار است (جدول ۳). با مقایسهٔ میانگین‌ها مشخص شد که نهال‌های تلقیح‌شده با هر دو قارچ در مقایسه با تیمار شاهد وزن خشک بیشتری دارند. بیشترین وزن خشک در توسکاهای تلقیح‌شده با کاربرد قارچ اکتومیکوریزی لاکتاریوس حاصل شده است. میانگین افزایش وزن خشک اندام هوایی در نهال‌های تلقیح‌شده نسبت به تیمار شاهد ۵۰ درصد بود (جدول ۴). با تجزیهٔ واریانس مشخص شد که اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن خشک ریشه معنی‌دار است (جدول ۴). مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که وزن خشک ریشه در نهال‌های تلقیح‌شده تفاوت معنی‌داری با نهال شاهد دارد و قارچ‌ها اثر افزایشی معنی‌داری بر وزن ریشه داشته‌اند، ولی مقدار افزایش وزن خشک ریشه بین دو نوع قارچ معنی‌دار نیست. مصرف فسفر در مقایسه با تیمار شاهد اثر معنی‌داری بر وزن ریشهٔ توسکا نداشت (جدول ۴). نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که اثر تیمارها بر طول ریشه معنی‌دار است (جدول ۴). با مقایسهٔ میانگین‌ها مشخص شد که طول ریشهٔ نهال‌های تلقیح‌شده با قارچ سنوکوم تفاوت معنی‌داری با شاهد دارد و اختلاف بین دیگر تیمارها با شاهد معنی‌دار نیست (جدول ۴).

تلقیح قارچ‌های اکتومیکوریزی سبب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رویشی گیاهان در مقایسه با تیمار شاهد شد. بکرا و همکاران (۲۰۰۹) هم گزارش کردند که تلقیح توسکای اکومیناتا (*Alnus acuminata*) با قارچ‌های آلپوا استرولنیکولا (*Alpova austroalnicola*) و آلپوا دیپلوفلووس سبب افزایش وزن اندام هوایی و گره ریشه‌ای شده است [۱۷]. براساس گزارش برونر و شایدگر (۱۹۹۵) پس از تلقیح پیسهآ ابیس (*Picea abies*) با قارچ هبلوما کروستولینیفورم (*Hebeloma crustuliniforme*) شبکهٔ هارتیگ[۱] مشاهده نشد، اما تشکیل غلاف قارچی روی ریشه سبب افزایش وزن خشک گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد شد. به نظر آنها این موضوع ممکن است به‌دلیل تولید هورمون‌های رویشی و ویتامین‌ها توسط قارچ همزیست باشد [۱۸].

میانگین افزایش وزن خشک اندام هوایی در نهال‌های تلقیح‌شدهٔ توسکای قشلاقی نسبت به تیمار شاهد ۵۰ درصد بود. مونزون و آزکون (۲۰۰۱) نیز گزارش کرده‌اند که تلقیح توسکای کورداتا و اینکانا با قارچ میکوریزا آربوسکولار در

۱. Hartig net

مقایسه با کوددهی فسفاتی به‌ترتیب سبب افزایش ۴۴۱ و ۶۴۴ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد. استفاده از کود فسفاتی تأثیری بر وزن خشک توسکای قشلاقی نداشت. به عقیدهٔ آنها این نتایج بیانگر وابستگی زیاد میکوریزا و رفتار متفاوت جنس‌های توسکا به مصرف کودهای شیمیایی و بیولوژیکی است [۱۹]. نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌های میکوریزا اثر مثبتی بر طول و وزن ریشه دارند، به‌طوری که همبستگی مثبت و معنی‌داری (r=۰/۶۵) بین طول ریشه و کلونیزاسیون میکوریزا مشاهده شد.

غلظت عناصر غذایی در گیاه

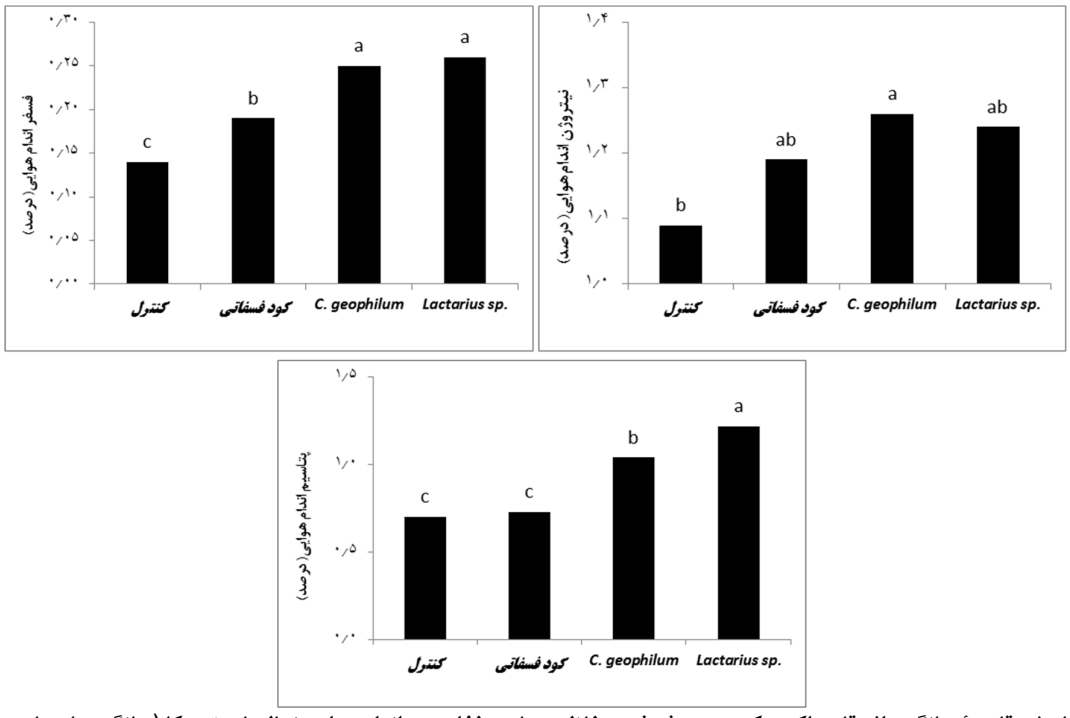
نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر مقدار نیتروژن، فسفر و پتاسیم اندام هوایی نهال‌های توسکا دارند. با مقایسهٔ میانگین‌ها مشخص شد که فقط تلقیح قارچ سنوکوم در مقایسه با شاهد اثر مثبت و معنی‌داری بر مقدار نیتروژن اندام هوایی در نهال توسکا داشت، به‌طوری‌که توانست مقدار نیتروژن را ۱۵ درصد افزایش دهد. تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد ندارند. بین دو نوع قارچ هم تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار نیتروژن گیاه وجود ندارد (شکل ۱).

مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که در نهال‌های توسکای قشلاقی، قارچ‌های اکتومیکوریزی مقدار فسفر گیاه را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند که افزایش حدود ۸۲ درصدی ثبت شد، ولی تفاوت بین قارچ‌های اکتومیکوریزی معنی‌دار نیست. مصرف فسفر هم در نهال‌های توسکای قشلاقی اثر مثبت و معنی‌دار داشت و افزایش حدود ۳۶ درصدی در مقدار فسفر اندام هوایی مشاهده شد (شکل ۱).

با مقایسهٔ میانگین‌ها مشخص شد که در توسکای قشلاقی، قارچ‌های اکتومیکوریزی توانست به‌طور متوسط مقدار پتاسیم گیاه را ۶۱ درصد افزایش دهد و بیشترین مقدار پتاسیم با ۷۴ درصد افزایش در نهال‌های تلقیح‌شده با قارچ لاکتاریوس مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری هم بین قارچ‌ها وجود دارد (شکل ۱).

تلقیح نهال‌های توسکا با قارچ اکتومیکوریزی موجب افزایش غلظت نیتروژن شد. در نهال‌های تلقیح‌شده با قارچ اکتومیکوریزی، نسبت نیتروژن به فسفر در مقایسه با نهال‌های شاهد کاهش یافت که بیانگر تأثیر بیشتر قارچ‌ها در جذب فسفر نسبت به نیتروژن است. به عقیدهٔ مونزون و آزکون (۲۰۰۱) ریشه‌های توسکا در همزیستی با فرانکیا تثبیت نیتروژن را انجام می‌دهند، از این‌رو افزایش غلظت نیتروژن در گیاهان میکوریزا یا گره‌دار در شرایط طبیعی منشأ اتمسفری دارد؛ بنابراین می‌توان گفت در گیاهان میکوریزا، بهبود وضعیت فسفری گیاه، سبب بهبود وضعیت نیتروژن شده است. افزون‌بر این آنها مشاهده کردند که نسبت نیتروژن به فسفر در توسکاهای تلقیح‌شده با قارچ میکوریزا آربوسکولار افزایش یافته که بیانگر تأثیر قارچ‌ها بر جذب نیتروژن در مقایسه با فسفر است [۱۹]. جذب عناصر غذایی توسط گیاهان، افزون‌بر قابلیت دسترسی عناصر غذایی در محلول خاک به توانایی سیستم ریشه در جذب عناصر غذایی نیز وابسته است. افزایش جذب فسفر و نیتروژن در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریزا فقط به‌دلیل افزایش وزن خشک گیاه نیست، بلکه با افزایش غلظت فسفر و نیتروژن در گیاهان میکوریزا نیز رابطه دارد. در شرایط کمبود عناصر غذایی، هیف‌های خارجی قارچ‌های میکوریزا با اتصال مناطق تخلیهٔ ریشه به یکدیگر، جذب عناصر غذایی را افزایش می‌دهند؛ اما با افزایش عناصر غذایی به خاک، سیستم ریشه‌ای متراکم‌تر می‌شود و مناطق تخلیهٔ ریشه همپوشانی می‌کنند. افزایش جذب یون‌های متحرک و غیرمتحرک در گیاهان میکوریزا ممکن است با تغییر مورفولوژی ریشه، ترشح اسیدهای آلی، ترکیبات کلاتی مثل سیدروفورها یا افزایش رهاسازی دی‌اکسید کربن [۲۰] توسط ریشه‌های میکوریزا نیز مرتبط باشد. ترشح اسیدهای آلی با تغییر تعادل بین فسفات محلول و تبادلی خاک می‌تواند غلظت فسفات محلول خاک را افزایش دهد. ترشح آنزیم‌های فسفاتاز و پروتئاز توسط

قارچ‌های میکوریزا هم می‌توانند سبب افزایش حلالیت و قابلیت دسترسی فسفر و نیتروژن آلی برای گیاهان شود. این آنزیم‌ها شامل فسفاتاز اسیدی ریشهٔ گیاه، فسفاتازهای اسیدی و قلیایی قارچ‌ها، یا فسفاتاز قلیایی باکتری‌هاست. وقتی که نسبت کربن به فسفر ۱۰۰ باشد، مواد آلی توسط میکروب‌ها تجزیه شده و فسفات آزاد می‌شود [۲۱].



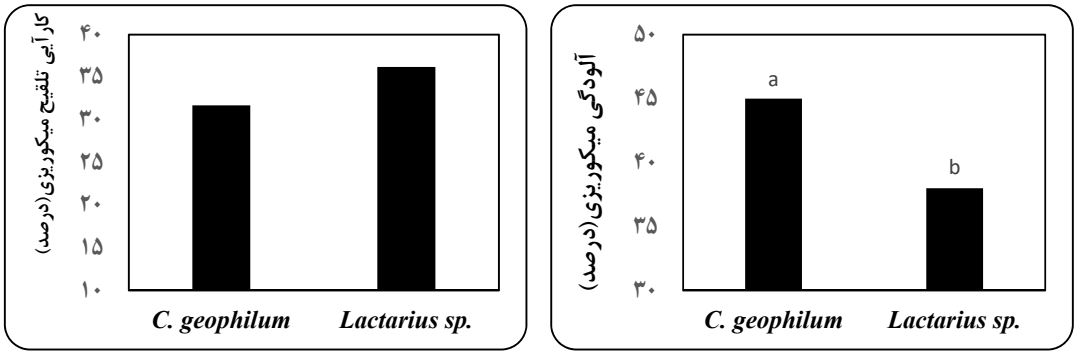
شکل ۱. مقایسهٔ میانگین اثر قارچ اکتومیکوریزی و فسفر بر غلظت عناصر غذایی در اندام هوایی نهال‌های توسکا (میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند)

خصوصیات همزیستی

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که هر دو قارچ اکتومیکوریزی اثر معنی‌داری بر درصد کلونیزاسیون ریشه در نهال توسکا دارند ($p<۰/۰۵$). مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که قارچ سنوکوم با ۴۵ درصد کلونیزاسیون ریشه در گروه برتر قرار دارد (شکل ۲). نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین قارچ‌های اکتومیکوریزی از نظر کارایی تلقیح وجود ندارد (شکل ۲). درصد کلونیزاسیون ریشه هم در گیاهان تلقیح‌شده بین ۳۸ تا ۵۳ درصد متغیر بود. بکرا و همکاران (۲۰۰۵) نیز کلونیزاسیونی بین ۳۰/۳ تا ۹۴ درصد را توسط قارچ‌های اکتومیکوریزی در ریشهٔ توسکای اکومیناتا گزارش کرده‌اند و رابطهٔ مثبتی ($R^2=0.69$) بین درصد کلونیزاسیون با مقدار فسفر خاک وجود دارد. به نظر این محققان، دلیل درصد کلونیزاسیون کم ممکن است وجود همزمان همزیستی اکتو/اندومیکوریزی در ریشهٔ توسکا باشد [۲۲].

بررسی روابط همبستگی بین پارامترهای بررسی‌شده

ضرایب همبستگی موجود بین خصوصیات مختلف نهال‌ها در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد که کلونیزاسیون میکوریزای ریشه رابطهٔ مثبت و معنی‌داری با مقدار فسفر اندام هوایی، طول ریشه، قطر و ارتفاع نهال‌ها داشته است. این موضوع بیانگر تأثیر مفید و مؤثر قارچ‌های اکتومیکوریزی آزمایش‌شده در تأمین فسفر مورد نیاز گیاه است. بیشترین (۰/۹۰) ضریب همبستگی هم بین قطر نهال با مقدار پتاسیم اندام هوایی مشاهده شد.



شکل ۲. مقایسهٔ میانگین اثر قارچ اکتومیکوریزی بر درصد کلونیزاسیون و کارایی تلقیح در نهال‌های توسکا

جدول ۵. ضرایب همبستگی بین کلونیزاسیون میکوریزا و خصوصیات رویشی و تغذیه‌ای نهال‌ها

	ارتفاع	وزن هوایی	وزن ریشه	طول ریشه	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	کلونیزاسیون میکوریزا
	سانتی‌متر	گرم		سانتی‌متر	درصد		درصد	
قطر	۰/۸۲**	۰/۷۶**	۰/۷۷**	۰/۵۲*	۰/۶۱**	۰/۶۸**	۰/۹۰**	۰/۴۷*
ارتفاع	۱	۰/۷۷**	۰/۶۴**	۰/۳۸	۰/۵۳*	۰/۵۴*	۰/۸۵**	۰/۴۷*
وزن خشک هوایی		۱	۰/۸۷**	۰/۲۸	۰/۵۱*	۰/۵۲*	۰/۸۷**	۰/۴۰
وزن خشک ریشه			۱	۰/۵۳*	۰/۵۵**	۰/۶۴**	۰/۸۵**	۰/۳۹
طول ریشه				۱	۰/۳۱	۰/۸۳**	۰/۴۶*	۰/۶۵**
نیتروژن گیاه					۱	۰/۳۵	۰/۶۲**	۰/۰۷
فسفر گیاه						۱	۰/۶۴**	۰/۷۵**
پتاسیم گیاه							۱	۰/۳۹

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

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به بررسی نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس و مقایسهٔ میانگین‌ها می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه تلقیح هر دو قارچ اکتومیکوریزی در مقایسه با شاهد سبب بهبود رشد و تغذیهٔ نهال‌های توسکای قشلاقی شده است، به نظر می‌رسد قارچ اکتومیکوریزی لاکتاریوس در مقایسه با سنوکوکوم جئوفیلوم توانایی بیشتری در افزایش رشد و تأمین غذایی گیاهان دارد. از این‌رو با توجه به تأثیر مهم سازگاری و استقرار اولیه در رشد و توسعهٔ نهال‌ها در سال‌های بعد، تلقیح نهال‌های توسکا با قارچ میکوریزی در نهالستان به‌منظور جنگلکاری هدفدار و موفق باید مدنظر مدیران و کارشناسان بخش اجرا قرار گیرد.

References

[1]. Benson, D.R. (1982). Isolation of frankia strains from alder actinorhizal root nodules. Applied and Environmental Microbiology, 44(2): 461-465.

[2]. Johnson, J.D., Goward, T., and Vitt, D.H. (1995). Plants of The Western Boreal Forest & Aspen Parkland. Lone Pine, Edmonton, Alta., Canada: Redmond, Wash., USA.

[3]. Johnson, L.M. (2008). Plants and habitats, a consideration of Dene ethnoecology in northwestern Canada. Botany, 86: 146-156.

[4]. Assareh, M.H., and Akhlaghi, S.J.S. (2009). Strategic framework for developing and promoting natural resources research in I.R. Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. Pp.379.

[5]. Chatarpaul, L., Chakravarty, P., and Subramaniam, P. (1989). Studies in tetrapartite symbioses. I. Role of ecto- and endomycorrhizal fungi and Frankia on growth performance of Alnus incana. Plant Soil, 118: 145-150.

[6]. Khasa, P.D., Sigler,L., Chakravarty, P., Dancik, B.P., Erikson, L., and McCurdy, D. (2001). Effect of fertilization on growth and ectomycorrhizal development of container-grown and bare-root nursery conifer seedlings. New Forest, 22:179–197.

[7]. Mejstrik, V., and Benecke, U. (1969). The ecotrophic mycorrhizas of Alnus viridis (Chaix) DC and their significance in respect to phosphate uptake. New Phytologist, 68: 141-149.

[8]. Vosátka, M., GajdošJ, J., Kolomý, P., Kavková, M., Oliveira, R.S., Franco, A.R., Sousa, N.R., Carvalho, M.F., Castro, P.M.L., and Albrechtová, J. (2008). Applications of ectomycorrhizal inocula in nursery and field plantings: the importance of inoculum tuning to target conditions. In: Feldmann F, Kapulnik Y, Baar J (eds) Mycorrhiza Works. German Phytomedical Society, Braunschweig, pp 112-125.

[9]. Rivero, S.H.T., Moorillón, V.G.N., and Borunda, E.O. (2009). Growth, yield, and nutrient status of pecans fertilized with biosolids and inoculated with rhizospher fungi. Bioresource Technology, 100: 1992-1998.

[10]. Yamanaka, T., Li, C.Y., Bormann, B.T., and Okabe, H. (2003). Tripartite associations in an alder: effects of Frankia and Alpova diplophloeus on the growth, nitrogen fixation and mineral acquisition of Alnus tenuifolia. Plant Soil, 254:179-186.

[11]. Yamanaka T., Akama, A., Li, C.Y., and Okabe, H. (2005). Growth, nitrogen fixation and mineral acquisition of Alnus sieibddana after inoculation of Frankia together with Gigaspora margarita and Pseudomonas putida. Journal of Forest Research, 10: 21-26.

[12]. 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.

[13]. Marx, D. H., and Kenney, D. S. (1982). Production of ectomycorrhizal inoculum. In: Schenck, N.C., cd., Methods and Principles of Mycorrhizal Research. American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 131-129.

[14]. Motsara, M.R., and Roy, R.N. (2008). Guide to Laboratory Establishment for Plant Nutrient Analysis. FAO, Rome, Italy.

[15]. Rowell, D. (1994). Soil Science. London: Routledge.

[16]. Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., and Malajczuk, N. (1996). Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.

[17]. Becerra, A. G., Menoyo, E., Lett, I., and Li, C.Y. (2009). Alnus acuminatain dual symbiosis with Frankia and two different ectomycorrhizal fungi (Alpova austroalnicola and Alpova diplophloeus) growing in soilless growth medium. Symbiosis, 47: 85-92.

[18]. Brunner, I., and Scheidegger, C. (1995). Effects of high nitrogen concentrations on ectomycorrhizal structure and growth of seedlings of Picea abies (L.) Karst. New Phytologist, 129:83-95.

[19]. Monzón, A., and Azcón, R. (2001). Growth responses and N and P use efficiency of three Alnus species as affected by arbuscular-mycorrhizal colonization. Plant Growth Regulation, 35: 97–104.

[20]. Knight, W. G., Allen, M. F., Jurinak, J. J., and Dudley, L. M. (1989). Elevated carbon dioxide and solution phosphorus in soil with vesicular-arbuscular mycorrhizal western wheatgrass. Soil Science Society of America Journal, 53(4): 1075-1082.

[21]. Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plant. 2nd edition, Academic press, San Diego, London, 889 p.

[22]. Becerra. A., Pritsch, K., Arrigo, N., Palma, M., and Bartoloni, N. (2005). Ectomycorrhizal colonization of Alnus acuminate Kunth in northwestern Argentina in relation to season and soil parameters. Annals of Forest Science, 62: 325-332.

Effects of ectomycorrhizal fungi on phosphorous uptake and growth of *Alnus glutinosa* seedlings in Guilan province

E. Kahneh*; Assist., Prof., Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, AREEO, Lahijan, 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; Prof., Soil and Water Research Institute, AREEO, Karaj, I.R. Iran

M. Mazhari; Assist., Prof., Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Branch of Karaj, Karaj, I.R. Iran

(Received: 28 February 2020, Accepted: 14 March 2020)

ABSTRACT

Ectomycorrhizal fungi can increase the quality and quantity of seedlings by increasing plant resistance to environmental stresses, and increasing growth and nutrient uptake in forest nurseries. In order to study the effect of ectomycorrhizal fungi on phosphate (P) uptake and growth of *Alnus glutinosa* seedlings, an experiment was conducted in a completely randomized design with four treatments including ectomycorrhizal fungi: *Cenoccum geophilum, Lactarius* sp, 150 kg/ha phosphate and control in three replications. A soil with low available P content were collected from Shalman Forest Seed and Seedling Research Station, and after sterilization by autoclave, was distributed in pots. In each pot, one seedling of Alnus glutinosa were planted and inoculated with the desired treatment. After ten weeks of inoculation, seedlings were harvested and their growth and nutritional characteristics were measured. The results showed that fungi inoculations significantly increased diameter, height and dry weight of seedlings by 30% compared with the control. In addition, ectomycorrhizal fungi increased nitrogen, phosphorus and potassium concentration in alder seedlings by 18, 82 and 61%, respectively. There was a significant difference between the percentages of alder root colonization between two fungi, but there was no significant difference in the efficiency of inoculation between the ectomycorrhizal fungi. It looks like that *Lactarius* is more effective compared with *Cenococcum geophilum*. Therefore, it can be concluded that ectomycorrhizal fungi improve growth and nutrition of alder seedlings, but further studies are needed to identify more efficient ectomycorrhizal fungi.

Keywords: Alder, biomass, biological fertilizer, ectomycorrhizal.

* Corresponding Author, Email: e.kahneh@areeo.ac.ir, Tel: +981342426503