جنگل و فرآورده‌های چوب، مجلهٔ منابع طبیعی ایران
دورهٔ ۷۴، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۴۰۰
ص ۴۳۲-۴۲۱ (پژوهشی)
DOI: 10.22059/jfwp.2021.321770.1159

بهبود زنده‌مانی، استقرار و ویژگی‌های رویشی نهال‌های ارس (*Juniperus excelsa*) با تلقیح قارچ‌های میکوریزی بومی

محمد متینی‌زاده[1*]، الهام نوری[2]، طاهره علی‌زاده[2]، انوشیروان شیروانی[3]

۱. دانشیار پژوهش بخش تحقیقات جنگل، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲. کارشناس پژوهش بخش تحقیقات جنگل، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳. دانشیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۳

چکیده

یکی از راهکارهای افزایش زنده‌مانی و رشد نهال‌های جنگلی در احیای رویشگاه‌های تخریب‌یافته، شناسایی قارچ‌های میکوریزی همزیست با ریشهٔ گیاهان آن رویشگاه و سپس تکثیر و تلقیح آنها برای توانمندسازی نهال‌های تولیدی است. این پژوهش به‌منظور شناخت قارچ‌های آربسکولار همزیست با درختان ارس (*Juniperus excelsa*) رویشگاه چهارطاق (استان چهارمحال و بختیاری) و ارزیابی تأثیر این قارچ‌ها در افزایش زنده‌مانی و مؤلفه‌های رویشی نهال‌های میکوریزی ارس در سه سال متوالی اجرا شد. از ریشه و خاک اطراف ریزوسفر نه درخت ارس به‌طور کاملاً تصادفی نمونه‌برداری و در شرایط سرد (در یخدان) به آزمایشگاه منتقل شد. پس از شناسایی پنج گونه قارچ همزیست، مایهٔ تلقیح تولیدشده با گیاه ذرت در اختیار بذرهای جوانه‌زدهٔ ارس قرار گرفت. براساس نتایج، تأثیر همزیستی قارچ‌های آربسکولار شناسایی و تلقیح‌شده شامل *Ambispora gerdemannii*، *Funneliformis mosseae*، *Glomus hoi*، *Septoglomus constrictum* و *Rhizophagus intraradices* و اثر سن نهال بر طول ریشه، ارتفاع اندام هوایی، قطر یقه و زنده‌مانی نهال‌ها مثبت بود. در پایان سال سوم، در حدود ۵۰ درصد از نهال‌های شاهد از بین رفتند، اما این تلفات برای نهال‌های تلقیح‌شده بین ۱۷ تا ۴۰ درصد بود. قارچ‌های *A. gerdemannii* و *R. intraradices* بیشترین تأثیر مثبت را در زنده‌مانی نهال‌ها داشتند. متغیرهای رویشی تحت تأثیر قارچ *R. intraradices* از بزرگ‌ترین اندازه برخوردار بودند. یافته‌های این تحقیق نشان داد که توانمندسازی نهال‌ها توسط قارچ‌های همزیست، راهکاری مناسب برای افزایش زنده‌مانی و رویش نهال‌ها در برنامهٔ تولید نهال خواهد بود. تحقیق با استفاده از قارچ‌های همزیست برای بهبود رشد و استقرار نهال‌ها در رویشگاه‌های آسیب‌دیده که خاک شرایط تغذیه‌ای مناسبی ندارد توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: شناسایی مورفولوژی، قارچ آربسکولار، نهال میکوریزی، همزیستی ریشه.

مقدمه

جنس *Juniperus* شامل ۶۸ گونه در سراسر جهان [۱] و شش گونه در دو فرم درختی و درختچه‌ای در ایران است. ارس گیاهی مقاوم در برابر تنش‌های محیطی از جمله خشکی است که به‌جز برخی از نقاط آفریقا، در مناطق کوهستانی نیمکرهٔ شمالی (ارتفاع: ۳۰۰۰–۵۰۰ متر) یافت می‌شود [۲]. *Juniperus excelsa* نسبت به دیگر گونه‌های جنس ارس در ایران پراکنش وسیع‌تری دارد و درختی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۴۰۷۲۵۳۰
Email: matini@rifr-ac-ir

کندرشد است که مقاومت نسبی آن در برابر آفات و بیماری‌ها و توانایی تحمل شرایط سخت رویشگاهی مانند وجود آهک در خاک، گسترش جغرافیایی آن را به حدود یک میلیون هکتار رسانده است که بر این اساس، پس از بنه، بیشترین پراکنش طبیعی را در کشور دارد [۳]. اما گزارش‌ها حاکی از کاهش سطح آن به‌دلیل فعالیت‌های انسانی، چرای مفرط دام، آتش‌سوزی‌های طبیعی و عمدی، شرایط نامطلوب اقلیمی و تجدید حیات اندک آن است که احیای رویشگاه‌های این گونه را با مشکل مواجه کرده است [۴]. با وجود این، در سال‌های اخیر گزارش‌هایی دربارهٔ احیای جنگل‌های ارس کشور منتشر شده است[۵].

یکی از راهکارهایی که در سال‌های گذشته در جهان برای توانمندسازی و افزایش زنده‌مانی و رشد نهال‌های جنگلی از جمله ارس در احیای رویشگاه‌های به‌ویژه تخریب‌یافته به‌کار گرفته شده، استفاده از قارچ‌های میکوریزی است [۶]. قارچ‌های میکوریزی آربسکولار از موجودات زنده خاک هستند که با بسیاری از گونه‌های گیاهی همزیستی اجباری دارند [۷]. این قارچ‌ها افزون‌بر مشارکت در جذب عناصر غذایی (به‌ویژه فسفر)، در جذب و انتقال آب به گیاهان میزبان دخالت دارند و سبب رشد بهتر و افزایش تحمل گیاه در برابر فقر عناصر غذایی و تنش‌های خشکی و شوری می‌شوند [۸]. همزیستی میکوریزی برای احیای انواع زمین‌های تخریب‌شده مفید است و پتانسیل زیادی در بازسازی زیست‌بوم‌های طبیعی دارد. نبود این رابطهٔ همزیستی در سیستم ریشهٔ گیاهان یکی از دلایل اصلی موفق نبودن استقرار و رشد گونه‌های جنگلی و احیای زمین‌های تخریب‌شده است. البته در توسعه این روش،بایدبه قارچ‌های همزیست با هر گونهٔ گیاهی در رویشگاه اصلی خود توجه شود [۳].

بیش از دو دهه است که موضوع استفاده از قارچ‌های میکوریزی به‌ویژه گروه آربسکولار به‌شکل گسترده‌ای در برنامهٔ پژوهش در ایران قرار گرفته است. در این راه کمتر از پنج قارچ میکوریزی آربسکولار از جمله *R intraradices* و *F.mosseae* که جنبهٔ همزیستی عمومی با بیشتر گیاهان جهان را دارند در اهداف تحقیقات یادشده قرار گرفته‌اند. اما بهتر است ابتدا قارچ‌های آربسکولار همزیست‌شدهٔ اختصاصی گیاهان در طبیعت شناسایی و امکان تکثیر بعضی از این قارچ‌ها که تأثیر مهمی در رشد و مقاومت نهال‌های جنگلی دارند، ارزیابی شود و سپس با تلقیح این قارچ‌ها با نهال‌های گلدانی در گلخانه و نهالستان، برای احیای جنگل‌های تخریب‌یافته اقدام شود. این پژوهش نیز به‌منظور شناخت قارچ‌های آربسکولار همزیست با درختان ارس برای تولید نهال‌های میکوریزی آن و ارزیابی تأثیر قارچ‌های آربسکولار در افزایش زنده‌مانی و بهبود مؤلفه‌های رویشی آنها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

منطقهٔ پژوهش

گام نخست در این راه استفاده از گونه‌های میکوریزی همزیست با ارس در یکی از رویشگاه‌های مطلوب آن در رویشگاه چهارطاق شهرستان کیار بود. این منطقه بین عرض جغرافیایی ″۳۴ ′۵۰ °۳۱ تا ″۴۴ ′۵۲ °۳۱ شمالی و طول جغرافیایی ″۳۹ ′۴۸ °۵۰ تا ″۱۱ ′۵۰ °۵۰ شرقی و در ارتفاع ۲۳۰۰ تا ۲۴۰۰ متر از سطح دریا در ۱۰۰ کیلومتری جنوب شرقی شهرکرد قرار دارد و بیش از ۳۰ سال از قرق آن توسط ادارهٔ کل منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری می‌گذرد. میانگین بارندگی سالیانهٔ منطقه ۵۳۰ میلی‌متر و کمینه و بیشینهٔ دمای مطلق به‌ترتیب ۱۹/۵- و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد است.

نمونه‌برداری قارچ

نمونه‌های خاک و ریشه در فصل پاییز به‌طور کاملاً تصادفی از نه پایه درخت ارس (با قطر برابرسینه بین ۳۵ تا ۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع بین ۳ تا ۳/۵ متر) در زیر تاج و در عمق‌های متفاوتی از خاک (بین ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر)

به‌گونه‌ای جمع‌آوری شد که بتوان به ریشه‌های مویین دسترسی پیدا کرد. به‌منظور بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و شناسایی و جداسازی اسپورهای بومی اختصاصی گونهٔ *J. excelsa*، نمونه‌ها با حفظ شرایط سرد (در یخدان) به آزمایشگاه اکوفیزیولوژی و بیوتکنولوژی بخش تحقیقات جنگل در مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور منتقل شدند و سپس هر نمونه از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. از ریشه‌های مویین این گونه به‌منظور بررسی درصد کلنیزاسیون میکوریزی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها بلافاصله و تا زمان آزمایش در محلول فیکساتور نگهداری شد.

ویژگی‌های خاک

نمونه‌های خاک ریزوسفر در هوا خشک شد. سپس برای هر نمونه خاک، pH به روش آب مقطر (آب: خاک،۲/۵ :۱)، بافت خاک به روش هیدرومتری، مادهٔ آلی به روش سرد [۹]، مقدار ازت کل با استفاده از روش هضم کجلدال [۱۰] و فسفر قابل جذب [۱۱] و پتاسیم قابل جذب با استات آمونیوم [۱۲] اندازه‌گیری شد. در بررسی اولیهٔ منطقه، نمونه‌برداری نشان داد که خاک رویشگاه ارس دارای بافت شنی- لومی و pH قلیایی (۸/۲۲) است. مقادیر برخی ویژگی‌های مهم خاک منطقه شامل فسفر قابل جذب ۱۲/۹۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ازت ۰/۰۴۱ درصد و مادهٔ آلی ۱/۰۳ درصد بود.

جداسازی و شناسایی اسپور و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه

از هر نه نمونه خاک، سه تکرار ۱۰ گرمی برای شمارش اسپورهای قارچی جدا شدند. برای جداسازی اسپورها از روش الک مرطوب [۱۳] استفاده شد. براساس فرمول: $(Xi/Xo) \times 100$ تراکم اسپورها برای هر گونهٔ arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) محاسبه شد؛ در این فرمول Xi، تراکم جمعیت یک گونهٔ قارچی و Xo، کل جمعیت است. برای شناسایی آنها اسلاید اسپورها با پلی‌وینیل الکل (PVLG) و ترکیب پلی‌وینیل الکل با ملتزر (PVLG-Meltzer) تهیه شد. اسپورهای جداشده با استفاده از استریومیکروسکوپ (Olympus model DP73) با بزرگ‌نمایی ۱۰۰-۱۰۰۰برابر براساس ویژگی‌های مورفولوژیکی مانند شکل، رنگ، اندازه اسپور، طرح روی اسپور و تعداد لایه‌های دیواره اسپور به دسته‌های مشخص تقسیم شدند. در نهایت با توجه به مشخصات ثبت‌شدهٔ هر اسپور و با استفاده از کلیدهای شناسایی، نام علمی هر گونه مشخص شد [۱۴].

رنگ‌آمیزی ریشه براساس روش فیلیپس و هایمن صورت گرفت و درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها براساس روش خطوط متقاطع [۱۵] با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد کلنیزاسیون} = \frac{\text{تعداد قطعات میکوریزی}}{\text{کل قطعات مشاهده‌شده}} \times ۱۰۰$$

تهیهٔ مایهٔ تلقیح و کاشت نهال میکوریزی

در این تحقیق به‌منظور تولید مایهٔ تلقیح میکوریزی از روش کشت تله‌ای (Trap culture) و گیاه ذرت (*Zea mays*) استفاده شد. بستر کشت ذرت ترکیب خاک، ماسه استریل‌شده (به‌مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد) و همچنین پرلیت بود. پس از چهار ماه، آغشتگی و همزیستی ریشهٔ گیاه ذرت با قارچ‌ها، از ریزوسفر آن شامل اسپور، هیف و قطعات ریشه به‌عنوان مایهٔ تلقیح استفاده شد. بذرهای ارس به‌دلیل سختی پوسته با استفاده از نگهداری طولانی‌مدت در تیمار ماسهٔ مرطوب استریل و جوانه زده شد، سپس در گلدان‌های اصلی (با ابعاد ۱۵×۴۰ سانتی‌متر) با ترکیب خاک و ماسه استریل به اضافهٔ حدود ۱۰۰ گرم مایه تلقیح میکوریزی (حاوی حدود ۵۰۰ عدد اسپور) کاشته شد. خاک استفاده‌شده در گلدان‌ها دارای بافت شنی- لومی و pH قلیایی (۸/۲۹) و فسفر قابل جذب (mg/g)، ازت (درصد) و مادهٔ آلی

(درصد) به‌ترتیب ۱۰/۵، ۰/۳۲۸ و ۰/۲۳۴ بود. از هر تیمار قارچی (پنج تیمار قارچی) جداشده، ۵۰ گلدان (تکرار) با ابعاد ۱۵×۴۰ سانتی‌متر (با گنجایش ۲ کیلوگرم خاک) و یک تیمار ۵۰ تکراری بدون مایه تلقیح به‌صورت تیمار کنترل استفاده شد.

اندازه‌گیری مربوط به درصد زنده‌مانی، کلنیزاسیون میکوریزی و صفات رویشی گیاه در دوره‌های زمانی یک و دو سال پس از کاشت در گلخانه در مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور و پس از انتقال در سال سوم به نهالستان مجتمع تحقیقات البرز کرج (وابسته به مؤسسه) به‌منظور بررسی رشد و زنده‌مانی انجام گرفت.

تجزیه‌وتحلیل آماری

در این تحقیق، از روش نمونه‌برداری کاملاً تصادفی برای ارزیابی اثر فاکتورها استفاده شد. در مرحلهٔ کاشت نهال در گلخانه و عرصه از مدل طرح آزمایش با پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی استفاده شد. به‌منظور تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، ابتدا توسط آزمون‌های شاپیروویلک و لون، نرمال بودن و همگنی واریانس داده‌ها سنجیده شد و تجزیهٔ واریانس متغیرها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ارزیابی شد. مقایسهٔ میانگین‌ها به روش دانکن و همهٔ آنالیزهای آماری با نرم‌افزار R، پکیج (agricolae) انجام گرفت.

نتایج و بحث

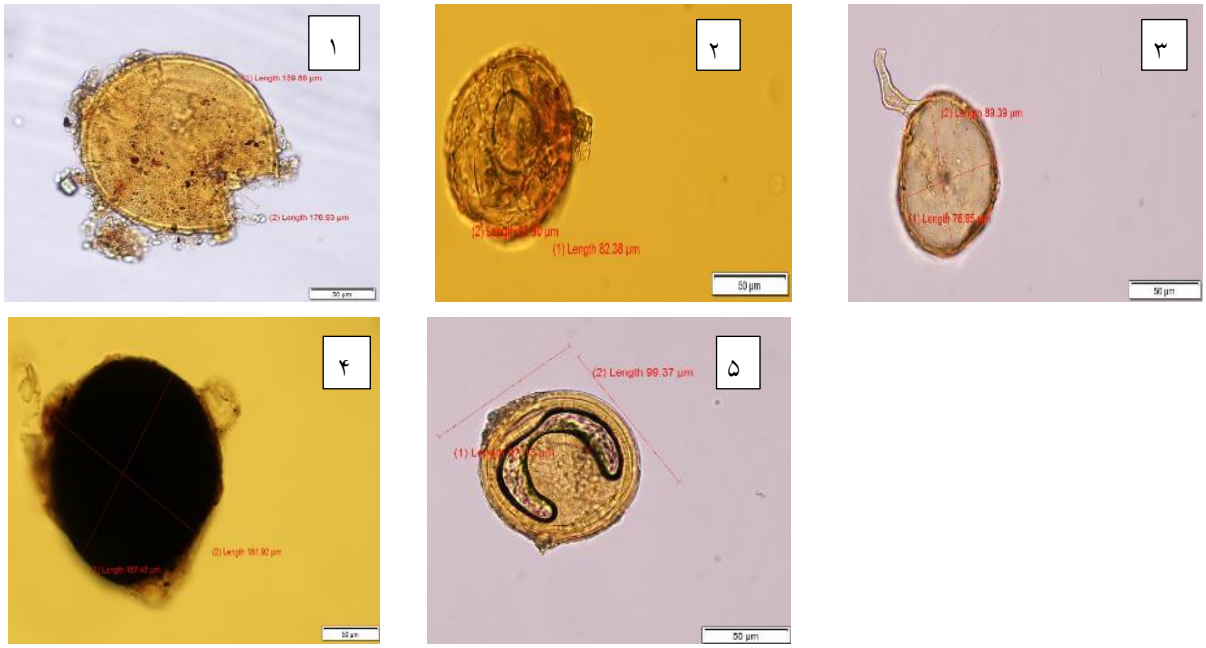
شناسایی اسپور و کلنیزاسیون ریشهٔ درختان ارس

پنج گونه قارچ میکوریزی آربسکولار همزیست با گونهٔ *J. excelsa* شناسایی شد (شکل ۱). این گونه‌ها شامل *Septoglomus constrictum*، *Ambispora gerdemannii*، *Funneliformis mosseae*، *Glomus hoi* و *Rhizophagus intraradices* بودند. پیش از این Matinizadeh و همکاران (۲۰۰۵) چهار گونه قارچ آربسکولار (*Acaulospora sp*، *Glomus sp*، *Glomus multicaule* و *Glomus fasciculatum*) را در همزیستی با ارس در رویشگاه سیراچال در استان البرز گزارش کردند که با گونه‌های رویشگاه چهارطاق متفاوت بودند. حضور و وفور قارچ‌های میکوریزی آربسکولار همانند دیگر موجودات خاک تابع شرایط اکولوژیکی است و از این‌رو تفاوت نوع قارچ‌های همزیست درختان ارس چهارطاق با سیراچال می‌تواند دلیلی بر تفاوت اکولوژیکی این دو رویشگاه باشد [۱۶]. گونه‌های گیاهی مختلف، پاسخ‌های متفاوتی به قارچ‌های میکوریزی آربسکولار می‌دهند، بنابراین تغییرات در ترکیب این قارچ‌ها سبب تغییر ساختار و ترکیب جامعهٔ گیاهی می‌شود که باید به آن توجه ویژه داشت [۱۷]. از این پنج گونه برای تولید مایهٔ تلقیح استفاده شد.

ریشه‌های درختان *J. excelsa* دارای درصد کلنیزاسیون ۶۵/۹۴ در کل بودند (جدول ۲) و میانگین تراکم اسپور در هر گرم خاک ۱۳ عدد بود (جدول ۱).

تجزیهٔ واریانس متغیرهای اندازه‌گیری‌شده

آزمون تجزیهٔ واریانس نشان داد که تیمار قارچی، سن گیاه و تأثیر متقابل این دو فاکتور بر کلنیزاسیون ریشه، طول ریشه، ارتفاع اندام هوایی و قطر یقه معنی‌دار بود؛ درحالی که زنده‌مانی نهال فقط تحت تأثیر جداگانه قارچ و سن گیاه قرار گرفت (جدول ۲).



شکل ۱. گونه‌های شناسایی‌شدهٔ قارچ‌های میکوریز آربسکولار همزیست با گونهٔ *J. excelsa* : ۱:*Ambispora gerdemannii* ، ۲: *Funneliformis mosseae*، ۳:*Glomus hoi* ، ۴:*Septoglomus constrictum* و ۵:*Rhizophagus intraradices*

جدول ۱. ویژگی‌های مرتبط با همزیستی میکوریزی درختان ارس (*J. excelsa*) در خاک و ریشهٔ آن در رویشگاه چهارطاق کیار

ویژگی	مکان	مقدار
کلنیزاسیون اندام هیف (درصد)	ریشه	۳۰/۹۸
کلنیزاسیون اندام وزیکول (درصد)	ریشه	۲۳/۲۹
کلنیزاسیون اندام آربسکول (درصد)	ریشه	۱۱/۶۶
کلنیزاسیون کل (درصد)	ریشه	۶۵/۹۴
کل اسپور (تعداد در گرم خاک)	خاک	۱۳

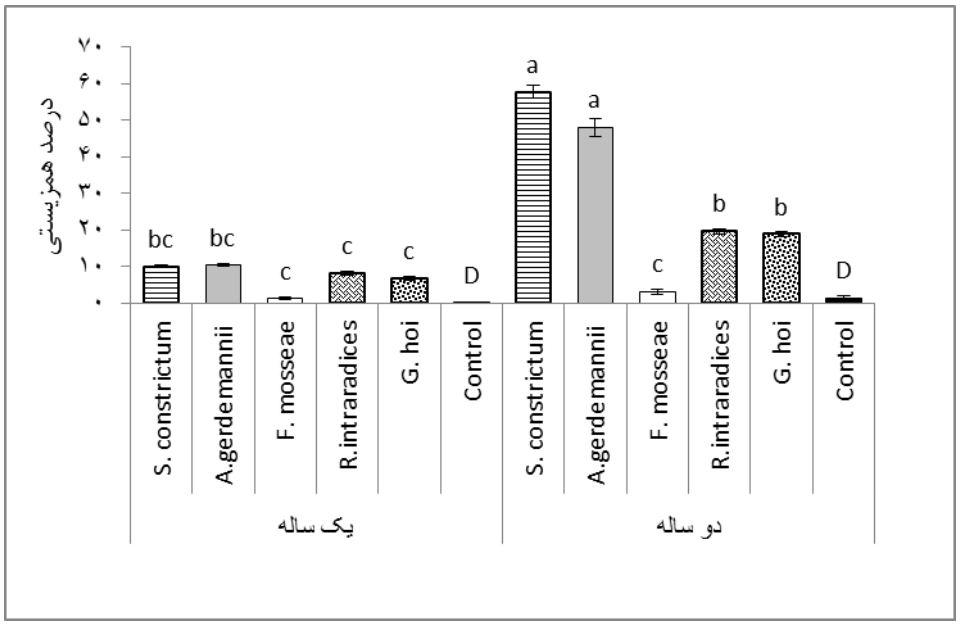
جدول ۲. تجزیهٔ واریانس متغیرهای اندازه‌گیری‌شده گونهٔ *J. excelsa* تحت تأثیر تیمارهای قارچ و سن

پارامتر	تیمار	درجهٔ آزادی	آمارهٔ F	معنی‌داری
کلنیزاسیون کل (٪)	تیمار قارچی	۵	۳۹۰/۱	۰,۰۰
	سن گیاه	۱	۱۱۰۲/۳	۰,۰۰
	تیمار قارچی* سن گیاه	۵	۲۰۰/۷	۰/۰۰
	کل	۱۵۶		
طول ریشه (cm)	تیمار قارچی	۵	۲۱۲/۳	۰,۰۰
	سن گیاه	۱	۸۸۶۰/۶	۰,۰۰
	تیمار قارچی* سن گیاه	۵	۱۷۹/۵	۰/۰۰
	کل	۱۵۶		
ارتفاع اندام هوایی (cm)	تیمار قارچی	۵	۸/۵۷۷	۰,۰۰
	سن گیاه	۲	۴۹۰/۵۲۹	۰,۰۰
	تیمار قارچی* سن گیاه	۱۰	۴/۸۹۵	۰/۰۰
	کل	۲۳۴		
قطر یقه (mm)	تیمار قارچی	۵	۱۴/۵۵۰	۰,۰۰
	سن گیاه	۲	۳۳۷/۸	۰/۰۰
	تیمار قارچی* سن گیاه	۶	۴/۱۶۶	۰/۰۰
	کل	۲۳۴		
زنده‌مانی (٪)	تیمار قارچی	۵	۱۰۹/۵۸۴	۰/۰۰
	سن گیاه	۲	۱۳۱/۹۵۹	۰/۰۰
	تیمار قارچی* سن گیاه	۵	۳/۷۲۱	۰/۰۷
	کل	۶		

اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) بین تیمار قارچی و سن گیاه

کلنیزاسیون ریشهٔ نهال‌های ارس

با محاسبهٔ درصد کلنیزاسیون در ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شدهٔ نهال‌های ارس، مشخص شد که قارچ‌های میکوریزی توانستند همزیستی را با ریشهٔ گیاه برقرار کنند. در سال اول بین تیمارهای قارچی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اگرچه تفاوت آنها با شاهد معنی‌دار بود، اما در سال دوم دو تیمار قارچی *S. constrictum* و *A. gerdemannii* با اختلاف معنی‌دار زیادی بیشترین درصد همزیستی را برقرار کردند (شکل ۲). درصد همزیستی قارچ‌های میکوریزی درختان ارس در رویشگاه چهارطاق ۶۵/۹۴ درصد (شکل ۲) و تعداد اسپور ۱۳ عدد در ۱ گرم خاک بود. Noori و همکاران (۲۰۰۹) درصد کلنیزاسیون میکوریزی گونهٔ *J. excelsa* در یازده ایستگاه در غرب استان کرمان را ۸۴ درصد و تعداد اسپور را ۶ عدد در ۱ گرم خاک اعلام کردند و گونهٔ *Glomus macrocarpum* را تنها قارچ آربسکولار همزیست با ارس نام بردند که این قارچ در بررسی‌های تحقیق حاضر همزیست نبود [۱۸].

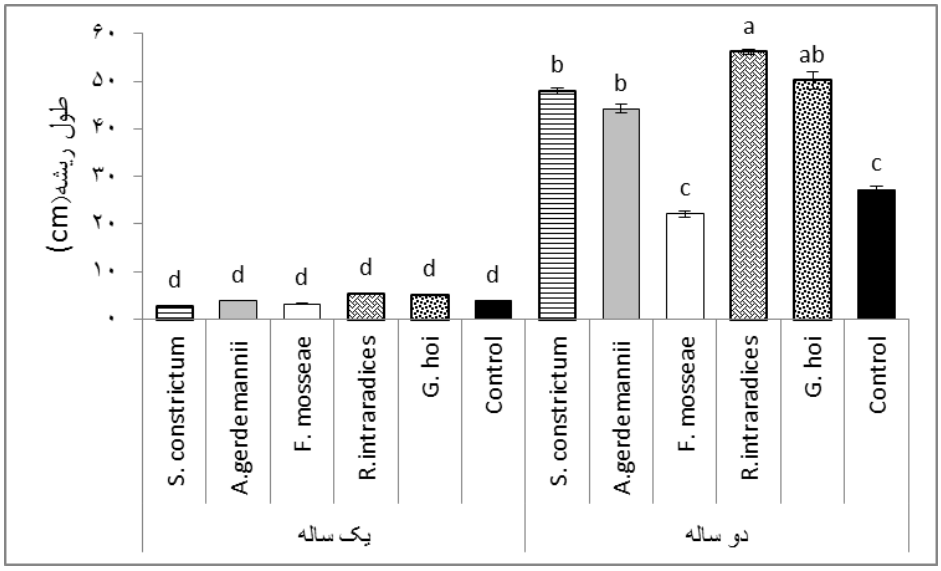


شکل ۲. میانگین درصد همزیستی ریشه در گونهٔ *J. excelsa* (p <۰/۰۵)

ویژگی‌های رویشی نهال‌های ارس

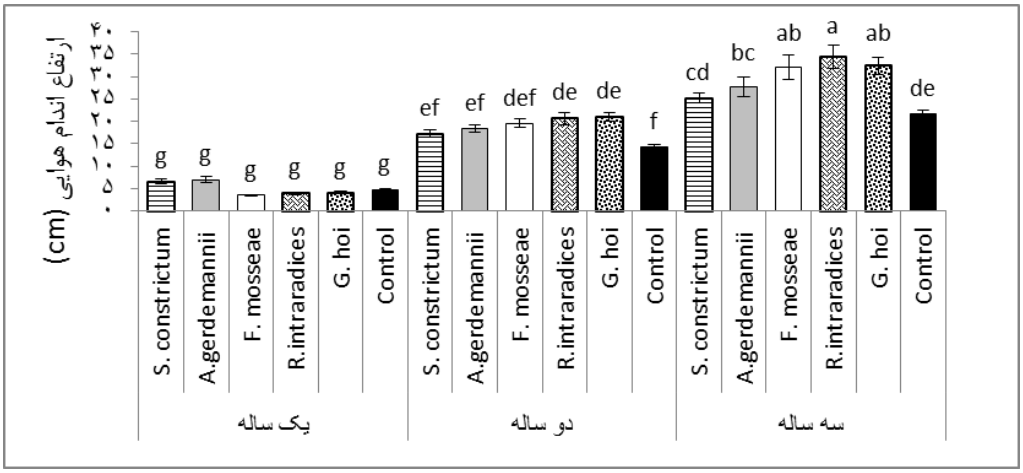
همهٔ ویژگی‌های رویشی نهال‌ها از جمله طول ریشه، ارتفاع اندام هوایی و قطر یقه تحت عملکرد همزیستی میکوریزی همبستگی مثبت معنی‌داری نشان دادند و همواره از اندازهٔ بزرگ‌تری در مقایسه با نهال‌های شاهد برخوردار بودند که دلیل آن، اثر مثبت قارچ میکوریزی در جذب آب و مواد غذایی است که همسو با نتایج تحقیق دیگران است [۹].

طول ریشهٔ گیاه در همهٔ تیمارها در سال دوم با اختلاف معنی‌داری بیشتر از سال اول بود و در سال دوم رویش، همهٔ تیمارها به‌جز تیمار *F. mosseae* با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل ۳). قارچ *R. intraradices* بیشترین تأثیر را بر افزایش طول ریشه داشت که با طول ۵۵ سانتی‌متر بیش از دوبرابر طول ریشهٔ شاهد بود. Essahibi و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که گیاهان میکوریزی به‌دلیل افزایش هیف‌ها و میسلیوم‌های قارچ درون خاک و ورود این هیف‌ها به ریزترین منافذ خاک، موجب جذب آب و مواد غذایی با بالاترین سطح و در نتیجه بهبود شرایط تغذیه‌ای و خصوصیات رویشی گیاه می‌شوند [۱۹].



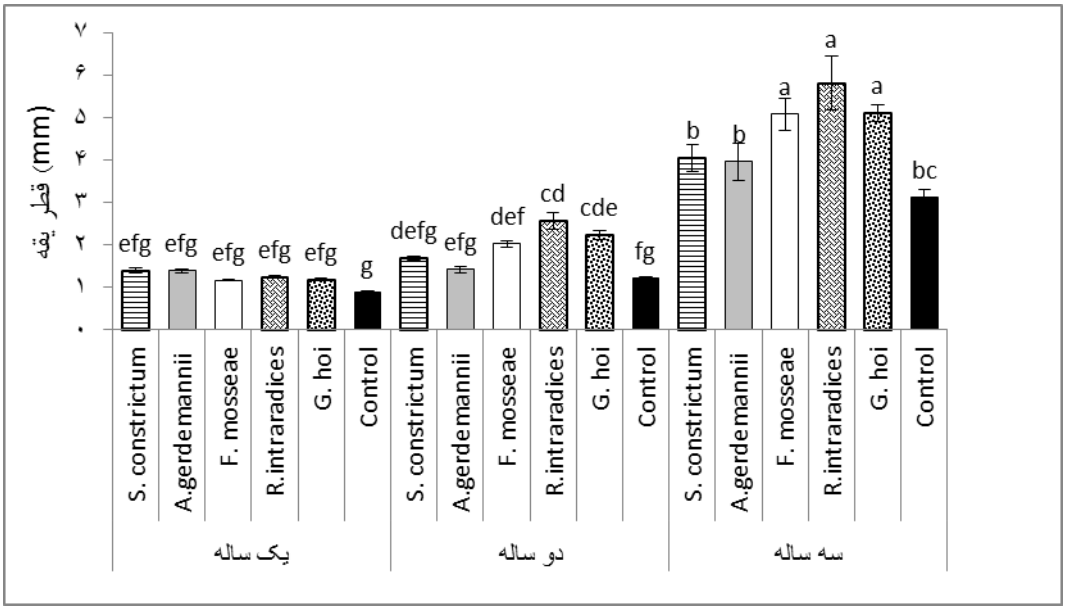
شکل ۳. اثر تیمارهای مختلف قارچ‌های آربسکولار بر میانگین طول ریشهٔ گونهٔ *J. excelsa* در دو سال رویشی متوالی (p <۰/۰۵)

ارتفاع اندام هوایی گیاه در همهٔ تیمارها در سال دوم نسبت به اول و در سال سوم نسبت به سال دوم با اختلاف معنی‌داری بیشتر بود. همچنین تیمارهای قارچی و شاهد در سال اول اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، درحالی‌که در سال دوم و سوم در برخی از تیمارها اختلاف معنی‌داری موجود بود (شکل ۵). تحت تأثیر قارچ *R. intraradices* میانگین ارتفاع نهال‌های ارس در سال سوم به ۳۵ سانتی‌متر رسید که در مقایسه با شاهد (۲۲ سانتی‌متر) چشمگیر بود. به‌طور مشابه، Mirzaei و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تلقیح قارچ‌های میکوریزی آربسکولار سبب بهبود معنی‌دار ویژگی‌های رویشی نهال‌های خنجوک (*Pistacia khinjuk*) شد [۲۰].



شکل ۴. اثر تیمارهای مختلف قارچ‌های آربسکولار بر میانگین ارتفاع اندام هوایی *J. excelsa* در سه سال رویشی متوالی (p <۰/۰۵)

قطر یقهٔ گیاه نیز در همهٔ تیمارها به‌طور تقریبی از الگوی ارتفاع گیاه تبعیت کرد (شکل ۵). در همهٔ سال‌ها قطر یقهٔ نهال‌های تیمارشده با قارچ‌ها از شاهد بیشتر بود و بیشترین اندازه را در سال‌های دوم و سوم، *R. intraradices* بر جای گذاشت. میانگین قطر یقهٔ نهال‌های تیمارشده با این قارچ در پایان سال سوم در حدود دوبرابر تیمار شاهد بود.



شکل ۵. اثر تیمارهای مختلف قارچ‌های آربسکولار بر میانگین پارامتر قطر یقهٔ *J. excelsa* در سه سال رویشی متوالی (p <۰/۰۵)

جدول ۳. ضریب همبستگی (r) بین درصد کلنیزاسیون ریشه و صفات رویشی گونهٔ *J. excelsa*

	طول ریشه (mm)	قطر یقه (mm)	ارتفاع اندام هوایی (cm)	زنده‌مانی (٪)
کلنیزاسیون ریشه (٪)	۰/۶۶ ***	۰/۲۵ ***	۰/۴۹ ***	۰/۸۵***

*** نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۱)

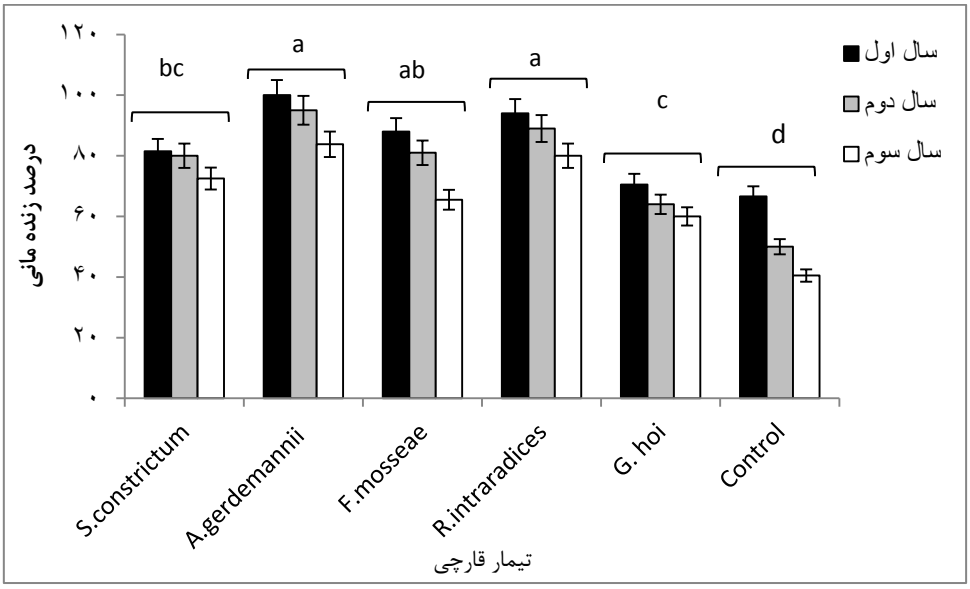
مطابق جدول ۳، بین درصد کلنیزاسیون ریشهٔ گونهٔ *J. excelsa* و دیگر صفات اندازه‌گیری‌شدهٔ آن همبستگی مثبت معنی‌دار برقرار بود. بین کلنیزاسیون ریشه با درصد زنده‌مانی نهال‌ها بیشترین همبستگی و با قطر یقهٔ گیاه کمترین مقدار همبستگی وجود داشت.

زنده‌مانی نهال‌های ارس

میانگین درصد زنده‌مانی نهال‌های ارس در هر سال در پنج تیمار میکوریزی به‌طور چشمگیری بیشتر از تیمار غیر میکوریزی (شاهد) بود (شکل ۶). در سال‌های اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۳۴، ۵۰ و ۶۰ درصد از نهال‌های شاهد از بین رفتند که در دو سال اول شرایط محیطی کنترل‌شده در گلخانه به زنده‌مانی بهتر این نهال‌ها کمک کرد، درحالی که به‌محض ورود به نهالستان و تجربهٔ محیطی طبیعی‌تر، از زنده‌مانی آنها در پایان سال سوم کاسته شد. درحالی که در سال پایانی پژوهش تأثیر تیمارهای میکوریزی از ۶۰ تا ۸۳ درصد در زنده‌مانی نهال‌های ارس متفاوت بود که در مجموع سال‌ها، بیشترین زنده‌مانی نهال‌ها متأثر از قارچ‌های *A. gerdemannii* و *Rhizophagus intraradices* بود. در تیماری که از قارچ *A. gerdemannii* استفاده شد همهٔ نهال‌ها (۱۰۰ درصد) در سال نخست زنده ماندند و در سال‌های دوم و سوم، زنده‌مانی نهال‌ها به‌ترتیب به ۹۳ و ۸۳ درصد رسید. بعد از آن قارچ *Rhizophagus intraradices* توانست نرخ زنده‌مانی ۹۴ ، ۸۹ و ۸۰ درصد را به‌ترتیب در سال‌های اول، دوم و سوم تأمین کند.

زنده‌مانی کمتر نهال‌های شاهد به‌دلیل وجود خاک نامناسب با عناصر مغذی و مادهٔ آلی اندک بود. در این شرایط قارچ‌های میکوریزی آربسکولار با هیف‌های گسترده خود، سطح برخورد با همان مواد غذایی را بالا بردند و سبب زنده ماندن و تفاوت ویژگی‌های رویشی در نهال‌های تلقیحی شدند. این نتایج، اهمیت توانمندسازی

نهال‌ها را به قارچ‌های میکوریزی آربسکولار در نهالستان و پیش از انتقال به رویشگاه و محل کاشت نشان می‌دهد. گفته می‌شود که دلیل اصلی شکست در جنگلکاری‌ها نبود قارچ‌های میکوریزی همزیست با نهال‌ها در زمان انتقال به عرصه است [۴]. اثرگذاری همزیستی قارچ‌های میکوریزی به‌شدت به گونهٔ گیاهی میزبان بستگی دارد. Schüßler و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که با تلقیح نهال‌های گونه‌های درختی *Handroanthus chrysanthus*، *Cedrela montana* و *Heliocarpus americanus* درصد همزیستی میکوریزی در بین این گونه‌ها متفاوت بود اما بهبود استقرار و کاهش مرگ‌ومیر این نهال‌ها فراهم شد [۲۱].



شکل ۶. درصد زنده‌مانی نهال‌های میکوریزی و غیر میکوریزی در سه سال متوالی. (p <۰/۰۵)

نتیجه‌گیری

در پژوهش پیش‌رو کوشش شد با شناخت قارچ‌های میکوریزی آربسکولار همزیست با ارس (*J. excelsa*) در رویشگاه چهارطاق کیار و تکثیر و تلقیح آنها به نهال ارس، تأثیر همزیستی قارچ‌ها در زنده‌مانی و فرایند رشد نهال‌های ارس ارزیابی شود. موفقیت در تولید مایهٔ تلقیح خالص از دیگر یافته‌های این پژوهش بود که با توجه به امکان‌پذیر نبودن کشت قارچ‌های میکوریزی آربسکولار در محیط کشت‌های مصنوعی، از گیاهان تله (ذرت) برای کشت آنها استفاده شد و حجم مناسبی از مایهٔ تلقیح پنج گونهٔ قارچ آربسکولار به‌دست آمد.

این پژوهش آشکار کرد که در میان تیمارهای میکوریزی، قارچ *Rhizophagus intraradices* تأثیر بهتری بر ویژگی‌های رویشی، و قارچ‌های *A. gerdemannii* و *R. intraradices* تأثیر بیشتری در زنده‌مانی نهال‌های ارس نشان دادند. با وجود عمومی بودن نسبی قارچ‌های آربسکولار برای گیاهان، پژوهش‌های انجام‌گرفته در برنامه‌های میکوریزی نشان می‌دهد که ارتباط هر گیاه با یک یا چند قارچِ مخصوص خود آن گیاه است. در کل، از نتایج این تحقیق استنتاج می‌شود که توانمندسازی نهال‌ها توسط قارچ‌های همزیست می‌تواند راهکار مناسبی برای افزایش زنده‌مانی و رشد آنها در برنامهٔ تولید نهال نهالستان‌ها باشد. استفاده از قارچ‌های همزیست برای بهبود رشد و استقرار نهال‌ها برای احیای مناطق تخریب‌یافته می‌تواند در برنامهٔ تحقیقات آیندهٔ پژوهشگران قرار گیرد.

References

[1]. Kasaian, J., Behravan, J., Hassany, M., Emami, S. A., Shahriari, F., and Khayyat, M. H. (2011). Molecular characterization and RAPD analysis of *Juniperus* species from Iran. Genetics and Molecular Research: GMR, 10(2), 1069–1074.

[2]. Adams, R. P., and Pandey, R. N. (2003). Analysis of *Juniperus* communis and its varieties based on DNA fingerprinting. Biochemical Systematics and Ecology, 31(11), 1271–1278.

[3]. Khoshnevis, M., Teimouri, M., Sadegzadeh Hallaj, M., Matinizadeh, M., and Shirvany, A. (2019). The effect of vegetative form and shading on planting success of Greek *Juniper* (Juniperus excelsa M. B.). Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 27(2), 125–134.

[4]. Ali Ahmad Korori, S., and Khoshnevis, M. (2000). Ecological and Environmental Studies of Juniperus habitats in Iran. Research Institute of Forest and Rangelands, 208 p.

[5]. Khosrojerdi, A., Droudy, H., Ahmadi, A., Saghafi Khadem, F., and Nam Doost, I. (2008). Investigation of the effect of native trees on the establishment of Juniperus excelsa seedlings in the forests of Hezar Masjed. Research and Construction (Natural Resources), 21, 219–227.

[6]. Moradi, M., Shirvany, A., Matinizadeh, M., Etemad, V., Naji, H. R., Abdul-Hamid, H., and Sayah, S. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungal symbiosis with *Sorbus torminalis* does not vary with soil nutrients and enzyme activities across different sites. IForest, 8(3), 308–313.

[7]. Smith, S. E., and Read, D. j. (2008). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, third edit, p. 787

[8]. Allen, M. F. (2011). Linking water and nutrients through the vadose zone: a fungal interface between the soil and plant systems. Journal of Arid Land, 3(3), 155–163.

[9]. Walkley, A., and Black, I. A. (1934). An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid tritation method. Soil Science, 37, 29–38.

[10]. Bremner, J. M., and Mulvaney, C. S. (1982). Nitrogen-total. In A. L. Page, R. H. Miller, and D. R. Keeney (eds.), Methods of Soil Analysis, Part 2. Agronomy, 9, 595–624.

[11]. Olsen, S. R., and Summers, L. E. (1982). Phosphorus. In Page. A. L., Keeney, D.R. (Eds.), Methods of soil analysis. Madison, WI: Soil Science Society of America, Inc, 421–422.

[12]. Warncke, D., and Brown, J. (1998). Potassium and Other Basic Cations. In: Brown, J.R., Ed., Recommended Chemical Soil Test Procedures for the North Central Region. Missouri Agricultural Experiment Station SB 1001, University of Missouri, Columbia, 221, 31–33.

[13]. Gerdemann, J. W., and Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society, 46(2), 235–244.

[14]. Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B., and Walker, C. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). Mycorrhiza, 23(7), 515–531.

[15]. Mcgonigles, T. P., Millers, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., and Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol, 115.

[16]. Matinizadeh, M., Ali, S., Korori, A., Khoshnevis, M., Teimouri, M., Karamdost, B., and Bonyad, A. (2005). Identification and abundance of mycorrhizal fungi symbiosis with Juniperus excelsa. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 13(4), 518.

[17]. Nouri, E., Moshki, A., Matinizadeh, M., Zolfaghari, A. A., and Rajaei, S. (2020). Variations in the diversity of the Arbuscular mycorrhizal fungi and its symbiosis as affected by different levels of grazing in rangelands. Iranian Journal of Range and Desert Research , 27(4), 619–628.

[18]. Noori, A., Manochehri Kalantari, K., Sharifi, M., Naseri, F., and Tahernezhad, A. (2009). Mycorrhizal status of some dominance plants in Kerman. Environmental Sciences, 6 (2),1–10.

[19]. Essahibi, A., Benhiba, L., Ait Babram, M., Ghoulam, C., and Qaddoury, A. (2018). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the functional mechanisms associated with drought tolerance in carob (*Ceratonia siliqua L*.). Trees, 32(1), 87–97.

[20]. Mirzaei, J., Akbarinia, M., Mohamadi Goltapeh, E., Sharifi, M., and Rezaei Danesh, Y. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizae fungi on morphological and physiological characteristics of *Pistacia khinjuk* under drought stress. Iranian Journal of Forest and Poplar, 19(244), 291–300.

[21]. Schüßler, A., Krüger, C., and Urgiles, N. (2016). Phylogenetically diverse AM fungi from Ecuador strongly improve seedling growth of native potential crop trees. Mycorrhiza, 26(3), 199–207.

Improving the survival, establishment and growth characteristics of *Juniperus excelsa* seedlings by inoculation of native mycorrhizal fungi

M., Matinizadeh[*]**;** Assoc., Prof., Forest Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran.

E., Nouri; Research Expert, Forest Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran.

T., Alizadeh; Research Expert, Forest Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), I.R. Iran.

A. , Shirvany; Assoc., Prof., Department of Forestry and Forest Economics, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. Iran.

(Received: 10 April 2021, Accepted: 04 Auguste 2021)

ABSTRACT

One of the strategies to promote the survival and growth of forest seedlings in rehabilitating damaged habitats is to identify arbuscular mycorrhizal fungi that symbiosis with the roots of the plants in that habitat and then propagate and inoculate them to enable the productive seedlings. The aim of this study was to identify arbuscular fungi coexisting Greek juniper (*Juniperus excelsa* M.Bieb.) of Chahartagh habitat (Chaharmahal and Bakhtiari province), and to evaluate the role of these fungi in increasing the viability and vegetative components of mycorrhizal juniper seedlings in three consecutive years. The roots and soil around the rhizosphere of nine juniper trees were sampled completely randomly and transferred to the laboratory in cold conditions (in the icebox). After identifying five species of symbiotic fungi, using identification keys in authoritative articles, the inoculum produced with maize was given to germinated juniper seeds, after 4 months. According to the results, the symbiotic effect of identified and inoculated arbuscular fungi including *Ambispora gerdemannii, Funneliformis mosseae , Glomus hoi, Septoglomus constrictum,* and *Rhizophagus intraradices* was positive on root length, shoot height, root collar diameter, and seedling survival. At the end of the third year, about 50% of the control seedlings were destroyed, however, the losses for inoculated seedlings ranged from 17 to 40%. *A. gerdemannii* and *R. intraradices* had the most positive effect on plant survival. The growth factors under *R. intraradices* treatment had the highest amount. The findings of this study have indicated that enabling seedlings with symbiotic fungi can be a good way to increase the survival and establishment of seedlings in the reforestation program, especially in damaged and degraded habitats where the soil does not have proper nutritional conditions.

Keywords: Arbuscular fungi, Morphological identification, Mycorrhizal seedling, Root colonization.

[*] Corresponding Author; Email: matini@rifr-ac.ir, Tel: +989124072530