نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۵، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲، ص. ۴۳۲-۴۲۴

Agroecology
Vol. 5, No. 4, Winter 2014, p. 424-432

تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزا بر میزان استقرار نشاء و برخی خصوصیات مورفولوژیکی- رشدی یونجه (*Medicago sativa* L.) در مرتع بهارکیش قوچان

ریحانه عظیمی[۱*]، محمد جنگجو[۲] و حمیدرضا اصغری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰٤/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۰۸

چکیده

مهم‌ترین و حساس‌ترین مرحله در اصلاح بیولوژیک اراضی مرتعی، استقرار اولیه نشاء گیاهان در طبیعت است که به‌دلیل شرایط نامساعد محیط در مناطق خشک و نیمه‌خشک اغلب با شکست مواجه می‌شود. استفاده از تکنولوژی‌های نوین و برهمکنش گیاهان با سایر موجودات ممکن است بر استقرار گیاهان در طبیعت کمک کند. هدف این تحقیق بررسی امکان افزایش درصد استقرار و سرعت رشد نشاءهای گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) تلقیح شده با قارچ میکوریزا آربوسکولار در مرتع بهارکیش قوچان بود. بدین منظور بذرهای یونجه ابتدا به مدت ۲۰ روز در شرایط گلخانه (سینی‌های نشاء) کشت و سپس با دوگونه میکوریزا آربوسکولار *Glomus mosseae* و *G. intraradices* تلقیح و به گلدان‌های کاغذی منتقل گردید و پس از یک ماه گلدان‌ها به مرتع منتقل شد و به صورت طرح آزمایشی کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در مساحتی حدود ۳۶۰۰ مترمربع کشت شد. نتایج نشان داد که میانگین درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه یونجه با گونه *G. mosseae* حدود ۶۲/۷ درصد و با میکوریزا *G. intraradices* حدود ۷۲ درصد بود. همزیستی قارچ میکوریزا بطور معنی‌داری سبب افزایش درصد استقرار در ابتدای و انتهای فصل رویش شد. تأثیر گونه *G. intraradices* بر استقرار گیاه یونجه بیشتر بود. علاوه بر این، همزیستی با این گونه سبب افزایش وزن خشک برگ، وزن خشک کل گیاه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه و نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه شد، در حالی‌که همزیستی با *G. mosseae* سبب کاهش برخی از این صفات شد یا این‌که اثری نداشت. بنابراین، بر اساس نتایج این تحقیق قارچ‌های *G. intraradices* را می توان به‌عنوان یک کودزیستی در افزایش تولید علوفه و استقرار اولیه گیاه یونجه در سطح مراتع نیمه‌خشک و منطقه بهارکیش قوچان توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: کلونیزاسیون، کود بیولوژیک، نشاءکاری

مقدمه

در فرآیند اصلاح مراتع، استقرار گیاهان به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک از اهمیت بسیاری برخوردار است. در این مناطق فقر عناصر غذایی خاک و تنش‌های محیطی باعث محدودیت استقرار گیاهان میشود. از طرفی در این نقاط چرخه مواد غذایی نیز کند بوده و نمی‌تواند نیازهای پوشش گیاهی را تأمین کند. به همین دلیل در مدیریت نوین مرتع تأمین عناصر غذایی از خارج مرتع در اولویت‌های مدیریتی است. از طرفی دیگر، چون کمبود بارندگی در عرصه‌های مرتعی کاملاً بارز است و شرایط خاک نیز برای تأمین عناصر غذایی از طریق کودهای شیمیایی مناسب نیست. کاربرد کودهای بیولوژیک در عرصه های مرتعی به‌عنوان رهیافتی مفید و عملی مطرح می‌باشد. یکی از این منابع استفاده از قارچ‌های همزیست می‌باشد. میکروارگانیسم‌های خاک در چرخه عناصر غذایی و نیز فرآیند تجدید پوشش گیاهی نقش مهمی دارند. احیاء پوشش گیاهی یکی از بهترین و موثرترین راه‌ها جهت کاهش تخریب خاک و جلوگیری از گسترش آن به مناطق مجاور است (Smith et al., Jiang et al., 2009

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد مدیریت مرتع، دانشیار دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود
(*- نویسنده مسئول: Email: Reyhaneazimi90@yahoo.com)

2010;). البته در مناطقی که شدیدتر تخریب شده‌اند، دسترسی به آب و کمبود مواد غذائی برای جوانه‌زنی بذر و استقرار نشاءها مشکل آفرین است (Sánchez Coronado et al., 2007). علاوه بر آن، احیاء پوشش گیاهی در خاک‌های فاقد پوشش و فقیر مشکل‌تر است (Guan et al., 2009). در جهان بیش از ۹۳۲ میلیون هکتار زمین فاقد پوشش- فقیر- شور و قلیائی وجود دارد و احیای پوشش گیاهی آنها با جذب موادغذایی، سلامت محیط زیست و رفاه اقتصادی در ارتباط است (Rengasamy, 2006). منابع مالی زیادی برای احیاء پوشش گیاهی در خاک‌های بدون پوشش و فقیر هزینه شده است (Wang, 2009; Johnson, 2002). البته بعلت شرایط نامطلوب خاک احیاء پوشش گیاهی در این مناطق کند است. بنابراین، مدیریت جوامع میکروبی با تأکید بر جهت‌دهی همزیستی آن می‌تواند نقش مهمی در احیاء اکوسیستم‌های تخریب شده داشته باشد (Renata et al., 2010). آزمایش‌های متعدد که در مقیاس کوچک صورت گرفته حاکی از آن است تلقیح گیاهان با میکوریزا می‌تواند اثرات مثبتی بر احیاء مناطق آسیب دیده داشته باشد (Smith et al., 2010). همزیستی گیاهان با قارچ میکوریزا دارای اثرات مثبت زیادی بر کیفیت گیاه می‌باشد و میکوریزا اثرات سوء ناشی از فقر عناصر غذایی و تنش‌های خشکی و شوری را کاهش می‌دهد (Smith et al., 1998; Swift et al., 2004; Thrall et al., 2009; Younginger et al., 2009). علاوه بر آن شبکه هیف‌ها به منافذ کوچک خاک وارد شده (He et al., 2007) و سطح جذب ریشه را افزایش می‌دهد (Friese et al., 1991) و در نهایت، سبب افزایش جذب آب و عناصر غذائی می‌شود و به همین دلیل استفاده از میکوریزا در احیاء پوشش گیاهی مناطق تخریب شده مورد توجه قرار گرفته است. احیاء مجدد پوشش گیاهی (بازپوشش) با میکوریزا در بسیاری از مناطق تخریب شده گزارش شده است (Bi, 2006; Garg & Manchanda, 2009). شاید نبود میکوریزا یکی از دلائل اصلی برای عدم موفقیت در احیاء پوشش گیاهی این مناطق باشد (Wang et al., 2009). اظهار داشتند که میکوریزا احتمالاً از زوال جوامع گیاهی جلوگیری کرده و در نتیجه می‌تواند نقش مهمی در احیاء اکولوژیکی جوامع داشته باشد (Miller & Jastrow, 2000). میکوریزا در توالی گیاهان در جوامع طبیعی مؤثر می‌باشد (Wilson, 1999; Friese & Allen 1991; Liu et al., 1999, van der Heijden & Bardgett, 2008). میکوریزا احتمالاً به خاک‌هایی با مواد آلی کمتر که شرایط مطلوب آنها است بیشتر سازگارند (Barea et al., 2005; Renata et al., 2010). نتایج برخی مطالعات نشان داد که تلقیح با میکوریزا به‌طور مؤثری کلونیزاسیون را در چمنزارهای مناطق حاشیه‌ای افزایش داد و کرت-های تلقیح شده دارای پوشش بیشتری از گیاهان بومی در مقایسه با کرت‌های بدون تلقیح بودند (Smith et al., 1998). نتایج آزمایشی نشان داد که تلقیح دوگونه یونجه یکساله (*Medicago polymorpha* L.) و (*M. scutellata* L.) با قارچ میکوریزا علاوه بر افزایش معنی‌دار درصد کلونیزه شدن، بر بعضی خصوصیات رویشی هر دو نوع گونه نیز تأثیر مطلوبی داشت (Saghari et al., 2009). در تحقیقی به منظور ارزیابی نقش میکوریزا در احیاء پوشش گیاهی روی زمین‌های تخریب شده در چین گونه چمنی (*Leymus chinensis*- (Trin) Tzvel) که گونه‌ای مناسب در آن‌جا است در گلدان کشت و خاک گلدان‌ها از خاک‌های منطقه تهیه و گیاه با میکوریزای بومی منطقه تلقیح و سپس نشاء این گیاه به شرایط طبیعی انتقال داده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *Leymus chinensis*- (Trin) (Tzvel) تحت تأثیر تلقیح با *Glomus geosporum* و *G. moseae* و در شرایط شوری زیاد و تنش خشکی توانست به حیات خود ادامه دهد. در نتیجه میکوریزا اثرات مثبتی روی استقرار، بقاء و رشد گونه چمنی داشت و احیاء پوشش گیاهی را در شرایط سخت محیطی بهبود بخشید. انتقال نشاء به صورت مستقیم در خاک‌های فقیر یا شور و قلیایی نه تنها توالی پوشش گیاهی را از طریق قارچ میکوریزا بهبود بخشید، بلکه همچنین تنوع زیستی و ثبات جامعه گیاهی دوباره استقرار یافته نیز بهبود یافت. نتایج این تحقیق بیانگر این بود که همزیستی میکوریزایی می‌تواند توالی پوشش گیاهی در خاکهای فقیر، شور و قلیایی را بهبود بخشد و جامعه گیاهی را به سمتی ببرد که پوشش گیاهان بومی را بازیابد (Zhang et al., 2011). برخی مطالعات حاکی از آن است که محلول‌پاشی ماده تلقیح میکوریزایی کارایی کمتری نسبت به اضافه کردن آن به صورت لایه لایه به خاک محیط رشد دارد. دلیل آن می‌تواند این باشد که مایه تلقیح در روش محلول‌پاشی نزدیک بذر قرار نمی‌گیرد و یا این‌که بیشتر در معرض عوامل محیطی می باشد و آسیب‌پذیرتر می‌شود (Friese & Allen, 1991). مطالعات اندکی در زمینه‌ی اثرات میکوریزا در مناطقی که عملیات احیاء و اصلاح روی پوشش طبیعی صورت گرفته است وجود دارد و این موضوع عمدتاً به علت مشکلات و هزینه‌های تلقیح در سطوح وسیع است (Smith et al., 2010). یونجه مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای جهان به شمار می‌آید که در تمام نقاط جهان به جز نواحی گرمسیری حضور دارد، این جنس در ایران ۱۵ گونه علفی یکساله و چندساله دارد (Mozafarian, 2000). چون اکثر تحقیقات مربوط به بررسی اثرات میکوریزا بر روی گیاه یونجه بیشتر در شرایط مزرعه انجام گرفته است، لذا لزوم انجام تحقیقات بیشتر در مورد اثرات میکوریزا بر گیاه یونجه در عرصه‌های مرتعی احساس می‌شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرتع ییلاقی بهارکیش واقع در شهرستان قوچان در استان خراسان رضوی در سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ انجام شد. متوسط بارندگی منطقه بر اساس درون‌یابی انجام شده از ایستگاه

هواشناسی بار نیشابور ۳۴۶ میلی‌متر است که عمدتاً به صورت برف و در ماه‌های سرد سال اتفاق می افتد. منطقه دارای اقلیم نیمه‌خشک فراسرد است. از نظر پستی و بلندی، دارای شیب‌های تند و جهت آن-ها عموما شمالی است، که در حد ارتفاع ۳۲۰۰-۲۰۰۰ متر از سطح دریا قرار دارد. برای انجام این آزمایش، یک قطعه پنج هکتاری انتخاب و از ورود دام به آن جلوگیری شده قطعه مورد نظر در حدود ارتفاعی ۲۵۰۰-۲۴۰۰ متری از سطح دریا و در جهت شیب شمالی واقع شده بود. از آنجایی که هدف این تحقیق بررسی اثر شیب و جهت نبود، سایت مطالعاتی به گونه‌ای انتخاب شد که این عوامل کمترین تاثیر را داشته باشند. سایت مورد مطالعه در مقیاس محلی به حالت ناودیس فراخی (به شکل کاسه) بود که دارای شیب شمالی و شیب جنوبی بود و شیب آن از صفر تا بیش از ۱۰۰ درصد تغییر می‌کرد. خصوصیات خاک منطقه با انجام نمونه‌گیری صحرایی و بررسی‌های آزمایشگاهی تعیین گردید. بر این اساس بافت خاک شنی لوم (۲۰ درصد شن، ۵۶ درصد سیلت و ۲۴ درصد رس)، هدایت الکتریکی $EC= ۰/۰۴ dS.m^{-1}$ و اسیدیته خاک pH= ۷/۵۳ تعیین گردید (Jankju et al., 2009).

کاشت و تلقیح میکوریزایی

ابتدا بذر گونه علوفه‌ای یونجه در سینی‌های نشاء ۱۶۰ تایی کشت شد. نشاهای حاصل پس از یک ماه به گلدان‌های کاغذی (ابعاد ۷*۹) که هر گلدان حدود ۱۶۰ گرم خاک گنجایش داشت منتقل و در تیمارهای جداگانه با دو گونه میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* تلقیح گردید. خاک میکوریزایی از شرکت زیست فناورتوران تهیه شد که داخل هر گرم از خاک حداقل ۵۰ عدد اسپور زنده وجود داشت. ماده تلقیح شامل خاک+اسپور+ریشه گیاهان+هیف‌های قارچ میکوریزی بود. مقدار مایه تلقیح میکوریزا به خاک گلدان به نسبت یک به ده (۱/۱۰) بود، که ماده تلقیح به صورت لایه لایه به خاک گلدان اضافه شد. قبل از کاشت نشاءها در گلدان ابتدا آن را در خاک میکوریزایی غلتانده و پس از آن در هر گلدان سه نشاء کاشته شد. سپس زمانی که ارتفاع گیاهان به حدود ۵-۳ سانتی‌متر رسید، گلدان‌ها به بیرون گلخانه منتقل شدند. پس از یک هفته تعداد ۹۰ گلدان به عرصه‌ی مورد مطالعه در منطقه بهار کیش قوچان انتقال یافت به صورت طرح آزمایشی کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در مساحتی حدود ۳۶۰۰ مترمربع کشت شد.

ارزیابی از گیاهان استقرار یافته

ارزیابی استقرار نشاءها در دو مرحله انجام شد. اولین شمارش پایه‌های استقرار یافته در اوایل خرداد ماه صورت گرفت. سپس در اوایل مرداد ماه در مرحله بذردهی و قبل از ریزش برگ‌ها علاوه بر شمارش پایه‌های استقرار یافته، ارتفاع آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد بدین-منظور از هر تیمار نه گیاه بصورت تصادفی انتخاب و به‌صورت کامل از خاک خارج شد. طول ریشه نمونه‌ها از یقه تا نوک ریشه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد و اعداد به دست آمده بر حسب واحد سانتی‌متر گزارش شد. پس از اندازه‌گیری طول ریشه و طول ساقه نمونه‌ها بصورت جداگانه در پاکت کاغذی قرار داده شد و پس از خشک کردن در سایه، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد در آون خشک شدند. وزن خشک ساقه، ریشه و برگ با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری و ثبت شد.

برای تعیین میزان همزیستی میکوریزایی ریشه‌ها و اندازه گیری درصد آلودگی میکوریزایی، قسمتی از ریشه تازه گیاهان حدود ۰/۲ گرم به صورت تصادفی انتخاب شده و پس از شستشوی کامل با آب به اندازه‌های یک سانتی‌متری قطع و جهت آماده‌سازی، نمونه‌ها به داخل شیشه‌های حاوی محلول ۱۰ درصد KOH منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس ریشه‌ها شسته شده و جهت خنثی کردن محیط قلیایی به مدت دو دقیقه در محلول یک دهم مولار HCl قرار داده شدند. جهت رنگ‌آمیزی ریشه‌ها از روش تغییر یافته فیلیپس و هیمن (Phillips & Hayman, 1970) استفاده گردید. پس از رنگ‌آمیزی ریشه‌ها، برای تعیین درصد کلونیزه شدن با ریشه‌ها از روش گیووانتی و مؤسه (Giovannetti & Mosse, 1980) استفاده شد. داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار پایگاه اطلاعاتی Excel دسته‌بندی و نمودارهای مربوط تهیه شد. برای انجام آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS ver.18 و Minitab ver.16 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه یونجه با تیمار میکوریزا

آنالیز واریانس اثر فصل رویش و تیمارهای میکوریزایی بر درصد کلونیزه شدن ریشه یونجه چندساله معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بود، اما اثر متقابل این عوامل معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسات میانگین اثرات این دو نوع میکوریزا در ابتدا و انتهای فصل رویش نشان داد که مقدار درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه یونجه با تیمار میکوریزا نوع *G. intraradices* به‌طور معنی‌داری بیشتر از درصد همزیستی گیاه با میکوریزا *G. mosseae* بوده است (شکل ۲). به‌طور کلی، در این تحقیق مشخص شد که گیاه یونجه قادر است با قارچ میکوریزا همزیستی برقرار کند و همچنین درصد کلونیزه شدن آن با گونه میکوریزا *G. intraradices* بیشتر از *G. mosseae* بود. نتایج ساغری و همکاران (Saghari et al., 2009) نیز تأییدکننده این موضوع است.

اثر همزیستی میکوریزایی بر میزان استقرار یونجه

درصد استقرار نشاءهای یونجه

آنالیز واریانس اثر فصل رویش و تیمارهای میکوریزایی بر درصد استقرار یونجه معنی‌دار (p≤۰/۰۱) بود، اما اثر متقابل این عوامل معنی‌دار نبود و نتایج هر یک به صورت جداگانه بررسی شد (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسات میانگین بین درصد استقرار گیاه یونجه در ابتدای فصل و انتهای فصل تفاوت معنی‌داری وجود داشت (شکل ۳).

درصد استقرار نشاءهای یونجه در ابتدای فصل رویش

تیمارهای مختلف میکوریزا به‌طورکلی تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بر افزایش استقرار نشاءها ابتدای فصل رویش داشت (شکل ۳). با این وجود، اثر تسهیل دو گونه میکوریزا بر استقرار یونجه یکسان نبوده و تعداد نشاء مستقر شده تیمار *G. intraradices* به‌طور معنی‌داری (p≤۰/۰۱) بیشتر از تیمار *G. mosseae* و شاهد بود (شکل الف- ۴).

درصد استقرار نشاءهای یونجه در انتهای فصل

اثر تلقیح با دو گونه میکوریزا بر درصد استقرار نشاءهای یونجه در انتهای فصل رویش معنی‌دار (p≤۰/۰۱) بود (شکل ۳). مقایسات میانگین اثرات این دو نوع میکوریزا نشان داد که میکوریزا *G. intraradices* بیشترین تأثیر را نسبت به *G. mosseae* بر استقرار آخر فصل نشاءهای یونجه داشت (شکل ب-۴).

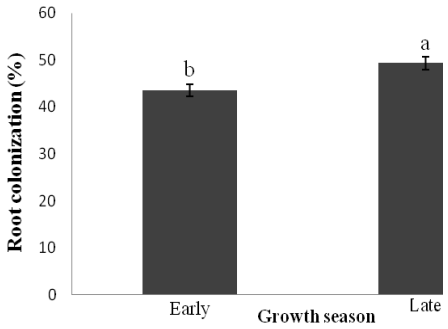
جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر زمان فصل رویش و دو گونه میکوریزا روی درصد استقرار و درصدکلونیزه شدن ریشه یونجه

Table 1- Analysis of variance for the effect of growth time and mycorrhiza inoculations on establishment and symbiosis of alfalfa

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات Mean of squares	
S.O.V	df	درصد کلونیزاسیون Inoculation percentage	درصد استقرار Establishment percentage
تکرار Replication	2	14.2	22.22
میکوریزا Mycorrhiza	2	9411.6**	1505.6**
خطای اصلی Main error	4	30.2	80.56
زمان رویش Time growth	1	150.2**	5688.9**
زمان رویش× میکوریزا Mycorrhiza×time growth	2	3.6 ns	38.9 ns
خطای فرعی Sub error	12	7.1	105.55

** و ns: به‌ترتیب معنی دار در سطح ۰/۰۱ و عدم معنی‌داری

** and ns: significant at p≤0.01 and non significant, respectively.

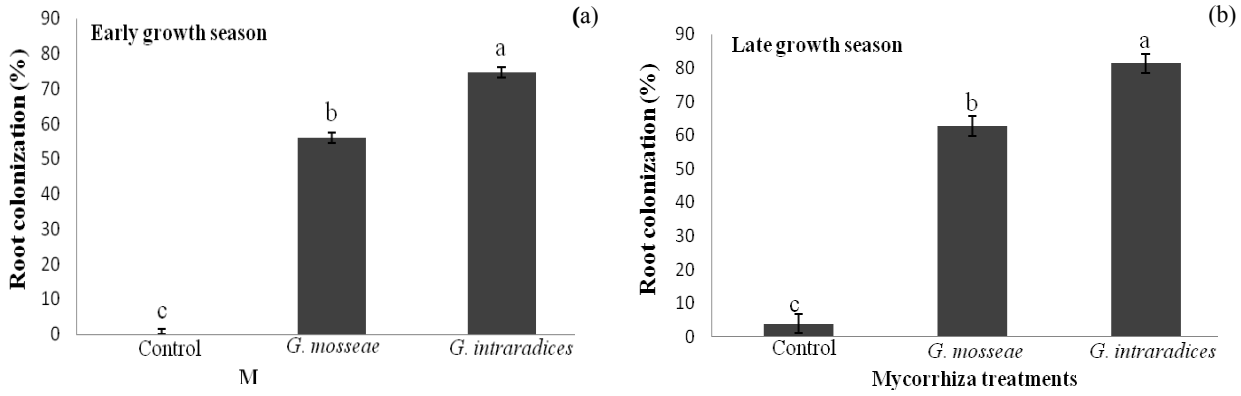


شکل ۱- درصد همزیستی ریشه گیاه یونجه در ابتدا و انتهای فصل رویش

Fig. 1- Root colonization percent of alfalfa roots with mycorrhiza at the early and late growth season

میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with the same letters have not significant difference at 5% probability based on Duncan's Multiple Rang Test.



شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف بر درصد همزیستی ریشه گیاه یونجه در (الف) ابتدای فصل رویش (ب) انتهای فصل رویش

Fig. 2- Effects of mycorrhiza inoculations on alfalfa root colonization percent (a) at early growth season (b) at late growth season

میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with the same letters have not significant difference at 5% probability based on Duncan's Multiple Rang Test.

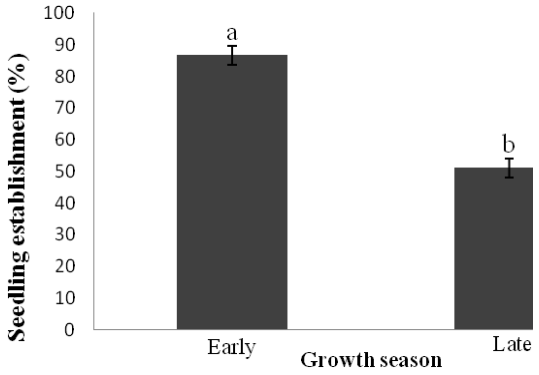
حضور قارچ‌های میکوریزا و همزیستی آن‌ها با گیاه یونجه سبب افزایش توانایی استقرار گیاهان شد. تسهیل در استقرار اولیه نشاءهای یونجه در نتیجه فراهمی رطوبت، فسفر، نیتروژن و مواد آلی بیشتر در اثر تلقیح میکوریزایی ایجاد می‌شود (Porras-Soriano et al., 2009). در تحقیقی مشخص شد که در گیاهان میکوریزایی به دلیل افزایش فتوسنتز و تولید بیشتر مواد فتوسنتزی به ازای واحد آب مصرفی کارایی مصرف آب افزایش می‌یابد (Miller & Jastrow, 2000) که این امر منجر به تحمل و دوام گیاه در شرایط سخت محیطی می‌شود.

جنیفر و همکاران (Jennifer et al., 2008) گزارش کردند که افزایش کلونیزاسیون در طی مرحله استقرار سبب فراهم کردن شرایط مناسب‌تری برای احیاء منطقه شده بود. ژنگ و همکاران (Zhang et al., 2011) به این نتیجه رسیدند که معرفی مجدد قارچ مایکوریزا توسط انسان برای استقرار مجدد پوشش‌گیاهی و جوامع قارچ مایکوریزایی حیاتی است.

اثر همزیستی میکوریزا بر خصوصیات مرفولوژیک و رشد اندام‌های گیاه یونجه

وزن خشک ساقه

با توجه به نتایج مشخص شد که اثر میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* بر افزایش وزن ساقه نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) است (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های مربوط به این دو گونه نشان داد که بین تیمار شاهد با تیمارهای *G. intraradices* و *G. mosseae* تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳).

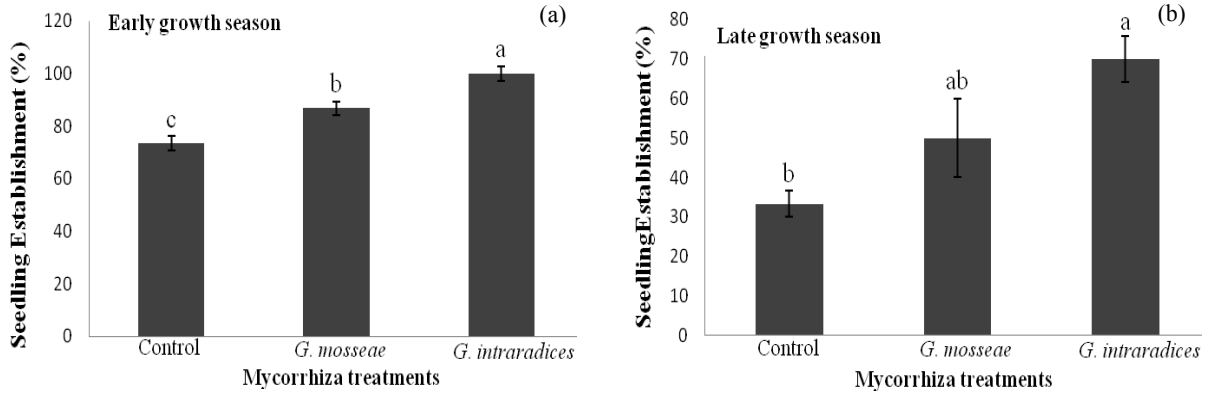


شکل ۳- درصد استقرار گیاه یونجه در ابتدا و انتهای فصل رویش

Fig. 3- Alfalfa establishment percentage at early and late growth season

میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with the same letters have not significant difference at 5% probability based on Duncan's Multiple Rang Test.



شکل ٤- اثر تیمارهای مختلف بر درصد استقرار گیاه یونجه در (الف) ابتدای فصل رویش (ب) انتهای فصل رویش

Fig. 4- Effects of mycorrhiza inoculations on establishment of alfalfa seedlings (a) at early growth season (b) at late growth season

میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means with the same letters have not significant difference at 5% probability based on Duncan's Multiple Rang Test.

وزن خشک برگ

اثر تلقیح با دو گونه میکوریزا بر میزان وزن خشک یونجه چندساله معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود (جدول۲). با توجه به نتایج مقایسات میانگین گونه *G. intraradices* بیشترین میزان وزن خشک برگ را به خود اختصاص داد (جدول ۳).

وزن خشک اندام هوایی

بیشترین مقدار وزن خشک اندام‌هوایی (ساقه و برگ) مربوط به گونه میکوریزا *G. intraradices* و کم‌ترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۳).

وزن خشک ریشه

تلقیح گیاه یونجه با میکوریزای *G. intraradices* باعث افزایش وزن خشک ریشه در مقایسه با گونه میکوریزای *G. mosseae* شد، اما وزن خشک ریشه در تیمار شاهد حدواسط بین نتایج مشاهده شده بود و با میانگین‌های دو گونه میکوریزای *G. intraradices* و *G. mosseae* تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی

دو نوع میکوریزا باعث افزایش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی شد (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسات میانگین بین تیمارهای *G. intraradices* و *G. mosseae* تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما تفاوت این تیمارها با تیمار شاهد معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۳).

طول ریشه

از مقایسه طول ریشه در گیاهان تحت تیمارهای مختلف میکوریزایی معلوم شد که گونه‌های مورد استفاده نتوانستند تغییر معنی‌داری را در طول ریشه یونجه ایجاد نمایند (جدول ۲).

طول ساقه

اثر هیچ یک از تیمارهای بکار برده شده بر طول ساقه گیاه یونجه معنی‌دار نبود (جدول ۲). مهرورز و همکاران (Mehrvarz et al., 2008) گزارش کردند که تلقیح میکوریزایی اثری بر افزایش ارتفاع بوته گیاه جو یکساله نداشت.

نتایج آزمایش نشان می دهد که تلقیح یونجه چند ساله با قارچ میکوریزا *G. intraradices* علاوه بر افزایش بسیار معنی‌دار درصد کلونیزاسیون ریشه، بر برخی خصوصیات رویشی آن نیز تاثیر مطلوبی داشت. گونه‌های مختلف میکوریزا اثرات متفاوتی روی ویژگی‌های ریشه یونجه داشتند، گونه‌هایی که دارای توانایی زیادی در ایجاد همزیستی با گیاهان هستند، می‌توانند سبب افزایش تولید ماده خشک ریشه و اندام‌هوایی گیاه و جذب فسفر در میزبان می‌شوند (Daei et al., 2009).

قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار در ایجاد همزیستی با گیاهان میزبان به طور غیراختصاصی عمل می‌کنند. تقریباً هر میکوریزای آربوسکولار می‌تواند با یک گونه میزبان تشکیل همزیستی بدهد. با توجه به نتایج این تحقیق گونه *G. intraradices* دارای بیشترین کارایی در افزایش وزن خشک یا عملکرد یونجه بود.

گیاهان همزیست با گونه مناسب میکوریزا دارای جذب آب و عناصرغذایی (به خصوص فسفر) بیشتری هستند. تلقیح گیاه یونجه چندساله با قارچ میکوریزا نشان داد که گونه *G. intraradices* به

میزان بیشتری نسبت به گونه *G. mosseae* باعث افزایش وزن خشک اندام‌هوایی شد. احتمالاً این موضوع نشان می‌دهد که *G. intraradices* در جذب آب و موادغذایی به ویژه فسفر به گیاه کمک بیشتری کرده (Johnson et al., 2002; Swift, 2004) و سبب تجمع ماده خشک بیشتری شده لذا از کارایی بیشتری در تولید زیست‌توده اندام‌هوایی یونجه برخوردار بود.

افزایش وزن خشک اندام هوایی (برگ-ساقه) در گیاه مورد تحقیق نتیجه مهمی است که در اثر تلقیح با قارچ میکوریزا حاصل شده است، زیرا افزایش زیست‌توده هوایی گیاه علوفه‌ای به معنی افزایش عملکرد محصول در واحد سطح اراضی علوفه‌کاری به شمار میرود. این قارچها افزایش زیست‌توده را به‌وسیله جذب آب، مواد معدنی و تولید هورمون‌های رشد انجام می‌دهند. تولید هورمون‌های رشد مانند: اکسین، سیتوکنین و جیبرلین به وسیله قارچ‌های میکوریزایی اثبات شده است (Swift, 2004).

قارچ میکوریزا باعث افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی شد که با نتایج تحقیق ساغری و همکاران (Saghari et al., 2009) هم‌خوانی دارد. قارچ‌های میکوریزایی با تولید هورمون‌های گیاهی می‌توانند رشد گیاه و یا رشد ریشه را تشدید کنند، در نتیجه ظرفیت جذب عناصرغذایی را بالا برده و شانس گیاه را در اجتناب از خشکی افزایش می‌دهند. هیف‌های خارجی میکوریزا، اصلی‌ترین عامل در تأمین کربن در خاک محسوب می‌شوند (Barea et al., 2005).

این نتایج با نتایج تحقیقات گذشته که نشان داده است تلقیح میکوریزایی در افزایش صفات رویشی گیاهان نقش دارد مطابقت می‌کند (Atayese, 2007; Ahmad Khan et al., 2007; Douponnois et al., 2005; Mehrvarz et al., 2008; Tufenkci et al., 2005). شرما و همکاران (Sharma et al., 2009) مشاهده کردند که گیاهان میکوریزایی از نظر ارتفاع، وزن و محتوای عناصر غذایی در مقایسه با شاهد ارجحیت داشتند.

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر دو گونه میکوریزا روی صفات مورفولوژیک رشد یونجه

Table 2- Analysis for variance of the effect of two mycorrhiza species inoculation on plant the morphological parameters of alfalfa

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات Mean of squares						
		وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی	طول ریشه	طول ساقه
S.O.V	DF	dry weight of Stem	Leaf dry weight	Shoot dry weight	Root dry weight	Root to shoot weigh ratio	Root length	Stem length
تکرار Replication	2	0.02	0.03	0.08	0.02	0.01	16.41	70.13
تیمار Treatment	2	1.42^{**}	1.9^{**}	6.45^{**}	0.09^{*}	0.33^{**}	1.89^{ns}	2.65^{ns}
خطا Error	4	0.05	0.12	0.33	0.06	0.001	2.29	33.77

****، * و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱، ۰/۰۵ و عدم معنی‌داری

**, * and ns: significant at p≤ 0.01, p≤ 0.05 and non significant, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین رشد و زیست توده هوایی گیاه یونجه چندساله تحت تیمارهای میکوریزایی و شاهد

Table 3- Comparison of growth and shoot biomass of alfalfa under mycorrhiza treatments and control

تیمار Treatment	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی Root to shoot weight ratio
شاهد Control	$1.078^{ab}\pm 0.08$*	$0.7^{c}\pm 0.06$	$0.512^{c}\pm 0.08$	$1.212^{c}\pm 0.13$	$1.137^{b}\pm 0.1$
G. mosseae	$0.911^{b}\pm 0.07$	$1.589^{b}\pm 0.08$	$1.218^{b}\pm 0.11$	$2.807^{b}\pm 0.16$	$3.107^{a}\pm 0.26$
G. ntraradices	$1.267^{a}\pm 0.1$	$2.056^{a}\pm 0.15$	$1.602^{a}\pm 0.13$	$3.658^{a}\pm 0.25$	$3.307^{a}\pm 0.12$

*در هر ستون و برای هر فاکتور میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

*Means in each column and for each factor followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan's Multiple Rang Test.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق مشخص شد که گیاه یونجه قادر است با قارچ‌های میکوریزا همزیستی داشته باشد و همچنین درصد کلونیزاسیون در گونه *G. intraradices* نسبت به گونه *G. mosseae* بالاتر بود. معمولاً ایزوله‌هایی که توانایی بیشتری برای کلونیزه‌کردن ریشه‌ها دارند، می‌توانند در جذب عناصر غذایی، آب و افزایش مقاومت گیاهان در عرصه‌های طبیعی کارایی بیشتری داشته باشند و عملکرد آن‌ها را افزایش دهند، زیرا هیف‌های خارجی با جذب آب و عناصر معدنی می‌تواند نقش مهمی را روی رشد، استقرار و عملکرد گیاه میزبان بگذارد. نتایج این مطالعه نشان داد که می‌توان از قابلیت قارچ‌های میکوریزا به عنوان یک کود زیستی در افزایش تولید علوفه و استقرار اولیه گیاه یونجه چندساله در سطح مرتع نیمه‌خشک بهار کیش قوچان بهره جست.

منابع

1. Ahmad Khan, I., Ahmad, S., Sarvat, N.M., Moazzam, N., Athar, M., and Shabir, S. 2007. Growth response of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) to hosphorus and mycorrhizal inoculation. Agriculturae Conspectus Scientificus, 72 (2): 129-132.
2. Allen, E.B., and Cunningham, G.L. 1991. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on Distichlis spicata under three salinity levels. New Phytologist 93: 227-236.
3. Atayese, M.O. 2007. Feild response of groundnut (*Arachis hypogea* L.) cultivars to mycorrhizal inoculation phosphorus fertilizer in Abeokuta, South West Nigeria American-Eurasian. Journal of Agriculture and Environment 2(1): 16-23.
4. Barea, J.M., Pozo, M.J., Azcon, R., and Azcon, C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany 56(417): 1761-1778.
5. Bi, Q. 2006. Analysis on arbuscular mycorrhizal fungi to salt-tolerance and growth effects of *Leymus chinensis*. Master Dissertation. Northeast University of Changchun.
6. Daei, G., Ardekani, M.R., Rejali, F., Teimuri, S., and Miransari, M. 2009. Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. Journal of Plant Physiology 166: 617-625.
7. Douponnois, R., Colombet, A., and Thioulouse, V.H.J. 2005. The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holoseria*. European Journal of Soil Biology 37: 1460-1468.
8. Friese, C.F., and Allen, M.F. 1991. The spread of VA mycorrihizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. Mycologia 83: 409-418.
9. Garg, N., and Manchanda, G. 2009. Role of arbuscular mycorrhizae in the alleviation of Ionic, osmotic and oxidative stresses induced by salinity in (*Cajanus cajan* L.) *Mill* sp. (pigeonpea). Journal of Agronomy and Crop Science 195: 110-123.
10. Giovannetti, M., and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.
11. Guan, B., Zhou, D., Zhang, H., Tian, Y., Japhet, W., and Wang, P. 2009. Germination responses of *Medicago ruthenica* seeds to salinity, alkalinity and temperature. Journal of Arid Environments 73: 135-138.
12. He, Z., He, C., Zhang, Z., Zou, Z., and Wang, H. 2007. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 59: 128-133.
13. Jankju, M., Delavari, A., and Ganjali, A. 2009. Interseeding of range plants Bromus kopetdaghensis in shrub lands rangeland. Journal of Iranian Range Management Society 2(4): 314-328. (In Persian With English abstract)
14. Jennifer, A.W., Tallaksen, J., and Charvat, I. 2008. The effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation at a roadside prairie restoration site. Mycologia 100 (1): 6–11.
15. Jiang, S.C., He, N.P., Wu, L., and Zhou, D.W. 2009. Vegetation restoration of secondary bare saline-alkali patches in the Songnen plain, China. Applied Vegetation Science doi:10.1111/j.1654-109X.2009.01048.x.
16. Johnson, D., Leake, J.R., Ostle, N., Ineson, P., and Read, D.J. 2002. In situ 13 CO_2 pulselabelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil. New Phytologist 153: 327-334.
17. Klironomos, J.N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. Ecology 84: 2292–2301.
18. Liu, R.J., Liu, P.Q., Xu, K., and Lu, Z.F. 1999. Ecological distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in saline-alkaline soils of China. Chinese Journal of Applied Ecology 10: 721-724.

19. Mehrvarz, S., Chaichi, M.R., and Alikhani, H.A. 2008. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield component of Barley (*Hordeum vulgare* L.). American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment 3 (6): 822-828.
20. Miller, R.M., and Jastrow, J.D. 2000. The application of VA mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. In: Allen MF, ed. Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process. New York: Chapman and Hall p. 438–467.
21. Mozafarian, V. 2000. Glossary of Iranian Plant Names. 2nd Edited, Institute of Contemporary Iran. (In Persian)
22. Phillips, J.M., and Hayman, D.S. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasites and vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55: 158–161.
23. Porras-Soriano, A., Soriano-Martín, M.L., Porras-Piedra, A., and Azcón, R. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. Journal of Plant Physiology 166: 1350-1359.
24. Renata, G., Bruno, T., and Danielle, K. 2010. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and cattle manure in the establishment of *Tocoyena selloana* Schum. In: mined dune areas. European Journal of Soil Biology 46: 237- 242.
25. Rengasamy, P. 2006. World salinization with emphasis on Australia. Journal of Experimental Botany 57: 1017-1023.
26. Saghari, M., Barani, H., Mesdagi, M., and Sadroi, M. 2009. Inoculation effect of mycorrhiza and Phosphorus fertilize on growth and yield of two annual *Medicago* sp. Journal of Iranian Range Management Society 15: 291-301. (In Persian)
27. Sánchez-Coronado, M.E., Coates, R., Castro-Colina, L., de Buen, A.G., Paez-Valencia, J., Barradas, V.L., Huante, P., and Orozco-Segovia, A. 2007. Improving seed germination and seedling growth of *Omphalea oleifera* (Euphorbiaceae) for restoration projects in tropical rain forests. Forest Ecology and Management 243: 144-155.
28. Sharma, D., Kapoor, R., and Bhatnagar, A.K. 2009. Differential growth response of *Curculigo orchioides* to native arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities varying in number and fungal components. European Journal of Soil Biology 45: 328-333.
29. Smith, M.R., Charvat, I., and Jacobson, R.L. 1998. Arbuscular mycorrhizae promote establishment of prairie species in a tallgrass prairie restoration. Canadian Journal of Botany 76: 1947-1954.
30. Smith, S.E., Facelli, E., Pope, S., and Smith, A.F. 2010. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. Plant and Soil 326: 3-20.
31. Swift, C.E. 2004. Mycorrhiza and soil phosphorus levels. Area Extension Agent: http://www.colostate.edu/Depts/CoopExt/Tra/Plants/mycorrhiza.
32. Thrall, P.H., Broadhurst, L.M., Hoque, M.S., and Bagnall, D.J. 2009. Diversity and salt tolerance of native *Acacia rhizobia* isolated from saline and non-saline soils. Austral Ecology 34: 950 –963.
33. Tufenkci, S., Sonmez F., and Sensoy, R. 2005. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus inoculation and phosphorous and nitrogen fertilizations on some plant growth parameters and nutrient content of chickpea. European Journal of Soil Biology 5(6): 738-743.
34. Van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., and van Straalen, N.M. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecology Letters 11: 296-310.
35. Wang, Z., Song, K., Zhang, B., Liu, D., Ren, C., Luo, L., Yang, T., Huang, N., Hu, L., Yang, H., and Liu, Z. 2009. Shrinkage and fragmentation of grasslands in the West Songnen Plain, China. Agriculture, Ecosystems and Environment 129: 315-324.
36. Wilson G.W.T. 1999. Mycorrhizae influence plant community structure and diversity in tallgrass prairie. Ecology 80: 1187–1195.
37. Younginger, B., Barnouti, J., and Moon, D.C. 2009. Interactive effects of mycorrhizal fungi, salt stress, and competition on the herbivores of *Baccharis halimifolia*. Ecological Entomology 34: 580-587.
38. Zhang, Y.F., Wang, P., and Yang, Y.F. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi improve reestablishment of *Leymus chinensis* in bare saline-alkaline soil: Implication on vegetation restoration of extremely degraded land. Journal of Arid Environments 1-6.