نقش قارچ‌های میکوریزی خاک در تغذیه نهال گردو

خلیل انصاری
عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات حفاظت خاک و آبخیزداری، تهران- صندوق پستی: ۱۳۴۴۵-۱۱۳۶

مقدمه

میکوریزا (Mycorrhiza) به نوعی همزیستی متقابل بین برخی قارچ‌ها و ریشه گیاهان اطلاق می‌شود. این قارچ‌ها به درون بافت‌های ریشه میزبان نفوذ می‌کنند و با فرستادن اندام مکنده به داخل و بین سلول‌های میزبان، برخی از مواد آلی مورد نیاز خود را به دست می‌آورند و متقابلاً در جذب آب و مواد معدنی، انحلال مواد نامحلول و معدنی کردن مواد آلی خاک اطراف ریشه و جذب آنها به وسیله ریشه و بیوسنتز برخی از هورمون‌ها و انتقال آنها به گیاه میزبان کمک می‌کنند(۲۶).

در اثر همزیستی بین قارچ و ریشه گیاهان عالی سطح جذب افزایش پیدا کرده و با برخی از باکتریهای تثبیت کننده نیتروژن همزیستی ایجاد نموده، به این ترتیب در تأمین نیازهای گیاه عالی کمک زیادی می‌نمایند. به همین علت در خاک‌های فقیر اثر مفید آنها برای گیاه بیشتر است. به علاوه برخی از میکوریزا مقاومت گیاه میزبان را در برابر برخی از عوامل بیماریزا، بعضی از تنش‌های محیطی و فلزات سنگین خاک و شرایط نامساعد تا حدودی افزایش می‌دهند(۱۳). بعضی از قارچهای همزیست ریشه‌ای برخی از مواد افزون بر نیاز گیاه را در خود ذخیره کرده و در هنگام نیاز میزبان در دسترس آن قرار می‌دهند. همچنین تعدادی از آنان نیز با تولید ترکیبات پلی‌ساکاریدی و نفوذ و انتشار در بین ذرات خاک تهویه خاک را افزایش داده و از فرسایش آن جلوگیری می‌کنند و به طور کلی کیفیت خاک را بهبود می‌بخشند (۲).

تقریباً تمام بازدانگان و حدود هفتاد درصد گونه‌های پتریدوفیت به طور طبیعی با قارچهای میکوریز همزیستی دارند و در مواردی آلودگی با بیش از یک نوع قارچ همزیست در آنها دیده می‌شود(۱۴). برخی از اکتومایکوریزا از آمونیم و مواد آلی ساده استفاده کرده و نیتروژن اضافی را به شکل گلوتامین در ریسه‌های خود ذخیره می‌کنند(۱۶). تعدادی از این قارچها علاوه بر جذب نیتروژن از منابع قابل جذب قادر به محلول کردن ترکیبات نیتروژن‌دار غیر محلول و استفاده از آن هستند(۱۱).

همزیستی قارچهای اندومیکوریز از نوع وسیکولار- آرباسکولار VAN (Vesicular arbascular mycorrhizea) با نهال های گردوی حاصل از کشت بافت سبب افزایش سازگاری شده است و نشان داده شده که قارچهای وزیکولار-آربوسکولار در نهال های یک ساله گردو سبب افزایش ارتفاع، قطر، تعداد برگ و کیفیت گیاهان شده است(۹). با توجه‌به توسعه کشت گردو در عرصه‌های منابع طبیعی کشور (طرح طوبی) و صرفه‌جویی در مصرف‌کودهای شیمیایی و جلوگیری از آثار زیست محیطی ناشی از کاربرد این نوع کودها استفاده ازقارچهای میکوریز که به عنوان کودهای زیستی در کشاورزی پایدار مطرح هستند، می‌تواند مفید باشد. هدف از اجرای این طرح، بررسی نقش این نوع قارچها در جذب عناصر عمدهٔ غذایی مورد نیاز گیاه به خصوص در خاکهای فقیر می‌باشد.

موارد و روش‌ها

الف- خالص‌سازی و تکثیر قارچ

کشت خالص قارچ اکتومیکوریزی از گونه سینوکوکوم-ژئوفیلوم (Cenococum geophilum) از آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکدهٔ علوم دانشگاه تهران تهیه گردید و سپس در شرایط سترون بر روی محیط کشت ام.ام.ان (M.M.N) کشت داده شد (۱).

پس از کشت قارچهای خالص در پتری و در انکوباتور در حرارت C °۲۵ قرار گرفته تا رشد کافی صورت گیرد و از آنها در بررسی‌ها استفاده شود(۱).

ب- تولید نهال گردو

بذرهای سالم و یکنواخت و هم‌اندازه گردو از یک تک درخت با باروری بالا در ناحیه سنگستان در حومه شهرستان همدان‌جمع‌آوری گردید. بذرها ۲۴ ساعت در آب خیسانده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با محلول بیست درصد هیپوکلرید سدیم ضد عفونی سطحی گردید(۳).

بعد از ضدعفونی بذرهای گردو در گلدانهای پلاستیکی به ابعاد ۱۴*۳۳ سانتیمتر محتوی ماسه بادی سترون کاشته شده و پس از انتقال به فضای آزاد هر سه روز یکبار آبیاری شدند تا بذرها رویش یافته و دانه رست‌ها ظاهر شدند.

و سپس نهال‌های سالم و یکنواخت جدا و برای بررسی در نظر گرفته شدند.

پ- کلیزاسیون نهال‌ها به قارچ‌های میکوریزی

۴۸ گلدان سفالی ۵ کیلوئی تمیز و ضدعفونی شده انتخاب و در همهٔ آنها مخلوطی از ماسه سترون پیت خزه سترون به نسبت وزنی ۱: ۱۷ ریخته شد(۱).

طرح آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی انتخاب شده که شامل ۶ تیمار و هر تیمار ۳ تکرار به شرح زیر بود:

تیمارهای اول و دوم- کلیزاسیون مصنوعی نهال های گردو به قارچ‌های اندومیکوریز:

از ریشه‌های آلوده به قارچهای اندومیکوریز در نهال‌های دو ساله گردو که از منطقه سولقان در شمال تهران جمع‌آوری شده و با استفاده از رنگ آمیزی به روش لاکتوفنل تریپان بلوآلودگی به قارچهای اندومیکوریز در آنها تأیید گردیده بود و همچنین خاک اطراف این ریشه‌ها به‌عنوان مایه تلقیحی برای آلوده‌سازی استفاده شد.

در مجاور ریشه هر نهال گردو ۲ گرم از ریشه‌های آلوده به اندومیکوریز و صد گرم خاک اطراف‌ریشه‌های آلوده قرار داده شد.

مطابق طرح آزمایش در نیمی از گلدانها به هر گلدان مقدار ۱/۶۶ گرم کود فسفات آمونیم و ۲/۲۹ گرم کود سولفات پتاسیم همراه با ماسه سترون اضافه شده بود(۱۸).

به این ترتیب دو تیمار آلوده به قارچهای اندومیکوریزی یکی بدون کود و دیگری دارای کود تهیه گردید و در هر تیمار سه تکرار وجود داشت.

تیمارهای سوم و چهارم: آلودگی مصنوعی نهالهای گردو به قارچ اکتومیکوریز

در هر گلدان یک دیسکت به قطر یک‌سانتی‌متر مربع از قارچ اکتومیکوریز از گونه سینوکوکوم ژئوفیلوم[1] که در محیط کشت امامان رشد و تکثیر یافته بود که برای انجام تلقیح این دیسک در کنار ریشه نهال‌های گردو قرار داده شد. در این مورد نیز به نیمی از گلدانها به شرح فوق و همان میزان از کودهای فوق اضافه گردید. برای برقراری توازن به هر کدام صد گرم خاک سترون از خاک منطقه سولقان به شرح ذکر شده اضافه شد. گلدانهای کود داده شده تیمار سوم و گلدانهای فاقد کود به عنوان تیمار چهارم مشخص شدند.

تیمارهای پنجم و ششم

نهالهای گردو که فاقد قارچ همزیست بودند به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند و فقط تیمار کودی به شرح فوق انجام شده که گلدانهای کود داده شده به عنوان تیمار پنجم و گلدانهای فاقد کود تیمار ششم بودند در هر یک از گلدانها نیز صدگرم خاک سترون از خاک منطقه سولقان به هر گلدان اضافه شد بعد از اعمال تیمارها گلدانها در فضای آزاد قرار داده شدند. آبیاری گلدانها در فواصل زمانی هر دو روز یک بار انجام شد و پس از دو ماه هر پانزده روز یک بار از ریشه‌های مایه‌زنی شده نمونه‌برداری و چگونگی **کلیزاسیون** در آنها بررسی شد. پس از ۸ ماه در همه نمونه‌های آلوده شده همزیستی میکوریزی گسترش یافته مشاهده شد.

لذا پس از هشت ماه نهالها از گلدانها خارج و اندام‌های هوائی و ریشه جدا و در آون در حرارت ۷۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند(۴).

سپس وزن خشک ریشه و بخش هوائی تعیین گردید. مواد گیاهی خشک آسیاب و به صورت پودر درآورده و عمل هضم نمونه‌ها توسط اسید پرکلریک ۷۰٪ و با حرارت ملایم انجام شد(۴).

برای سنجش نیتروژن و فسفر از اسپکتروفتومتر مدل یو وی-۱۶۰ ساخت شرکت سیماتزرو در طول موج ۶۲۵ و ۴۵۰ نانومتر استفاده شد (۱).

برای اندازه‌گیری فسفر از روش آمونیوم و انادات و آمونیم مولیبدات (۱) و برای سنجش نیتروژن از روش اندوفنل آبی استفاده شد(۱).

برای اندازه‌گیری پتاسیم از روش فلیم فوتومتری استفاده گردید (۱).

نتایج و بحث

میزان جذب عناصر غذایی در گیاه

فسفر

اندازه‌گیری مقدار فسفر در نمونه‌های گیاهی در جدول شماره دو ذکر شده است. تجزیه واریانس نتایج به دست آمده نشان داد که تیمارهای مختلف اثرات متفاوتی بر میزان جذب فسفر داشته‌اند که این اختلافات در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد که حروف مشابه انگلیسی در کنار میانگین‌ها نشان‌دهنده معنی دار نبودن آنهاست و نتایج آن در جدول(۱) آمده است.

جدول (۱) میانگین مقادیر فسفر و مقایسه آنان در نمونه‌های گیاهی

شماره تیمار	شرح تیمار	میزان جذب فسفر ماده خشک (mg/kg)
۱	Endo-M باضافه کود	۷۲/۷۹ A
۲	Endo-M بدون کود	۲۹/۲۱ BC
۳	Ecto-M باضافه کود	۵۴/۲۲ AB
۴	Ecto-M بدون کود	۵۰/۱۴ AB
۵	بدون میکوریز باضافه کود	۳۵/۶۲ BC
۶	بدون میکوریز بدون کود	۲۳/۴۷ C

Endo-M گیاه آلوده به قارچ اندومیکوریز

Ecto-M گیاه آلوده به قارچهای اکتومیکوریز

چنانچه مشاهده می‌شود بین گیاهان تیمار یک که در آن گیاهان آلوده به قارچهای اندومیکوریز بوده و از کود نیز استفاده شده است وتیمار پنج یعنی تیمار شاهد اختلاف معنی داری وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از قارچهای‌اندومیکوریز باعث افزایش جذب و بازدهی کودهای فسفره در نهال‌های گردو شده است.

مقایسه تیمار چهارم که در آن از قارچهای اکتومیکوریز بدون کود استفاده شده با تیمار شاهدمربوطه (تیمار۶) نیز نشان می‌دهد که قارچهای اکتومیکوریز در خاک‌های فقیر از نظر فسفر میزان‌جذب این عنصر را بالا برده و این تفاوت نسبت به شاهد معنی‌دار است. مقایسه تیمار اول و دوم نشان می‌دهد که در صورت وجود فسفر کافی در خاک، قارچهای آندومیکوریزی در جذب آن توسط گیاه نقشی ندارند. مقایسه تیمار دوم و چهارم نشان می‌دهد که قارچهای اکتومیکوریزی در جذب فسفر و در خاک فقیر در ریشه گردو مؤثرتر از قارچهای اندومیکوریزی هستند که نشان دهنده گسترش بیشتر ریشه قارچهای اکتومیکوریزی در خاک نسبت به قارچهای اندومیکوریزی می‌باشد.

بر اساس مطالعات کوتک (Kottke) در سال ۱۹۸۷ مشخص شده است که سرعت رشد و گسترش قارچ سینوکوکوم ژئوفیلوم در خاک نسبتاً سریع می‌باشد و رطوبت و تهویه مناسب باعث افزایش رشد این قارچ می‌گردد(۱۵).

استفاده از ماسه بادی که تهویه در آن بخوبی انجام می‌شود و آبیاری مناسب شرایط را برای رشد و گسترش سریع این قارچ را فراهم ساخته است.

1-Cenocoum Geophilum

مشاهده شده است که در اثر همزیستی میکوریزی مقدار فسفر گیاه افزایش می‌یابد(۸).

افزایش جذب عناصر مخصوصاً فسفر پس از کلیزاسیون میکوریزی می‌تواند ناشی از عوامل زیر باشد:

۱- افزایش سطح جذب به علت گسترش ریسه‌های قارچ.

۲- با تولید و ترشح اسیدهای آلی و برخی از آنزیم‌ها توسط قارچ همزیست برخی از ترکیبات نامحلول خاک به صورت محلول در می‌آید. از جمله غلظت کاتیونهای محلول خاک تغییر کرده با تغییر غلظت کاتیونها آنیون‌ها در خاک نیز تغییر می‌کند(۱۷).

پتاسیم

نتایج اندازه‌گیری مقدار پتاسیم در نمونه‌های گیاهی در جدول (۲) ذکر شده است. تجزیه واریانس نتایج به دست آمده نشان داد که تیمارهای مختلف اثرات متفاوتی برمیزان جذب پتاسیم نشان داده‌اند که این اختلاف در سطح پنج درصد معنی‌دار بوده است. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. حروف انگلیسی غیر مشابه در کنار میانگین‌ها نشان‌دهنده معنی دار بودن میانگین‌هاست:

جدول (۲) میانگین مقادیر پتاسیم در نمونه‌های گیاهی مورد آزمایش

شماره تیمار	شرح تیمار	میزان جذب فسفر ماده خشک گیاهی (mg/kg)
۱	Endo-M باضافه کود	۳۴۳/۷۹ AB
۲	Endo-M بدون کود	۳۹۴/۶۸ A
۳	Ecto-M باضافه کود	۴۰۰/۵۳ A
۴	Ecto-M بدون کود	۳۸۸/۴۴ A
۵	بدون میکوریز باضافه کود	۳۷۹/۸۶ AB
۶	بدون میکوریز بدون کود	۲۱۰/۲۱ B

چنانچه مشاهده می‌شود بین تیمار دوم که در آن قارچ‌های اندومیکوریز بدون کود استفاده شده و تیمار شاهد (تیمار ۶) که بدون میکوریز و بدون کود است اختلاف معنی داری وجود دارد و نشان می‌دهد که این قارچها در خاکهای فقیر از پتاسیم میزان جذب این عنصر را بالا می‌برند.

همچنین بین تیمار چهارم (دارای قارچ اکتومیکوریز و بدون کود) و تیمار ششم (تیمار شاهد بدون میکوریز و بدون کود) اختلاف معنی‌دار وجود دارد که نشان می‌دهد این نوع قارچها نیز در خاکهای فقیر از پتاسیم میزان جذب این عنصر را در نهال گردو افزایش می‌دهند.

راجووکلارک (۱۹۹۰) نشان داده‌اند که قارچهای مختلف از جنس گلوموس که از نوع قارچهای اندومیکوریز هستند میزان جذب پتاسیم را در گیاه سورگوم نسبت به شاهد افزایش داده‌اند(۱۰).

مشابه این نتیجه توسط مارکس در سال ۱۹۹۲ در گیاه کاکائو به دست آمده است(۶).

نیتروژن

نتایج حاصل از اندازه‌گیری نیتروژن در نمونه گیاهی در جدول (۳)ذکر شده است. تجزیه واریانس نتایج به دست آمده نشان داد که اثرات تیمارهای مختلف در این مورد تفاوت‌معنی‌دار نداشته‌اند.

جدول (۳) مقدار نیتروژن موجود در نمونه‌های گیاهی مورد آزمایش

شماره تیمار	شرح تیمار	میزان جذب نیتروژن (mg/kg)
۱	Endo-M باضافه کود	۱۱/۹۸ AB
۲	Endo-M بدون کود	۱۲/۲ A
۳	Ecto-M باضافه کود	۱۲ A
۴	Ecto-M بدون کود	۱۱/۸۱ A
۵	بدون میکوریز باضافه کود	۱۱/۷۹ AB
۶	بدون میکوریز بدون کود	۱۱/۷۴ B

منابع مورد استفاده

۱- خواجه‌زاده، محمد حسن (۱۳۷۵)، بررسی رابطه همزیستی میکوریزی در گیاه پسته و تاثیر آن درتحمل پسته نسبت به شوری، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده علوم دانشگاه تهران

۲- عارفی‌پور، محمد رضا (۱۳۷۷)، شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریزی چند گونه سوزنی برگ دراستان گیلان، پایان نامه کارشناسی ارشد، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی

۳- نصیری، محسن (۱۳۷۵)، تعیین روش‌های بهینه در جوانه زنی بذر گردوی ایرانی، مجله پژوهش و سازندگی، بهار ۱۳۷۵

۴- میرحسینی، علی (۱۳۷۴)، بررسی اثر میکوریزها در جذب عناصر از مواد آلی بوسیله گیاه و تحمل در برابر برخی از عوامل تنش‌زا، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دانشگاه تهران

5- Anderson,A.1988 Mycorrhizae - host specificity and recognition. Phytopathology, 78:375-378.

6- Azizah - H and K. Martin. 1992- The vesicular-arbusclar (VA) mycorrhiza and its effects on growth of vegetatively propagated Theobroma cacao, Plant and Soil, 144: 227-233.

7- Bolan , N.S. 1991 A Critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus hy plants. Plant and Soil, 134:189-207.

8- Carney J.W.G. and S.E Smith 1993 The influence of monovalent cations on efflux of phoshpate from the ectomycorrhizal basidiomycete pisolithus tinctorius./Myco/Res 97(10) : 1267-1271.

9- Calveria. E1996. Micropropagation of walnut trees (Juglans regia) and response to arbuscular mycorrhizal inoculation Agronomie, 16: 639-645.

10- Clark . R.B 1990 Effects of species of VA - mycorrhizal fungi on growth and mineral uptake of sorghum at different temperatures, Plant and Soil. 121: 185-170.

11- Fahimi, H, 1979. The nitrogen nutrition of woody plants with special refrence to the role ot mycorrhizal infection Ph.D Thesis, Sheffield England.

12- Heinonen. H. (1991) Maintenance of ectomycorrhizal fungi methods in Microbiology, 23: 413-421.

13- Tackson. R.M. and A.M. Philip (1989) - Studies in biology of mycorrhizae Edward Arhold publisher.

14- Kottke. I. 1987. An in intro method for establishing mycorrhizae on coniferous tree seedling. Trees, 1: 191-194.

15- Martin. K. 1992. The vesicular arbuscular (VA) mycorrhiza and its effects on growth of vegetatively propagated Theohrome cacao. Plant and Soil, 144:227-233.

16- Peterson. R.L. and M.T. Farquhar 1994. Mycorrhizal fungi integrated development between roots and fungi Mycologia, 86 (3):311-326.

Singh, TP. and GS Paliwal. 1989. Comparative analysis of the performance of seedlings of some forest tree species under the influence of fertilizers. - Indian-Forster, 115(10): 714-723.