بررسی وابستگی میکوریزی و عملکرد دو نوع شبدر (*Trifolium subterraneum* و *Trifolium alexandrinum*) در سطوح مختلف فسفر

عباس هانی،[1] * حبیب الله نادیان و عبدالرحمن برزگر

مربی و عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه؛ Abbas_hani@yahoo.com

استادیارگروه خاکشناسی دانشگاه شهیدچمران اهواز؛ nadianhabib@yahoo.com

دانشیار گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز؛ rbarzegar@hotmail.com

چکیده

قارچهای اندومیکوریزی آربسکولار (AM) از مهمترین همزیستهای گیاهان زراعی هستند که دارای گسترش جهانی می‌باشند. گیاهان مختلف به علت داشتن خصوصیات منحصربفرد از جمله مشخصات مرفولوژیک ریشه دارای شدت همزیستی متفاوتی با این قارچها می‌باشند به همین علت کارایی این همزیستی برای هر گیاه با دیگری متفاوت است. اهمیت این قارچها در مورد جذب عناصر غیر متحرک نظیر فسفر بارزتر می‌باشد. میزان فسفر موجود در خاک نیز با توجه به نوع گیاه دارای اثرمتفاوتی بر شدت این همزیستی می‌باشد. به منظور مقایسه تأثیرگونه گیاه و مقدار فسفر خاک بروابستگی میکوریزی شبدر، سه عامل شامل قارچ (در دو سطح، کاربرد و عدم کاربرد قارچ میکوریزی (*Glomus intraradices*))، فسفر (درسه سطح 0 ، 5 و 25 میلی گرم فسفر بر کیلوگرم خاک از منبع KH_2PO_4 وگونه شبدر(شبدر زیرزمینی (*Trifolium subterraneum*) و شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum*)) مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی در سه تکرار به منظور تعیین وابستگی میکوریزی دوگونه شبدر، درصد کلنیزاسیون ریشه، جذب فسفر، پتاسیم و بیوماس گیاهی انجام گرفت. نتایج بدست آمده نشان دادند که طول ریشه در دو گونه شبدر تفاوت داشت و در شبدر زیرزمینی طولانی تر از شبدر برسیم بود. درصد وابستگی میکوریزی و درصد کلنیزاسیون ریشه در شبدر *T.alexandrinum* بیشتر از شبدر *T.subterraneum* بود. ارتباط منفی بین افزایش میزان فسفر و درصد کلنیزاسیون ریشه و وابستگی میکوریزی مشاهده گردید بگونه‌ای که بیشترین درصد کلنیزاسیون ریشه در شبدر *T.alexandrinum* و در حالت عدم دریافت فسفر برابر 55% و کمترین درصد کلنیزاسیون ریشه در حالت دریافت 25 میلی گرم فسفر بر کیلوگرم خاک و برابر8% بود. در حضور قارچ میکوریزی و افزایش غلظت فسفر در خاک وزن خشک اندام هوایی و ریشه نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل توجه یافت ولی در غلظت های بالای فسفر (25میلی گرم بر کیلوگرم خاک) این اختلاف ناچیز بود. همچنین در تیمارهای شاهد (بدون حضور قارچ و فسفر) وزن خشک ریشه در شبدر *T.subterraneum* بیشتر از شبدر *T.alexandrinum* بود. ارتباط معنی‌داری بین میزان پتاسیم در گیاه ومیزان فسفر مصرفی و کلنیزاسیون قارچ میکوریزی مشاهده گردید.

واژه های کلیدی: کلنیزاسیون ریشه، فسفر، وابستگی میکوریزی، شبدر زیرزمینی *T.subterraneum*، شبدربرسیم *T.alexandrinum*، *Glomus intraradices*.

مقدمه

ریزوسفر زیستگاه مناسبی برای فعالیت بسیاری از میکروارگانیسمهای مفید خاکزی می‌باشد. در این بین قارچهای میکوریزی از اهمیت خاصی

۱- نویسنده مسئول، آدرس: ساوه، میدان فلسطین – دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه - صندوق پستی 366 / 39187

* دریافت: 84/10/19 و پذیرش: 86/6/4

برخوردار هستند. نادیان (1380)گزارش کرد همزیستی این قارچها با بسیاری از گیاهان زراعی نه تنها باعث بهبود تغذیه گیاه میزبان می‌شود. بلکه اثرات سوء ناشی از تنشهای محیطی نظیر شوری، خشکی، تراکم خاک وبیماری را در گیاه میزبان کاهش می‌دهد.

میکوریز همزیستی ایجاد شده بین ریشه گیاه با یک قارچ می‌باشد و اکثر گیاهان آوندی در این همزیستی شرکت می‌کنند. از مهمترین انواع قارچهای میکوریزی نوع اندومیکوریزی آربسکولار (AM) می‌باشد. صالح راستین (1377)گزارش کرد از فواید این همزیستی برای گیاه می‌توان به افزایش جذب عناصر غذایی، حفاظت در برابر عوامل بیماریزا، افزایش مقاومت در برابر شرایط نامساعد محیطی، دسترسی آسان به شکلهای آلی عناصر غذایی و از مهمترین فواید آن برای قارچ، زیستگاهی عاری از رقابت و عرضه مداوم کربن فتوسنتزی را می‌توان نام برد.

مهمترین تأثیر قارچهای میکوریزی افزایش جذب عناصر غذایی می‌باشد. این افزایش عمدتاً بدلیل انتشار ریسه‌های قارچی مرتبط با بافتهای درونی ریشه، در فضای پیرامون ریشه و تشکیل یک سیستم جذبی مکمل برای سیستم ریشه گیاه می‌باشد، بدین صورت دسترسی به حجم بیشتری از خاک را که ریشه‌های تغذیه کننده به آن دسترسی ندارند ممکن می‌سازد. Sieverding (1991) گزارش کرد بهمین دلیل تأثیر همزیستی میکوریزی در جذب عناصر کم تحرک مانند فسفر که جریان آن به سمت ریشه با مکانیسم پخش و به کندی انجام می‌شود اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. قارچهای میکوریز آربسکولار دارای مکانیسمهای متعدد در جذب فسفر می‌باشند از جمله اینکه ریسه خارجی با تولید CO_2 (تنفس) و ترشح اسیدهای آلی سبب انحلال فرمهای معدنی این عنصر شده و گسترش ریسه‌های خارجی در توده خاک بیش از مقدار خاکی است که ریشه گیاهان به تنهایی به آن دسترسی دارند، صالح راستین (1377)گزارش کرد در غلظتهای پائین فسفر، ریسه‌های خارجی بعلت سطح ویژه بالا، قادرند فسفر بیشتری را نسبت به ریشه جذب نمایند، بگونه ای که این قارچها را کودهای بیولوژیک فسفره می‌دانند. مستاجران،(1378) گزارش کرد شدت تأثیراین قارچ ها در جذب عناصر غذایی و رشد گیاه میزبان، تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد. علاوه بر آن گیاهان میزبان نیز در این ارتباط تأثیر قابل توجهی دارند. Abbott and Robson (1991)گزارش کردند اگرچه قارچهای میکوریز آربسکولار اغلب گیاهان میزبان را آلوده می‌کنند، اما برای هرگونه از این قارچ ها گونه های خاصی از گیاهان وانواعی از خاکها از نظر pH و حاصلخیزی خاک مناسبترند.

Koid (1991)گزارش کرد کارایی بالای قارچهای اندومیکوریز در جذب فسفر در خاکهایی که میزان فسفرقابل جذب آنها برای رشد گیاه کافی نیست به اثبات رسیده ولی سطوح خیلی کم و یا زیاد فسفر ممکن است درصد کلنیزاسیون قارچهای میکوریزی را کاهش دهد.

Abbott and Robson (1991) گزارش کردند غلظت فسفر در گیاه عامل اصلی کنترل کننده همزیستی میکوریزی است زیرا با افزایش غلظت فسفر در گیاه میزان فسفولیپیدها در غشای سلولی ریشه زیاد شده و ترشحات ریشه کاهش می‌یابد که این امر منجر به کاهش کلنیزاسیون ریشه می‌گردد.

Gianinazzi -Pearson و همکاران (1984) گزارش کردند وابستگی میکوریزی خصوصیتی از گیاه است که نشان دهنده میزان حساسیت گیاه برای ایجاد رابطه همزیستی میکوریزی می‌باشد. وابستگی میکوریزی از طریق اندازه‌گیری افزایش رشد گیاه در نتیجه بر قراری رابطه همزیستی میکوریزی و همچنین با اندازه گیری مقدار عناصر غذایی جذب شده در گیاه کلنیزه شده در مقایسه با شاهد غیر میکوریزایی تعیین می‌گردد. Brundett and Kendrick (1988) گزارش کرد عوامل متعددی بر شدت وابستگی میکوریزی گیاه موثر می‌باشندکه از مهمترین آنها می‌توان به نوع گیاه میزبان، مرفولوژی ریشه گیاه میزبان، گونه قارچ میکوریز آربسکولار و شرایط خاک (pH و عناصر غذایی و...) اشاره نمود.

Baylis (1975) گزارش کردگیاهانی که دارای سیستم ریشه‌ای ضعیف با ریشه‌های موئین بسیار کم می‌باشند وابستگی میکوریزی بیشتری نسبت به گیاهان با سیستم ریشه‌ای انبوه دارند. Fitter (1989) در مطالعه‌ای که روی جامعه گیاهی انگلیس انجام داد، گزارش کرد اگرچه گیاهان با سیستم ریشه‌ای ضعیف وابستگی میکوریزی بالایی دارند ولی بعضی ازگیاهان با سیستم ریشه‌ای انبوه نیز از وابستگی میکوریزی قابل توجهی برخوردار هستند. Brundett and Kendrick (1988) گزارش کردند بنظر می‌رسد گیاهان میکوریزی باریشه های موئین ریز و طولانی، دارای فعالیت بیشتری در جذب عناصرغذایی می‌باشند. داشتن سطح ویژه بالا در سیستم ریشه‌ای، افزایش انشعابات ریشه های اصلی و افزایش متوالی انشعابات ریشه های ریز باعث کاهش وابستگی میکوریزی در گیاه می‌گردد.

علاوه بر سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان، عوامل دیگری از جمله شرایط خاک و میزان عناصر غذایی در خاک در میزان وابستگی میکوریزی یک گیاه دخالت دارند و گیاهان مختلف با توجه به خصوصیات محیطی و

مرفولوژیک مشخص دارای روابط متفاوتی با قارچهای میکوریز آربسکولار می‌باشند.

با توجه به مطالب فوق و اینکه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص وابستگی میکوریزی انواع شبدر با مشخصات مرفولوژیک مختلف ریشه صورت نگرفته است، لذا این تحقیق با هدف مقایسه وابستگی میکوریزی دو شبدر برسیم (*T.alexandrinum* با سیستم ریشه‌ای ضعیف و کم انشعاب) و شدر زیررمینی (*T.subterraneum* با سیستم ریشه‌ای انبوه) در همزیستی با قارچ میکوریزی *Glomus intraradices* تحت تأثیرسطوح مختلف فسفر خاک انجام شده است.

مواد وروشها

این تحقیق در مجتمع آموزشی ملاثانی اهواز انجام گرفت. خاک استفاده شده در آزمایش از مزارع نیشکر واقع در غرب شهر اهواز تهیه گردید که بعلت دارا بودن EC پایین (4/2 دسی زیمنس برمتر) و فسفر حداقل (3/6 میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک) با توجه به اهداف تحقیق، مناسب بود. نمونه خاک مورد نظر از عمق 30- 0 سانتیمتری برداشته شد و پس از انتقال به آزمایشگاه با الک 2 میلیمتری سرندگردید. تجزیه های شیمیایی و فیزیکی بر روی خاک مورد نظر انجام گرفت (جداول1و2). اندازه گیری کلسیم و منیزیم به روش تیتراسیون با محلول ورسین Heald (1965)، مواد آلی خاک به روش سرد، پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر، فسفر با روش رنگ سنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بروش Olsen and Sommers (1982) انجام گرفت.

به منظور حذف قارچهای بومی خاک، بستر کشت درون اتوکلاو در دمای 80 درجه سانتیگراد در دو روز متوالی به مدت 1ساعت قرار داده شد. از این خاک به مقدار 2/7 کیلوگرم توزین گردید و به گلدانهای 3 کیلوگرمی انتقال داده شد. آزمایش دارای سه تیمار فسفری بود که از منبع KH_2PO_4 به مقدار لازم توزین و به نسبت های 0، 5 و 25 میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک تهیه گردید. انتخاب سطوح فوق به منظور بررسی تأثیرسطوح حداقل، معمول در اکثر مزارع و حداکثر فسفر موجود در خاک بر وابستگی میکوریزایی بود. به منظور ضدعفونی سطحی بذور دو نوع شبدر استفاده شده در آزمایش، شبدر *T.subterraneum* و شبدر*T.alexandrinum*، بذور شبدرهای مورد نظر، به مدت 5 دقیقه درون H_2O_2، 5 درصد قرار داده شدند و پس از شستشو با آب استریل برای جوانه زدن، به مدت 48ساعت درون انکوباتوردر دمای 30 درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

به منظور مایه زنی بذور جوانه دار از مایه تلقیح قارچ *Glomus intraradices* که به صورت ریشه‌های شبدر کلنیزه شده با قارچ میکوریزی به همراه خاک محیط ریشه ها که حاوی اسپور (حدود500 عدد در هر گرم خاک) قارچ بود استفاده گردید Nadian (1996). از مایه تلقیح مورد نظر ابتدا 20گرم در عمق کاشت ریشه ها (قبل از پر کردن کامل گلدان) اضافه گردید و بعد از پر کردن گلدان نیز 8 گرم از مایه تلقیح به پای 5 بذر جوانه زده شده درون گلدان اضافه گردید. در طول دوره رشد در شرایط گلخانه رطوبت هر گلدان با افزودن آب مقطر در حد ظرفیت مزرعه حفظ گردید. دمای محیط رشد گیاهان در 32- 25 درجه سانتیگراد حفظ گردید. سطوح روشنایی حدود70% نور خورشید با لامپ های 1000وات نگه داشته شد. بمنظور تأمین ازت مورد نیاز گیاهان، بذرها هنگام کاشت با مایه تلقیح پودری ریزوبیوم (*Rhizobium leguminosarum*.bv.*trifolii*) تلقیح گردیدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی انجام گردید.

بخش های هوایی گیاهان60 روز بعد ازکاشت از سطح خاک قطع گردیدند. به منظور جداسازی ریشه ها، خاک گلدانها بر روی صفحات غشایی نازک قرار داده شدند سپس به آرامی با آب مقطر شسته شدند و کل ریشه های تازه توزین گردید. به منظور تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه، از ریشه‌های تازه بطور تصادفی به اندازه یک گرم برداشت گردید. شستشوی ریشه ها به مدت 48 ساعت با محلول10% KOH سرد انجام گرفت. سپس ریشه ها با تریپن بلو Philips and Hayman (1970) رنگ‌آمیزی و در داخل گلیسیرین ذخیره گردیدند. وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاهان بعداز قراردادن نمونه‌ها درآون در دمای 70 درجه سانتیگراد به مدت 72 ساعت اندازه‌گیری گردید.

کل طول ریشه و درصد کلنیزاسیون ریشه با روش تقاطع خطوط شبکه[1] اندازه گیری شد Giovanneti and Mosse (1980). داده‌های بدست آمده تجزیه واریانس گردیدند و مقایسه میانگین‌ها باآزمون دانکن انجام گرفت. وابستگی میکوریزی برای هر دو گونه شبدر با استفاده از فرمول زیر بطور جداگانه محاسبه شد.

نتایج

نتایج حاصل از اثر سطوح فسفر و کلنیزاسیون ریشه با قارچ میکوریزی بر شاخصهای اندازه‌گیری شده در دو گونه شبدر بشرح زیر بود:

1 - Gridline intersect method

۱- ارتفاع گیاه

تجزیه واریانس داده ها نشان دادکه تأثیرعاملهای گونه شبدر، قارچ میکوریزی، فسفر و اثرات متقابل آنها بر ارتفاع شبدر در سطح 1 درصد معنی‌دار بود (جدول3). در تمام تیمارها (در سطوح مختلف فسفر و حضور و یا عدم حضور قارچ میکوریزی) ارتفاع شبدر *T.alexandrinum* بیشتر از شبدر*T.subterraneum* بود. حداکثر ارتفاع در شبدر*T.alexandrinum*، 52 سانتیمتر در تیمار $P_{25}AM+$ (شبدر *T.alexandrinum* با حضورقارچ میکوریزی و غلظت 25 میلی گرم فسفر بر کیلوگرم خاک) و حداقل ارتفاع 5 سانتیمتر در تیمار-P_0SM (شبدر *T.subterraneum*، بدون حضور قارچ میکوریزی و بدون دریافت فسفر) در هفته هشتم رشد بود.

2- طول ریشه

نتایج نشان داد که در نمونه شاهد (بدون دریافت فسفر و قارچ میکوریزی) میانگین کل طول ریشه در شبدر *T.subterraneum* برابر2300 سانتیمتر در هر گلدان و در شبدر *T.alexandrinum* 1000 سانتیمتر در هر گلدان بود (شکل1).

تجزیه واریانس داده ها نشان دادکه تأثیر عاملهای گونه شبدر، قارچ میکوریزی، فسفر و اثرات متقابل آنها بر طول ریشه کاملاً معنی‌دار بود (جدول3). همچنین مشخص گردید که در هر دو تیمار میکوریزی و شاهد در شبدر *T.alexandrinum* تأثیر میزان فسفر بر طول ریشه معنی‌دار بود، حال آنکه در شبدر *T.subterraneum* این تأثیر معنی‌دار نگردید. با حضور قارچ میکوریزی و با افزایش میزان فسفر در خاک کل طول ریشه افزایش یافت بگونه‌ای که در غلظت 25 میلی گرم فسفر بر کیلوگرم خاک و حضور قارچ میکوریزی بیشترین طول ریشه مشاهده گردید. حضور قارچ میکوریزی در هر دوگونه شبدر بطور معنی‌داری باعث افزایش طول ریشه در تمام سطوح فسفر گردید (شکل1).

3- وزن خشک اندام هوایی

تجزیه واریانس داده ها نشان دادکه تأثیر عاملهای گونه شبدر، قارچ میکوریزی، فسفر و اثرات متقابل آنها بر بخش هوایی گیاه در سطح 1% و اثر متقابل فسفر × قارچ میکوریزی × گونه شبدر در سطح 5% معنی‌دار می‌باشد (جدول3).

مقایسه میانگین ها نشان داد که وزن خشک بخش هوایی گیاه در دو گونه شبدر دارای اختلاف معنی‌دار می باشد و در تمام سطوح فسفر در حضور قارچهای میکوریز وزن خشک بخش هوایی شبدر *T.alexandrinum* بیشتر از شبدر*T.subterraneum* بود در حالیکه در تیمار شاهد این تأثیر معنی‌دار نگردید (شکل2).

4- وزن خشک ریشه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که عوامل فسفر، گونه شبدر و قارچ میکوریزی بر وزن خشک ریشه تأثیر معنی‌دار دارند (جدول3). مقایسه میانگین ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در وزن خشک ریشه دو گیاه در کمترین مقدار فسفر خاک وجود داشت و وزن خشک ریشه در شبدر*T.subterraneum* بیشتر از شبدر *T.alexandrinum* بود ولی در سطوح بالا این تفاوت معنی‌دار نگردید.

همچنین مشخص شد تیمار $P_{25}M+$ در شبدر *T.subterraneum* دارای بیشترین وزن خشک ریشه بوده است. حضور قارچ میکوریزی در سطوح پائین فسفر (صفر و5 میلی گرم فسفر افزوده شده در کیلوگرم خاک) تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه در شبدر*T.alexandrinum* داشت ولی در نسبت های 25 میلی گرم فسفر افزوده شده در کیلوگرم خاک این تأثیر معنی‌دار نگردید (شکل3).

5- درصد کلنیزاسیون ریشه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تأثیر عاملهای گونه شبدر، قارچ میکوریزی، فسفر و اثرات متقابل آنها بر درصد کلنیزاسیون ریشه در سطح 1% معنی‌دار گردید (جدول3). مقایسه میانگین ها نشان داد که درصد کلنیزاسیون ریشه در شبدر*T.alexandrinum* دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به شبدر *T.subterraneum* بود و بجز در سطوح بالای فسفر خاک، درصد کلنیزاسیون ریشه در شبدر *T.alexandrinum* بیشتر بود. همچنین در غلظت 25 میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک درصد کلنیزاسیون ریشه نسبت به عدم مصرف فسفر 75% کاهش داشت بطوریکه در تیمار P_0M+ (حضور قارچ میکوریزی و عدم دریافت فسفر) بیشترین درصد کلنیزاسیون مشاهده گردید. بیشترین درصد کلنیزاسیون ریشه در شبدر *T.alexandrinum* در کمترین سطح فسفر خاک برابر 55% و کمترین مقدار آن برای همان گونه در سطح فسفر 25 میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک برابر 8% تعیین گردید (شکل4).

6- شدت وابستگی میکوریزی[1]

با توجه به اینکه شدت وابستگی میکوریزی گیاه یکی از مشخصه های مربوط به هر گیاه می‌باشد لذا گیاهان دارای پاسخهای متفاوت نسبت به قارچ همزیست می‌باشند و همچنین شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک بر شدت

1- Mycorrhizal dependency

وابستگی میکوریزی تأثیرگذار می‌باشند. شدت وابستگی میکوریزی در شبدر *T.alexandrinum* اختلاف کاملاً معنی‌داری را نسبت به شبدر*T.subterraneum* نشان داد. با در نظر گرفتن اثرات کلی فسفر، شدت وابستگی میکوریزی در شبدر*T.subterraneum* اندک می‌باشد. از طرف دیگر با افزایش میزان فسفر مصرفی درصد وابستگی میکوریزی در هر دو گیاه کاهش می‌یابد که در شبدر *T.alexandrinum* به علت بالا بودن شدت وابستگی میکوریزی این کاهش معنی‌دار می‌باشد.

حداکثر درصد وابستگی میکوریزی در شبدر *T.alexandrinum* بدون دریافت فسفر (P_0a) و حداقل درصد وابستگی میکوریزی در شبدر *T.subterraneum* با دریافت 25 میلی گرم فسفر بر کیلوگرم خاک ($P_{25}s$) مشاهده گردید (شکل7).

7- فسفر گیاه (بخش هوایی و ریشه)

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تأثیرعاملهای گونه شبدر، قارچ میکوریزی، فسفر و اثرات متقابل آنها بر میزان فسفر گیاه (بخش هوایی و ریشه) در سطح1% و اثر متقابل قارچ میکوریزی × فسفر × گونه گیاه در سطح 5% معنی‌دار گردید (جدول3). نتایج نشان دهنده اینست که میزان فسفر در بخش هوایی و ریشه گیاه در دو نوع شبدر متفاوت بوده و در شبدر *T.subterraneum* میزان فسفر در بخش هوایی و ریشه در تمام سطوح فسفر خاک بیشتر از شبدر*T.alexandrinum* می‌باشد و همچنین میزان فسفر در بخش هوایی و ریشه در غلظت‌های بالای فسفر خاک زیادتر می‌باشد.

صرفنظر از میزان فسفر مصرفی کلنیزاسیون ریشه تأثیر کاملاً معنی‌داری بر میزان جذب فسفر داشته است بگونه ای که در گیاهان بدون قارچ میکوریزی میزان فسفر بخش هوایی و ریشه آنها کمتر می‌باشد. در حالت کلی میزان فسفر جذب شده در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزی در هر سه سطح فسفر بیشتر از میزان فسفر جذب شده در تیمارهای غیر میکوریزی بود. مقدار فسفر بخش هوایی و ریشه با افزایش مقدار فسفر مصرفی در تیمارهای میکوریزایی و غیر میکوریزایی شبدر *T.subterraneum* معنی‌دار گردید در حالیکه در شبدر *T.alexandrinum* در سطوح بالای فسفر خاک معنی‌دار نگردید (شکل5).

8- پتاسیم گیاه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مقدار جذب پتاسیم در کل گیاه از نظر آماری تحت تأثیر عاملهای گونه شبدر، قارچ میکوریزی و فسفر و اثرات متقابل آنها قرار گرفت ولی اثر متقابل گونه شبدر × فسفر بر میزان پتاسیم گیاه معنی‌دار نگردید (جدول3). مقایسه میانگین ها نشان داد که پتاسیم کل گیاه در دو گونه شبدر در سطوح مشابه فسفر خاک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. همچنین مشخص گردید که با افزایش مقدار فسفر مصرفی جذب پتاسیم در بخش هوایی و ریشه گیاه در هر دو شبدر نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار یافت (شکل6).

بحث

توانایی قارچ میکوریز *Glomus intraradices* در افزایش طول ریشه در دو گونه شبدر احتمالاً به علت افزایش رشد گیاهان و ناشی از افزایش سرعت جذب عناصر غذایی از جمله فسفر توسط قارچ می باشد در سطوح پائین فسفر (0 و5) طول ریشه هر دو گونه شبدر در حضور قارچ میکوریزی رشد نسبی بیشتری (نسبت به سطح25) داشته اند. Brundett & Kenderick (1988)گزارش کردند وابستگی میکوریزی کمتر در شبدر*T.subterraneum* نسبت به *T.alexandrinum* به دلیل سیستم ریشه ای طویل تر و با انشعابات فراوانتر و علاوه بر آن احتمالاً به علت سرعت رشد بالاتر و مشخصات ساختمانی محافظتی کمتر ریشه و همچنین ترشحات زیادتر ریشه می باشد که باعث می شود شبدر*T.alexandrinum* نسبت به آن(*T.subterraneum*) وابستگی بیشتری به همزیستی میکوریزی داشته باشد.

درصد کلنیزاسیون ریشه در شبدر *T.alexandrinum* بیشتر از شبدر*T.subterraneum* بود و کلنیزاسیون ریشه بطور کامل تحت تأثیرتلقیح گیاه با قارچ میکوریزی قرار گرفته بود که این ارتباط بیشتر با قارچ میکوریزی نیز می تواند ناشی از خصوصیات مرفولوژیک ریشه شبدر *T.alexandrinum* باشد، زیرا درصد کلنیزاسیون ریشه به نوع گیاه بستگی دارد Jasper و همکاران (1979) Menge و همکاران (1978). میزان رشد شبدر *T.alexandrinum* میکوریزی بسیار بیشتر از شبدر*T.subterraneum* بود که نشان می‌دهد شبدر*T.alexandrinum* به علت سیستم ریشه‌ای ضعیف‌تر (نازکتر وکوتاهتر) در مقایسه با شبدر *T.subterraneum* وابستگی بیشتری به برقراری ارتباط همزیستی با قارچ میکوریزی *Glomus intraradices* دارد. در واقع حضور ریسه‌های خارجی این قارچ به عنوان ادامه سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان باعث شده تا ریشه‌های میکوریزی شده جذب آب و عناصر غذایی بیشتری نسبت به ریشه‌های میکوریزی نشده داشته باشند. این نتایج تأییدی بر نتایج قبلی گزارش شده می‌باشد St John (1980). افزایش فسفر باعث کاهش شدت وابستگی میکوریزی در هر دو نوع شبدر گردید.

Plenchett & Morel (1996) گزارش کردند وابستگی میکوریزی درگیاهانی که در خاکهای فقیر ازنظر فسفر قابل جذب رشد می‌کنند بیشتر می‌باشد. Tawaraya و همکاران (2001) گزارش کردند با افزایش غلظت فسفر وابستگی میکوریزی کاهش می‌یابد که با نتایج حاصل از این تحقیق در مورد شبدر *T.alexandrinum* مطابقت دارد. ولی در شبدر *T.subterraneum* با افزایش غلظت فسفر در خاک وابستگی میکوریزی کاهش معنی‌داری نداشت زیرا اگرچه وابستگی میکوریزی نتیجه‌ای از خصوصیات مرفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان می‌باشد که بوسیله غلظت عناصر غذایی در دسترس خاک تحت تأثیر قرار می‌گیرد Khalil و همکاران (1994). ولی داشتن سیستم ریشه ای وسیعتر و فعالتر موجب می شود که گیاه حتی در غلظتهای پائین عناصر غذایی وابستگی کمتری به همزیستی میکوریزی نشان دهد.

میزان جذب فسفر در بخش هوایی گیاه با افزایش غلظت فسفر در خاک افزایش یافت که مطابق با نتایج سایر محققین Wood (1991) و Koid (1992) بود. بالا بودن میزان جذب فسفر در تمام سطوح غلظت فسفر خاک در شبدر*T.subterraneum* نشان دهنده توانایی بالای ریشه های آن در جذب و انتقال فسفر و مرتبط با خصوصیات مرفولوژیک ریشه گیاه می باشد. حضور قارچ میکوریزی باعث افزایش غلظت فسفر گیاه در سطوح پائین فسفر خاک گردیده است که نشان دهنده فعالیت بالای این قارچ در سطوح پائین فسفر Schwab و همکاران (1991) می باشد. با افزایش غلظت فسفر خاک، نقش قارچ میکوریزی در جذب این عنصرکاهش می یابد که این امر دلیلی بر تأثیر خصوصیات شیمیایی خاک بر همزیستی میکوریزی می باشد.

$$\text{درصد وابستگی میکوریزی} = \frac{\text{وزن ماده خشک گیاه غیر میکوریزی (شاهد)} - \text{وزن ماده خشک گیاه میکوریزی شده}}{\text{وزن ماده خشک گیاه غیر میکوریزی (شاهد)}} \times 100$$

جدول1- نتایج تجزیه های شیمیایی خاک

نیتروژن (%)	کلسیم قابل جذب Ca ($mg\ kg^{-1}$)	هدایت الکتریکی EC (dSm^{-1})	فسفرقابل جذب P(available) ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب K(available) ($mg\ kg^{-1}$)	واکنش خمیر اشباع pH of paste	سدیم تبادلی ($mg\ kg^{-1}$)	کربن آلی o.c (%)	TNV (%)
0.62	400	4.25	3.6	320	7.34	540	0.8	28

جدول2- نتایج تجزیه های فیزیکی خاک

رس Clay (%)	لای Silt (%)	شن Sand (%)	بافت Texture	حجم مخصوص ظاهری	درصدرطوبت وزنی نقطه پژمردگی دائم	درصد وزنی ظرفیت مزرعه	درصد اشباع
21.48	40	38.5	Loam	1.26	6.95	16.8	37.2

جدول3- تجزیه واریانس صفات، میانگین مربعاتMS

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع گیاه	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	طول کل ریشه‌ی	درصد کلنیزاسیون	فسفر در بخش هوایی	فسفر ریشه	پتاسیم بخش هوایی	پتاسیم ریشه
تکرار	2	3. 396 n.s	0. 039 n.s	0. 000 n.s	0. 946 n.s	0. 442 n.s	0. 039 n.s	0. 098 n.s	0. 333 n.s	0. 028 n.s
گونه شبدر(A)	1	3700. 694**	2. 156**	0. 024**	1298. 401**	479. 391**	4. 242**	5. 625**	140. 028**	34. 028**
قارچ میکوریزا(B)	1	821.778**	8. 439**	0. 271**	3568. 071**	7024. 396**	3. 590**	4. 715**	117. 361**	367. 361**
اثرات متقابل(AB)	1	513.778**	3. 874**	0. 017**	112. 360**	479. 391**	0. 185**	5. 730**	17. 361**	20. 250**
سطوح فسفر(C)	2	338. 271**	1. 324**	0. 081**	867. 151**	605. 096**	4. 888**	2. 921**	212. 250**	279. 867**
اثرات متقابلAC	2	289. 882**	0. 676**	0. 057**	144. 358**	228. 682**	0. 429**	0. 442**	0.194 n.s	31. 028 n.s
اثرات متقابل BC	2	53. 424**	0. 303**	0. 004**	81. 574**	605. 096**	1. 389**	0. 731**	43. 361**	89. 361**
اثرات متقابل ABC	2	51. 09**	0. 248*	0. 005**	20. 307**	228. 682**	0. 149*	0. 380*	5. 861**	13. 083**
اشتباه	22	2. 199	0. 058	0. 000	1. 025	2. 816	0. 031	0. 063	0. 273	0. 361

ns، * و ** : بترتیب نشانه معنی‌دارنبودن و معنی‌دار بودن در سطح احتمال 5% و 1%

فهرست منابع:

1. صالح راستین، ناهید، 1377، کودهای بیولوژیک، مجله آب و خاک، جلد12، شماره3،ص1 الی26.
2. مستأجران، اکبر و ضوئی، فرزانه، 1378، همزیستی میکوریزا. انتشارات دانشگاه اصفهان،245 صفحه.
3. نادیان، حبیب الله،1380، بررسی سرعت جذب فسفر در شبدربرسیم(*Trifolium alexandrinum* L.) تلقیح شده توسط سه گونه‌ی قارچ میکوریزی وزیکولار-آربسکولار. هفتمین کنگره‌ی علوم خاک، دانشگاه شهر کرد، ص15.
4. Abbott, L.K., and A.D. Robson. 1991. Field management of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Beltsville Symposia in Agriculture Research*. PP: 355-362. Maryland. USA.
5. Azcon, R., and J.A. Ocampo. 1981. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars.*New Phytologist*. 87:677-685.
6. Baylis G.T.S. 1975. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: Sanders FE, Mosse, B. and P.B. Tinker. (Eds.) Endomycorrhizas. Academic Press. New York. pp. 373-389.
7. Brundett, M.C. and. W.B. Kendrick. 1988. The mycorrhizal status, root anatomy, phenology of plant in a sugarmaple forest. *Canadian Journal of Botany*. 66:1153-1173.
8. Fitter, A. H.1989. An ecological flora. *Bulletin of the British Ecological Society*. 20:199-200
9. Gianinazzi-pearson, V. D.P.S. Verma and T.H. John. 1984. Host- fungus specificity in mycorrhiza. In: Verma, D. P. S. and T. H. Hohn. (Eds.), Genes Involved in Plant-Microb Interactions. *Springer Vienna*. PP: 225-253.
10. Giovanetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84:489-500.
11. Heald, W. R. 1965. Calcium and Magnesium. In: Methods of soil analysis. part2. Agronomy 9. PP: 999-1010.*American Society of Agronomy*. Inc. Madison. WI.
12. Jasper, D.A.and A.D. Robson and Abbott. L.K.1979. Phosphorus and formation of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Soil Biology and Biochemistry*. 11: 501-505.

13. Khalil, S., and T.E. Loynachan. and Tabatabai, M.A.1994. Mycorrhiza dependency and nutrient uptake by improved and unimproved corn and soyben cultivars.*Agronomy Journal*. 86: 949-958.
14. Koid, R.T.1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response of mycorrhiza infection. *New Phytologist*. 117:365-386.
15. Menge, J.A., D. Steirle. D.J Bagyaraja. E.L.V. Johnson. and Leonard. R.T. 1978. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibitation of mycorrhizal infection. *New Phytologist*. 80:575-578.
16. Nadian, H. smith. S.E. Alston. A.M. and Murray. R.S.1996. Effect of soil compaction on growth and P uptake by *Trifolium subterraneum*: interaction with mycorrhizal colonization. *Plant and Soil*. 182, 39-49.
17. Olsen, S. R. and Sommers. L.E. 1982. Phosphorus.In: Page. A.L(Ed). Methods of Soil Analysis. Part2. Chemical and Microbiological properties. *Soil Science Society of America*. Madison. PP: 403-430.
18. Philips, J. M. and Hayman. D. S. 1970. Improved procedure for clearing roots and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55:158-160.
19. Plenchette, C. Morel. C. 1996. External phosphorus requirement of mycorrhizal and non-mycorrhizal barley and soybean plant. *Biology and Fertility of Soils*. 21: 303-308.
20. Sieverding, E. 1991. Vesicular arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystem. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany. Eschborn 370p.
21. Schwab, S.M., Menge. J.A. and Leonard. R.T.1991. Regulation of nutrient transfer between host fungus in vesicular arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*. 117:307-308.
22. St John T. V.1980. Root size, root hairs and mycorrhizal infection: a rehypothesis with tropical trees. *New Phytologist*. 84: 483 - 487
23. Tawaraya, K. Tokairina. K. Wagatsuma. T. 2001. Dependence of Allium fistulosum cultivars on the arbuscular mycorrhizal fungus. Glomus fasciculatum. *Applied Soil Ecology*. 17:119-124.
24. Wood, T.1992.Vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi: challenges for commercialization.In: *Handbook of Applied Mycology, Biotechnology*. Arora, D. K. Mukerji. K. G. and Elander. R. P. (Eds.). Marcel Dekker. New York. vol. 4. pp: 823–847.