رابطهٔ همزیستی میکوریزی با عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم و آنزیم‌های خاک ریزوسفر شن (*Lonicera nummulariifolia*) در رویشگاه چهارطاق اردل

محمد متینی‌زاده [۱*]، مصطفی خوشنویس [۲]، نگین آرمند [۳]، طاهره علی‌زاده [۴] و فرشته شمس‌آبادی [۵]

[۱] دانشیار پژوهش مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران
[۲] مربی پژوهش مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران
[۳] کارشناس ارشد جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران
[۴] کارشناس ارشد جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکدهٔ منابع طبیعی صومعه‌سرا، دانشگاه گیلان
[۵] کارشناس ارشد علوم گیاهی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه خوارزمی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۰۴)

چکیده

قارچ‌های میکوریزی از اجزای حیاتی سیستم‌های پایدار خاک و گیاه‌اند و یکی از راهبردهای مناسب برای جنگلکاری و نهالکاری پایدار محسوب می‌شوند. تحقیق حاضر با هدف بررسی وضعیت همزیستی میکوریزی، فعالیت آنزیم‌های اسید و آلکالین فسفاتاز و عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم ریزوسفر گونهٔ شن (*Lonicera nummulariifolia*) در رویشگاه چهارطاق اردل واقع در استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت. بدین منظور از ریشه‌های پنج پایه از شن و خاک اطراف آنها در دو فصل بهار و پاییز نمونه‌برداری شد. نتایج نشان داد که شن یک گیاه میکوریزی است. درصد کلنیزاسیون میکوریزی در بهار ۹۰/۲ و در پاییز ۸۰/۶ بود. همچنین فعالیت آنزیم‌های اسید و آلکالین فسفاتاز به‌ترتیب در بهار ۲۴۰/۵۹ و ۳۹۲/۸۵ و در پاییز ۱۴۶/۴۸ و ۲۹۵ میکروگرم پارانیترو فنیل فسفات در گرم خاک بود. تمامی عناصر اندازه‌گیری‌شده در بهار مقادیر بیشتری نسبت به پاییز داشتند. ضریب همبستگی معنی‌داری بین فسفاتازهای خاک با نیتروژن کل و مادهٔ آلی در بهار و آلکالین فسفاتاز و نیتروژن کل در پاییز وجود داشت. بالا بودن کلنیزاسیون میکوریز آربسکولار و فعالیت اسید فسفاتاز در بهار می‌تواند به‌دلیل شرایط مطلوب خاک و رشد ریشه‌های مویین گیاه در اوایل فصل رویشی باشد. با توجه به منشأ میکروبی فسفاتاز قلیایی، افزایش این آنزیم در بهار شاخصی برای افزایش کمی و کیفی میکروارگانیسم‌ها، افزایش معدنی شدن مواد آلی و ازدیاد مواد غذایی است. در مجموع، درصد چشمگیر کلنیزاسیون ریشه در شن، وابستگی این گونه را به همزیستی میکوریزایی نشان می‌دهد، بنابراین تأثیر این قارچ‌ها در نهالکاری با این گونه به‌خصوص در رویشگاه‌های تخریب‌یافته بسیار حیاتی است.

واژه‌های کلیدی: آربسکولار، تغییرات فصلی، فسفاتازها، کلنیزاسیون.

* نویسندهٔ مسئول شماره تماس: ۰۹۱۲۴۰۷۲۵۳۰ ایمیل:matini@rifr-ac.ir

مقدمه و هدف

زیست‌بوم جنگل‌های زاگرس با وسعت تقریبی پنج میلیون هکتار از گسترده‌ترین مناطق جنگلی ایران است که بیش از ۱۹۰ گونهٔ درختی و درختچه‌ای در آن وجود دارد. شن با نام علمی *Lonicera nummulariifolia* (Syn = *Lonicera persica* Jaub. and Spach) یکی از گونه‌های با ارزش خانوادهٔ Caprifoliaceae است (ثابتی، ۱۳۸۵) که بومی این جنگل‌هاست و به‌صورت درختچه و به‌عنوان گونهٔ همراه با بلوط، بادام و... دیده می‌شود. جنگل‌های زاگرس در سال‌های اخیر به‌دلیل بهره‌برداری‌های غیراصولی و شرایط نامساعد محیطی (پراکنش نامناسب بارندگی، شوری، خشکی، طغیان آفات و بیماری و...) به‌شدت تخریب یافته و با کاهش عملکرد مواجه شده‌اند، به‌نحوی که می‌توان شن را در کنار بسیاری از گونه‌های دیگر موجود در عرصه‌های جنگلی در معرض تهدید و انقراض محسوب کرد. بهبود و احیای پوشش گیاهی در این مناطق، توسط فرایندهای طبیعی توالی، بسیار کند صورت می‌گیرد. علاوه‌بر این، فقر عناصر غذایی خاک و شرایط میکروکلیمای نامساعد، سبب می‌شود که روش‌های سنتی در احیای اراضی تخریب‌یافته با موفقیت کمی همراه باشند (اسلانی کتولی و همکاران، ۱۳۹۱).

میکوریز آربسکولار (AM) ارتباط همزیستی تشکیل‌شده بین ریشهٔ گیاهان و یک گروه تخصصی از قارچ‌های خاک هستند که می‌توانند دستیابی گیاه را به مواد غذایی افزایش دهند (Smith and Read, 2008). این قارچ‌ها در بیشتر شرایط از طریق توسعهٔ هیف‌های قارچی با ایجاد دسترسی بیشتر و کارامدتر به‌منظور جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر و انتقال این عناصر غذایی به‌طور مستقیم به گیاه سبب بهبود رشد گیاه می‌شوند (Siddiqui *et al*., 2008). همچنین هیف‌های قارچ‌های میکوریزی در جذب و انتقال آب به گیاهان میزبان دخالت دارند (Allen, 2007). نتایج نشان‌داده است که گیاهان می‌توانند تا حدود ۱۰۰ درصد از فسفر مورد نیاز خود را از طریق مسیر میکوریزی دریافت کنند (Smith *et al*., 2004) و ۲۰-۴ درصد از کربن گیاهان می‌تواند به قارچ‌ها منتقل شود (Cavagnaro *et al*., 2008). این انتقال منابع بین گیاهان و قارچ‌ها، اثرهای عمیقی بر رشد، تغذیه و اکولوژی گیاهان داشته و بسیار شایان توجه بوده است (Smith and Read, 2008). از طرف دیگر پژوهش‌های زیادی نشان می‌دهند که در صورت عدم استفاده از قارچ‌های میکوریزی، برنامه‌های جنگلکاری با شکست روبه‌رو خواهد شد (Safir, 1987). همچنین نتایج تحقیقات Barea *et al*. 2011 نشان داده که زیاد بودن درصد کلنیزاسیون میکوریزی در ریشه سبب افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های محیطی در مناطق خشک می‌شود. بنابراین آگاهی از پتاسیل میکوریزی گونه‌های گیاهی بومی به‌منظور استفاده از آنها در برنامه‌های احیا بسیار اهمیت دارد.

قارچ‌های میکوریز آربسکولار فعالیت آنزیم‌های خاک شامل دهیدروژناز، فسفاتاز و اوره‌آز را نیز افزایش می‌دهند (Wang *et al*., 2006). برای مثال، براساس نتایج Chethan Kumar *et al*. (2008) افزایش اندازهٔ کلنیزاسیون ریشه سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز می‌شود و در نتیجه مقدار جذب فسفر توسط گیاه افزایش پیدا می‌کند. حضور و فعالیت اسید فسفاتاز در میسلیوم‌های خارج ریشه‌ای (Van Aarle *et al*., 2002) و فعالیت آلکالین فسفاتاز در میسلیوم‌های داخل ریشه‌ای (Tisserant *et al*., 1993) و خارج ریشه‌ای (Boddington and Dodd, 1999) قارچ‌های میکوریز آربسکولار ثابت شده است.

ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک به تنش‌های محیطی و تغییرات در اثر روش‌های مختلف مدیریتی حساس‌اند و بنابراین شاخص‌های مناسبی برای تعیین کیفیت خاک محسوب می‌شوند (Burylo *et al*., 2007). تحقیقات نشان داده‌اند که رابطه‌ای قوی بین توالی گرما و سرما و رطوبت و خشکی و فعالیت میکروبی وجود دارد و از آنجاکه

بارندگی بر رطوبت خاک تأثیرگذار است، می‌تواند بر فعالیت و زی‌تودهٔ میکروبی و فعالیت آنزیمی نیز اثرگذار باشد (Linkins *et al*.,1990).

براساس نتایج Rodriaguez-Echeverria *et al.* (2008) کلنیزاسیون ریشه توسط AMF، هنگامی که گیاه فعالانه در حال رشد است افزایش می‌یابد. با توجه به یافته‌های Khade *et al.* (2010)، متوسط کلنیزاسیون ریشه، مقدار هیف و آربسکول در اوایل فصل رویش گیاه بیشتر است، درحالی که در اواخر فصل رویش اندام‌های قارچ درون ریشه بیشتر به‌صورت وزیکول دیده شد. براساس یافته‌های Sinsabaugh *et al.* (2008) در pH زیاد خاک، فعالیت آلکالین فسفاتاز بیشتر از اسید فسفاتاز است. تحقیقات Kotroczó *et al.* (2014) نشان داد که فسفاتاز خاک بیشترین فعالیت را در فصل بهار همزمان با رطوبت زیاد خاک و فعالیت زیاد ریشه داشته است. Matinizadeh *et al.* (2008) نیز در تحقیقات خود نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های خاک در آغاز پاییز نسبت به بهار کاهش می‌یابد. براساس نتایج Guo *et al.* (2012) بین کلنیزاسیون ریشه و فعالیت pH، آنزیم‌ها و عناصر خاک همبستگی وجود داشت. درحالی که یافته‌های Atti *et al.* (2008) هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری را بین کلنیزاسیون ریشه با عناصر و فسفاتازهای خاک نشان نداد.

با توجه به اثرهای مفید تلقیح میکوریزی بر رشد، مقاومت و زنده‌مانی گیاه، برای تحقق این مهم، بررسی وضعیت پتانسیل میکوریزی گونه‌های گیاهی ضرورت دارد. در ایران چند تحقیق در خصوص معرفی گونه‌های میکوریزی انجام گرفته است (علی‌احمد کروری و همکاران، ۱۳۸۱؛ متینی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۴؛ فیضی کمره و همکاران ۱۳۹۰)، اما تاکنون در خصوص معرفی شن به‌عنوان گونهٔ میکوریزی گزارشی مشاهده نشده است؛ بنابراین در این پژوهش به بررسی وضعیت همزیستی میکوریزی در گونهٔ شن پرداخته شد. با توجه به اینکه شن یک گونهٔ پیشاهنگ است، امید است که بتوان با برخورداری از روش‌های جدید زیست‌فناوری مانند استفاده از قارچ‌های میکوریزی و تولید نهال‌های میکوریزی آن در آینده شرایطی را برای بهبود جنگل‌های تخریب‌شدهٔ منطقه زاگرس فراهم آورد و استقرار گونه‌های دیگر را در پناه این گونهٔ ارزشمند ممکن ساخت. همچنین فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک رویشگاه و تغییرات برخی عناصر غذایی در ریزوسفر شن و همبستگی آنها با کلنیزاسیون میکوریزی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

منطقهٔ تحقیق

این پژوهش در رویشگاهی در چهارطاق در استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت. این منطقه با عرض جغرافیایی ″۲۹ ′۴۹ °۳۱ شمالی و طول جغرافیایی ″۳۳ ′۵۱ °۵۰ شرقی و ارتفاع ۲۴۰۰ متر از سطح دریا که بیش از ۳۰ سال از قرق آن توسط ادارهٔ کل منابع طبیعی استان چهار محال و بختیاری می‌گذرد، در شهرستان اردل و در مجاورت روستای چهارطاق در ۱۰۰ کیلومتری جنوب شرقی مرکز استان قرار گرفته است. میانگین بارندگی سالیانهٔ منطقه معادل ۵۳۰/۱۵ میلی‌متر، کمینهٔ دمای مطلق ۱۹/۵- و بیشینهٔ آن ۳۵ درجهٔ سلسیوس است. روزهای خشک از اوایل خرداد تا اواسط مهر است.

نمونه‌برداری از خاک و ریشه

نمونه‌های خاک و ریشه در دو فصل بهار و پاییز جمع‌آوری شدند. به این منظور، پنج پایه از درختان شن به‌طور کاملاً تصادفی انتخاب و سپس نمونه‌های خاک از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری هر درخت برای بررسی برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و سنجش فعالیت آنزیم‌های خاک جمع‌آوری شد. از ریشه‌های مویین (حدود ۱ میلی‌متر) شن نیز به‌منظور بررسی درصد کلنیزاسیون میکوریزی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل

شدند و سپس هر نمونه از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد.

بررسی خصوصیات خاک

نمونه‌های خاک ریزوسفر در هوا خشک شدند؛ سپس برای هر نمونه‌ی خاک، pH به روش آب مقطر (آب: خاک، ۲/۵ :۱)، بافت خاک به روش هیدرومتری، ماده آلی به‌روش سرد (Walkley and Black, 1934)، مقدار نیتروژن کل با استفاده از روش هضم کجلدال (Bremmer and Mulvaney, 1982)، فسفر قابل جذب (Olsen *et al.*, 1954) و پتاسیم قابل جذب با استات آمونیوم (Hanway and Hiedel, 1952) در هر دو فصل اندازه‌گیری شد.

رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها

پس از انتقال ریشه‌ها به آزمایشگاه، خاک‌های چسبیده به آنها با آب شسته شد و ریشه‌ها تا زمان رنگ‌آمیزی در محلول تثبیت‌کننده (FAA) نگهداری شدند. برای رنگ‌آمیزی، ریشه‌هایی که بهترین شرایط را داشتند پس از شست‌وشو با آب مقطر، براساس روش Phillips and Hayman (1970) با استفاده از محلول تریپان بلو ۰/۰۵ درصد رنگ‌آمیزی شدند. سپس ریشه‌ها به‌منظور بررسی ساختار قارچی و تعیین درصد کلنیزاسیون میکوریزی در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰، ۴۰ و ۱۰۰ مشاهده شدند و درصد آلودگی ریشه با استفاده از روش تقاطع شبکه (Brundrett *et al.*, 1996) و به‌کمک رابطهٔ ۱ محاسبه شد.

رابطهٔ ۱

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

سنجش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی

با استفاده از واکنش آنزیم/سوبسترا و به‌دست‌آمدن محصول و سنجش آنها با اسپکتروفتومتر مدل Jenway 6105، فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی (Ohlinger, 1996) برحسب میکروگرم پارا نیترو فنیل فسفات (µg p-nitrophenol g-1 soil h-1) در گرم خاک اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌وتحلیل‌های آماری

آماده‌سازی و تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و SPSS نسخه ۱۷ انجام گرفت. برای مقایسهٔ عامل‌های اندازه‌گیری‌شده در دو فصل از Independent-samples T-test استفاده شد. همچنین از آزمون همبستگی پیرسون برای تعیین ارتباط بین کلنیزاسیون میکوریزی، آنزیم‌ها و عناصر غذایی خاک استفاده شد.

نتایج

بررسی خصوصیات فیزیکی- شیمیایی خاک

نتایج آزمایش‌های فیزیکی- شیمیایی خاک نشان داد که منطقه دارای بافت شنی- رسی- لومی (شن: ۴۶/۴۸، رس: ۳۳/۱۶ و سیلت: ۲۰/۳۶) و pH قلیایی ۸/۲ است. همچنین نتایج بررسی عناصر خاک نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین تغییرات ماده آلی، پتاسیم قابل جذب، نیتروژن کل و فسفر قابل جذب در دو فصل بهار و پاییز وجود ندارد، اما مقادیر آنها در فصل بهار بیشتر از پاییز بود (جدول ۱).

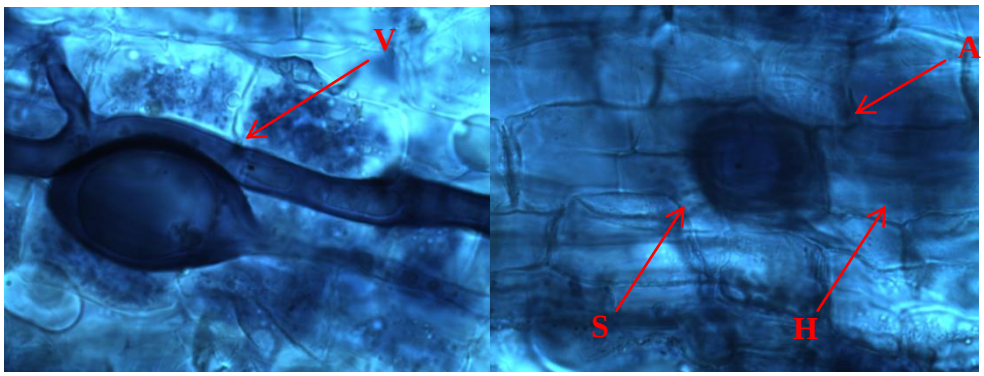
همزیستی میکوریزی و تعیین درصد کلنیزاسیون در دو فصل بهار و پاییز

ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شدهٔ شن در هر دو فصل بهار و پاییز دارای اندام‌های قارچ به‌صورت آربسکول، وزیکول و هیف‌های درون‌سلولی و بین‌سلولی بودند (شکل ۱). این شرایط که روی همهٔ پایه‌ها وجود داشت نشان داد که گونهٔ شن دارای همزیستی میکوریزی است.

جدول ۱- میانگین عناصر خاک در دو فصل بهار و پاییز

فصل	مادهٔ آلی (درصد)	نیتروژن کل (درصد)	فسفر قابل‌جذب (mg/kg)	پتاسیم قابل‌جذب (mg/kg)
بهار	۴/۴۸	/۲۲۹	۱۰/۵۸	۷۴۵/۹۸
پاییز	۲/۱۸	/۱۲۵	۸/۵۴	۵۲۲/۱۷
T	ns	ns	ns	ns

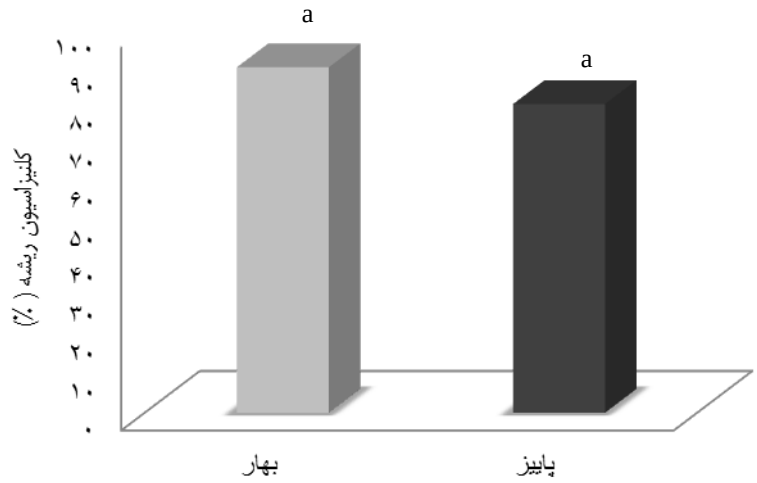
ns بدون اختلاف معنی‌دار



شکل ۱- موقعیت آربسکول (A)، هیف (H)، اسپور (S) و وزیکول (V) درون ریشهٔ شن

با محاسبهٔ درصد کلنیزاسیون در ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شده مشخص شد که قارچ توانسته است بهترین همزیستی را با گیاه برقرار کند، این درصد در فصل بهار ۹۰/۲ و در فصل پاییز ۸۰/۶ بود.

درصد کلنیزاسیون در فصل بهار بیشتر از پاییز بود، اما بین مقدار آن در دو فصل تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۲).



شکل ۲- میانگین درصد کلنیزاسیون ریشهٔ شن در دو فصل بهار و پاییز

تغییرات فعالیت اسید فسفاتاز در دو فصل بهار و پاییز

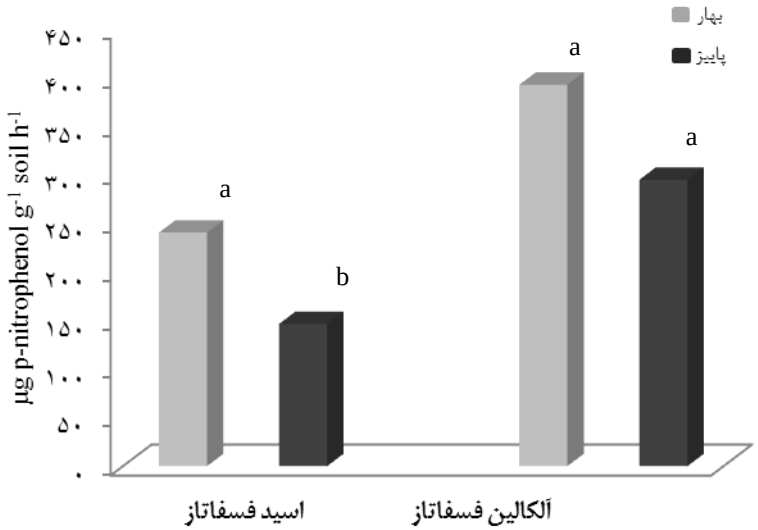
بر اساس محاسبات آماری مشاهده شد که بین تغییرات فعالیت اسید فسفاتاز در دو فصل بهار و پاییز اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود دارد. فعالیت اسید فسفاتاز در فصل بهار بیشتر از پاییز بود. این فعالیت از ۲۴۰/۵۹ میکروگرم پارا نیترو فنیل فسفات در گرم خاک تا ۱۴۶/۴۸ میکروگرم پارا نیترو فنیل فسفات در گرم خاک تغییر کرد (شکل۳).

تغییرات فعالیت آلکالین فسفاتاز در دو فصل بهار و پاییز

همانند اسید فسفاتاز، مقدار آلکالین فسفاتاز در فصل بهار بیشتر از پاییز بود، اما تغییرات آن اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱ درصد نشان نداد. این فعالیت از ۳۹۲/۸۵ میکروگرم پارا نیترو فنیل فسفات در گرم خاک تا ۲۹۵ میکروگرم پارا نیترو فنیل فسفات در گرم خاک تغییر کرد (شکل ۳).

همبستگی عناصر خاک با کلنیزاسیون میکوریزی و آنزیم‌های خاک

هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین عناصر خاک با درصد کلنیزاسیون دو فصل دیده نشد. اما در فصل بهار، بین مادهٔ آلی و نیتروژن با اسید فسفاتاز همبستگی مثبتی در سطح ۹۹ درصد، بین آلکالین فسفاتاز با ماده آلی همبستگی در سطح ۹۹ درصد و با نیتروژن کل همبستگی در سطح ۹۵ درصد وجود داشت. اما در فصل پاییز تنها بین آلکالین فسفاتاز با نیتروژن کل همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد وجود داشت. همچنین بین درصد کلنیزاسیون و فعالیت آنزیم‌های خاک در دو فصل بهار و پاییز همبستگی معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).



شکل ۳- تغییرات فعالیت اسید و آلکالین فسفاتاز بر حسب میکروگرم پارا نیترو فنیل فسفات در گرم خاک در دو فصل بهار و پاییز، حروف انگلیسی ناهمسان، نشانهٔ معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد است.

جدول ۲- همبستگی عناصر خاک با کلنیزاسیون میکوریزی و آنزیم‌های خاک

فصل	عامل	کلنیزاسیون (درصد)	مادهٔ آلی (درصد)	نیتروژن کل (درصد)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)
بهار	کلنیزاسیون	۱	۰/۵۱۲	۰/۶۰۱	۰/۴۹۷	۰/۵۹۵
	اسید فسفاتاز	۰/۴۶۱	**۰/۹۹۱	**۰/۹۸۳	۰/۰۴۸	۰/۶۵۴
	آلکالین فسفاتاز	۰/۳۰۷	**۰/۹۶۵	*۰/۹۳۱	۰/۱۱۲	۰/۳۱۲
پاییز	کلنیزاسیون	۱	-۰/۲۴۷	۰/۰۰۵	۰/۱۸۲	۰/۰۴۳
	اسید فسفاتاز	-۰/۱۳۴	۰/۷۷۴	۰/۸۷۰	۰/۰۵۸	۰/۷۶۵
	آلکالین فسفاتاز	۰/۰۴۶	۰/۷۵۲	*۰/۹۴۶	۰/۲۲۰	۰/۸۷۲

*معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۹۹ درصد

بحث

همزیستی میکوریزی و درصد کلنیزاسیون ریشه

فسفر یکی از عناصر ضروری و محدودکنندهٔ رشد گیاهان در بسیاری از محیط‌ها به‌شمار می‌رود. زیست بوم‌های طبیعی بیشتر فسفر مورد نیاز خود را از طریق رابطهٔ همزیستی با قارچ میکوریز به‌دست می‌آورند. کلنیزاسیون میکوریز آربسکولار در گیاه میزبان، سبب تحریک واکنش‌های فیزیولوژیک مانند منشعب شدن ریشه و ترشح فسفاتاز برای افزایش غیرمستقیم جذب فسفر می‌شود (Siddiqui *et al.*, 2008). در این پژوهش مشخص شد که شن، گیاهی میکوریزی است، درصد کلنیزاسون در بهار و پاییز به‌ترتیب ۹۰/۲ و ۸۰/۶ بود، که با توجه به دسته‌بندی Giovanettii and Mosse. (1980) در تیپ پنج قرار می‌گیرد. این مقدار آلودگی نشان می‌دهد که قارچ توانسته بهترین همزیستی را با گیاه برقرار کند. براساس این نتایج، در صورت استفاده نکردن از قارچ‌های میکوریزی در نهالکاری با این گونه به‌خصوص در مناطق تخریب‌یافته، برنامه‌های جنگلکاری با شکست روبه‌رو خواهد شد. پژوهش‌های مختلف مانند تحقیق Safir (1987) دلیلی بر این مدعاست. بنابراین با توجه به برنامه‌های در دست اجرا برای جنگلکاری مناطق مختلف به‌ویژه نواحی زاگرس، اهمیت این همزیستی برای استقرار و زنده‌مانی این گونه مشخص می‌شود. همچنین نتایج تحقیقات Barea *et al.* (2011) نشان داد که زیاد بودن درصد کلنیزاسیون میکوریزی در ریشه سبب افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی در مناطق خشک می‌شود، که با توجه به درصد زیاد کلنیزاسیون میکوریزی در ریشهٔ شن، استفاده از قارچ‌های میکوریزی در تولید نهال این گونه ضروری به‌نظر می‌رسد. در پژوهش حاضر تمامی مراحل کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ AM مشهود بود. در ریشه، هیف مسئول جذب مواد غذایی به‌ویژه فسفر، آربسکول ساختار کلیدی همزیستی AM و مسئول تبادل مواد غذایی از قارچ به گیاه در بازگشت کربوهیدرات میزبان است، در حالی که وزیکول یک اندام ذخیره‌ای و مرحله آخر رشد قارچ‌های AM در ریشهٔ میزبان است (Khade *et al.*, 2010). تحقیق حاضر نشان داد که بین مقدار کلنیزاسیون ریشه طی دو فصل تفاوت وجود دارد، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. در فصل بهار، متوسط کلنیزاسیون ریشه و مقدار هیف و آربسکول بیشتر از پاییز بود، درحالی‌که در اوایل فصل پاییز، اندام‌های قارچ درون ریشه بیشتر به‌صورت وزیکول دیده شد که با یافته‌های Khade *et al.* (2010) همخوانی داشت. زیاد بودن

درصد کلنیزاسیون در فصل بهار ممکن است به‌علت فعل و انفعالات رویشی و فیزیولوژی گیاه و نیز نیاز بیشتر آن به جذب آب و مواد معدنی باشد. براساس نتایج Rodriagues-Echeverria *et al.* (2008) کلنیزاسیون ریشه توسط AMF، هنگامی که گیاه فعالانه در حال رشد است افزایش می‌یابد.

فعالیت آنزیم‌های اسید و آلکالین فسفاتاز

همان‌طور که گفته شد، تحقیقات نشان داده است که در pH زیاد خاک، فعالیت آلکالین فسفاتاز به‌طور معمول بیشتر از اسید فسفاتاز است (Sinabaugh *et al.*, 2008). در پژوهش حاضر نیز فعالیت آلکالین فسفاتاز در هر دو فصل به‌طور تقریبی دو برابر اسید فسفاتاز بود که با توجه به قلیایی بودن خاک منطقه، وابسته بودن فعالیت فسفاتازها به pH خاک را نشان می‌دهد. در این بررسی فعالیت اسید فسفاتاز در بهار بیشتر از پاییز بود که می‌توان آن را ناشی از فعالیت زیاد ریشه در دورهٔ رویشی و بیشتر بودن کلنیزاسیون ریشه در فصل بهار دانست که به افزایش اسید فسفاتاز منجر شده است که با یافته‌های Matinizadeh *et al.* (2008) و Chethan Kumar *et al.* (2008) مطابقت دارد. در خصوص آلکالین فسفاتاز نیز با طی فصل روند کاهشی مشاهده شد. کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز را می‌توان ناشی از کاهش دما و رطوبت و در نتیجه کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها در پایان فصل رویش گیاهی دانست که با یافته‌های Kotroczó *et al.* (2014) همخوانی دارد. با توجه به منشأ میکروبی فسفاتاز قلیایی، افزایش این آنزیم در فصل بهار، شاخصی برای افزایش کمی و کیفی میکروارگانیسم‌ها، افزایش معدنی شدن مواد آلی و ازدیاد مواد غذایی است.

تغییرات برخی عناصر غذایی خاک

بر اساس بررسی‌های شیمیایی خاک هیچ یک از عناصر، تفاوت معنی‌داری را بین دو فصل نشان نداد. در مورد تغییرات فسفر قابل جذب و نیتروژن کل از بهار تا پاییز روند کاهشی مشاهده شد که ممکن است به دلیل مصرف گیاه در طی فصل رویش باشد (Nadja *et al.*, 2010). میانگین پتاسیم قابل جذب نیز در بهار بیشتر از پاییز بود. ازآنجا که پتاسیم یکی از عناصر بسیار مهم در بافت دانه و میوهٔ درختان در زمان تکامل میوه است، بنابر این در پاییز برای رسیدن بذرها، درخت نیاز به جذب پتاسیم بیشتری دارد که عامل مهمی در کاهش پتاسیم فرایشهٔ گیاه در این فصل است (Vinichuk *et al.*, 2010).

همبستگی عناصر خاک با کلنیزاسیون میکوریزی و آنزیم‌های خاک

در این پژوهش ضریب همبستگی معنی‌داری بین فسفاتازهای خاک با نیتروژن کل و مادهٔ آلی در فصل بهار، و آلکالین فسفاتاز و نیتروژن کل در پاییز وجود داشت که با یافته‌های Guo *et al.* (2012) مطابقت دارد. تحقیقات زیادی همبستگی بین عناصر خاک به‌ویژه فسفر و آنزیم‌های خاک را با کلنیزاسیون ریشه نشان داده‌اند. Guo *et al.* (2012) در تحقیقات خود نشان دادند که نیتروژن قابل دسترس، کربن آلی، اسید و آلکالین فسفاتاز همبستگی مثبت با کلنیزاسیون وزیکولی و همبستگی منفی با کلنیزاسیون آربسکولی دارند. براساس نتایج Smith and Read (2008)، کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریز آربسکولار همبستگی مثبتی با نیتروژن کل نشان داد، درحالی که ارتباط معنی‌داری با فسفر قابل جذب نداشت؛ اما نتایج تحقیق حاضر هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری را بین کلنیزاسیون ریشه با عناصر و فسفاتازهای خاک نشان نداد. نبود همبستگی معنی‌دار بین کلنیزاسیون ریشه و فعالیت فسفاتازها ممکن است به این دلیل باشد که ترشح آنزیم‌های یادشده تنها تحت تأثیر قارچ‌های میکوریزی نیست و ریشهٔ گیاه و میکروارگانیسم‌های دیگر در تولید آنها دخیل‌اند. نتایج Atti *et al.* (2008) نیز نشان داد که

هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین کلنیزاسیون میکوریزی و فسفر قابل جذب وجود ندارد. شاخص‌های اقلیمی و میکروارگانیسم‌های متعددی نظیر باکتری‌های حل‌کنندهٔ فسفات می‌توانند مقدار فسفر قابل جذب را کنترل کنند، بنابراین فعالیت قارچ‌های میکوریزی به‌تنهایی تعیین‌کنندهٔ مقدار فسفر قابل جذب در خاک نیست.

با توجه به درصد زیاد کلنیزاسیون میکوریزی در گونهٔ شن، وابستگی این گونه به همزیستی میکوریزایی ضروری به‌نظر می‌رسد؛ بنابراین تأثیر این قارچ‌ها در نهالکاری با این گونه به‌خصوص در رویشگاه‌های تخریب‌یافته بسیار حیاتی است.

منابع

اسلانی کتولی، اسماعیل، محمد جنگجو و امیر لکزیان، ۱۳۹۱. قابلیت‌ها و محدودیت‌های همزیستی میکوریزی و گیاهان به‌عنوان ابزاری جهت احیای اکوسیستم‌های تخریب یافته، حفاظت و بهره‌برداری از منابع طبیعی، ۱ (۴): ۴۹-۶۲.

ثابتی، حبیب‌اله، ۱۳۸۵. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه یزد، ۸۹۰ ص.

علی‌احمد کروری، سودابه، محمد متینی‌زاده، مریم تیموری و مصطفی خوشنویس، ۱۳۸۱. شناسایی قارچ‌های میکوریزی آربسکولار همزیست با گونه سرخدار (*Taxus baccata* L.) در جنگل تحقیقاتی واز، پژوهش و سازندگی، ۵۵: ۳۰-۳۵.

فیضی‌کمره، توران، محمد متینی‌زاده، انوشیروان شیروانی، وحید اعتماد و مصطفی خوشنویس، ۱۳۹۰. میکوریز آربسکولار در کیکم (*Acer sinerascens*) در دو فصل بهار و پاییز و ارتباط آنها با برخی عناصر غذایی ضروری (مطالعه موردی: بازفت، چهار محال و بختیاری، مجلهٔ جنگل ایران، ۳ (۳): ۲۱۳-۲۲۱.

متینی‌زاده، محمد، سودابه علی‌احمد کروری، مصطفی خوشنویس و مریم تیموری، ۱۳۸۴. شناسایی قارچ‌های میکوریزی همزیست با ارس و بررسی فراوانی آنها در رویشگاه سیراچال، تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۳ (۴): ۳۸۶-۴۰۰.

Allen, M.F., 2007. Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils, *Vadose Zone Journal*, 6: 291–297.

Atti, T., C. Danny, H. Fabien, I. Lous, W. Andres, and O. Fritz, 2008. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan Savannas of Benin, West Africa, as affected by agricultural land use intensity and ecological zone, *Mycorrhiza*, 18: 181-195.

Barea, J.M., J. Palenzuela, P. Cornejo, I. Sánchez-Castro, C. Navarro-Fernández, A. Lopéz-García, B. Estrada, R. Azcón, N. Ferrol, and C. Azcón-Aguilar, 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain, *Journal of Arid Environments*, 75: 1292-1301.

Boddington, C.L., and J.C. Dodd, 1999. Evidence that difference in phosphate metabolism in mycorrhizas formed by species of Glomus and Gigaspora might be related to their life-cycle strategies, *New Phytologist*, 142: 531-538.

Bremmer, J.M. and C.S. Mulvaney, 1982. Nitrogen-total. In: Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Biological Methods, edited by Albert Lee Page, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin ,USA 595-624.

Brundrett, M., N. Bougher, T. Grove, and N. Malajczuk, 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture, Monograph 32 Australian Center for International Agricultural Research, Canberra, Australia, 374 pp.

Burylo, M., F. Rey, and P. Delcros, 2007. Abiotic and biotic factors influencing the early stages of vegetation colonization in restored marly gullies (Southern Alps, France), *Ecological Engineering*, 30 (3): 231–239.

Cavagnaro T.R, A.J. Langley, L.E. Jackson, S.M. Smukler, and G.W. Koch, 2008. Growth, nutrition, and soil respiration of a mycorrhiza-defective tomato mutant and its mycorrhizal wild-type progenitor, *Functional Plant Biology*, 35: 228-235.

Chethan Kumar, K.V., K.R. Chandrashekar, and R. Lakshmipathy, 2008. Variation in arbuscular mycorrhizal fungi and phosphatase activity associated with *Sida cardifolia* in Karnataka. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4: 770-774.

Giovannetti, M., and B. Mosse, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500.

Guo, H., X. He, and Y. Li, 2012. Spatial distribution of arbuscular mycorrhiza and glomalin in the rhizosphere of *Caragana korshinskii* Kom. in the Otindag sandy land, China, *African Journal of Microbiology Research*, 6 (28): 5745-5753.

Hanway, J.J., and H. Heidel, 1952. Soil analysis methods as used in Iowa state college, soil testing laboratory, *Iowa Agriculture Journal*, 54: 1-31.

Khade S.W., B.F. Rodrigues, and P.K. Sharma, 2010. Symbiotic interactions between arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and male papaya plants: Its status, role and implications, *Plant Physiology and Biochemistry*, *48: 893-902*.

Kotroczó, Z., Z. Veres, I. Fekete, Z. Krakomperger, J.A. Tóth, K. Lajtha, and B. Tóthmérész, 2014. Soil enzyme activity in response to long-term organic matter manipulation, *Soil Biology and Biochemistry*, 70: 237-243.

Linkins, A.E., R.L. Sinsabaugh, C.A. McClaugherty, and J.M. Melills, 1990. Cellulase activity on decomposing leaf litter in microcosms, *Plant Soil*, 123:17-25.

Matinizadeh, M., S.A.A. Korori, M. Teimouri, and W. Praznik, 2008. Enzyme activities in untouched and tampered forest soils under oak (*Quercus brantii* var. *persica*) as affected by soil depth and seasonal variation, *Asian Journal of Plant Science*, 7(4): 368-374.

Nadja, F., F. Roger, B. Thomas, and E. Malin, 2010. Functional diversity in arbuscular mycorrhiza – the role of gene expression, phosphorous nutrition and symbiotic efficiency, *Fungal Ecology*, 3: 1 – 8.

Ohlinger, R., 1996. Acid and alkaline phosphomonoesterase activity with the substrate pnitrophenyl phosphate. In: Schinner, F., Kandeler, E., Ohlinger, R., Margesin, R. (Eds) Methods in soil biology, *Springer-Verlag Berlin*, 210-214.

Olsen.S.R., C.V.Cole, F.S.Vatanbe, and L.A. Dean, 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate, U.S.D.A. Circular No. 939. Washington D.C., 1-19.

Philips, J.M., and J.M. Hayman, 1970. Improved procedures for clearing roots by staining parasitic and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection, *British Mycological Society*, 55: 158-160.

Rodrıguez-Echeverrıa, S., W.H. Gera Hol, H. Freitas, W.R. Eason, and R. Cook, 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi of *Ammophila arenaria* (L.) Link: Spore abundance and root colonization in six locations of the European coast, *European Journal of Soil Biology*, *44: 30-36*.

Safir, G.R., 1987. Ecophysiology of VAM plants, CRC Press, INc., 224 pp.

Siddiqui, Z.A., M.S. Akhtar, and K. Futai, 2008. Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry, Springer, 365 pp.

Sinsabaugh, R.L., C.L. Lauber, M.N. Weintraub, B. Ahmed, S.D. Allison, C. Crenshaw, A.R. Contosta, D. Causack, S. Frey, M.E. Gallo, T.B. Gartner, S.E. Hobbie, K. Holland, B.L. Keeler, J.S. Powers, M. Stursova, C. Takacs-Vesbach, M.D. Wallenstein, D.R. Zak, and L.H. Zeglin, 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale, *Ecology Letters*, 11: 1252-1264.

Smith S.E., F.A. Smith, and I. Jakobsen, 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlation with mycorrhizal responses in growth or total P uptake, *New Phytologist*, 162: 511-524.

Smith, S.E., and D.J. Read, 2008. Mycorrhizal Symbiosis, Academic Press, London, 800 pp.

Tisserant, B., V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, and A. Gollotte, 1993. In planta histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infections, *Mycological Research*, 97: 245-250.

Van Aarle, I.M., H. Rouhier, and M. Saito, 2002. Phosphatase activities of arbuscular mycorrhizal intraradical and extraradical mycelium, and their relation to phosphorus availability, *Mycological Res*earch, 106: 1224-1229.

Vinichuk, M., A.F.S. Taylor, K. Rosén, and K.J. Johanson, 2010. Accumulation of potassium, rubidium and caesium (133Cs and 137Cs) in various fractions of soil and fungi in a Swedish forest, *Science of The Total Environment*, 408: 2543–2548.

Walkley, A., and I.A. Black, 1934. An examination of the Degetiareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method, *Soil Science*, 37: 29-38.

Wang, F.Y., X.G. Lin, R. Yin, and L.H. Wu, 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth of *Elsholtzia splendens* and *Zea mays* and the activities of phosphatase and urease in a multi-metal-contaminated soil under unsterilized conditions, *Applied Soil Ecology*, 31: 110-119.

Relationship of mycorrhizal symbiosis with nutrients of phosphorus, nitrogen and potassium, and soil enzymes in rhizosphere of *Lonicera nummulariifolia* in Chahartagh Ardal habitat

M. Matinizadeh[1*], M. Khoshnevis[2], N. Armand[3], T. Alizadeh[4], and F. Shamsabadi[5]

[1]Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, I. R. Iran
[2]Senior Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, I. R. Iran
[3]M.Sc. in Silviculture and Forest Ecology, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I. R. Iran
[4] M.Sc. in Silviculture and Forest Ecology, Research Institute of Forests and Rangelands, I. R. Iran
[5] M.Sc. in Plant Sciences, Faculty of Sciences, University of Kharazmi, I. R. Iran

(Received: 22 January 2015, Accepted: 26 September 2015)

Abstract

Mycorrhizal fungi are essential components of sustainable soil–plant systems and have a main role in sustainable forestry. The present study was carried out to investigate the evaluating status of mycorrhizal symbiosis, activities of acid and alkaline phosphatase and some nutrients (phosphorus, nitrogen and potassium) in rhizosphere of *Lonicera nummulariifolia* located in Chahartagh Ardal habitat in Chaharmahal va Bakhtiari Province. For this purpose, roots of five trees of *L. nummulariifoli* and soils around them were sampled in spring and autumn. The results showed that *Lonicera* is an incredible symbiosis since the percentage of colonization was 90.2 and 80.6 in spring and autumn, respectively. The activity of acid and alkaline phosphatase also was 240.59 and 392.85 in spring and 146.48 and 295 (ρNP) in autumn, respectively. All measured elements had higher values in spring than autumn. Correlation was significant between soil phosphatases with total nitrogen and organic matter in spring and alkaline phosphatase with total nitrogen in autumn. High level of AMF colonization and acid phosphatase activity in spring may be due to good conditions of soil and growing of root hairs are in the early growing season. With regard to the microbial origin of alkaline phosphatase, increasing this enzyme in spring illustrated increasing the quality and quantity of microorganisms and mineralization of organic matter and rising nutrients. In general, impressive percentage of mycorrhizal colonization in *L. nummulariifolia* indicates dependency of this species to mycorrhizal symbiosis. Therefore, the role of these fungi in planting with this species, especially in destruction habitats, is vital.

Keywords: Arbuscular, Colonization, Phosphatases, Seasonal variation.

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