



در

زراعت و باغبانی شماره ۸۰، پاییز ۱۳۸۷

پژوهش‌های زیست‌محیطی

نقش کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا بر عملکرد علوفه شبدر برسیم

• امیر قلاوند

دانشیار گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس

• محمد جواد زارع

دانشجوی دکتری اکولوژی گیاهان زراعی دانشگاه تربیت مدرس تهران

• ابراهیم محمدی گل تپه

دانشیار قارچ‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس

• فرهاد رجالی

استادیار تحقیقات موسسه تحقیقات آب و خاک ایران

• محمد زمانیان

عضو هیات علمی موسسه تحقیقات و تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج، بخش گیاهان علوفه‌ای

• حسین میرزائی ندوشن

موسسه تحقیقات و تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج

تاریخ دریافت: آذرماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: آذرماه ۱۳۸۶

Email: ghalavand_a@yahoo.com

چکیده

طی پژوهشی در مزارع موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج در سال ۱۳۸۵، اثرات کرم‌خاکی و قارچ میکوریزا، به تنهایی و یا با ترکیب با هم به صورت تلقیح با خاک و نیز تلقیح با بذر تحت طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار بر میزان عملکرد علوفه و همزیستی میکوریزایی شبدر برسیم طی چین‌های مختلف بررسی شد. میکوریزا بر عملکرد چین اول شبدر برسیم اثر نداشت، اما بر عملکرد علوفه خشک چین‌های دوم تا چهارم موثر بود. فعالیت کرم‌های خاکی سبب افزایش میزان همزیستی و بهبود رشد و عملکرد شبدر برسیم گردید به طوری که عملکرد این محصول با به کارگیری تیمار کرم‌خاکی + قارچ میکوریزا در چین دوم به نحو چشمگیری افزایش یافت. به کارگیری قارچ میکوریزایی به صورت تلقیح با بذر در استقرار همزیستی و افزایش عملکرد این محصول موثر تر است.

کلمات کلیدی: شبدر برسیم، کرم‌خاکی، قارچ میکوریزا آربوسکولار، عملکرد علوفه

Pajouhesh & Sazandegi No 80 pp: 40-45

Role of arbuscular mycorrhiza fungi – earthworm on forage yield of berseem clover

By: A. Ghalavand, Department of Agriculture, Tarbiat Modares University, M. J. Zarea, Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, E. Mohamadi Gol Tapeh, Tarbiat Modares University, F. Rajali, Soil and Water Resaerch Institute, M. Zamaniyan, The Seed and Plant Improvement Institute, Karaj and H. Mirzai Nadoshan, The Seed and Plant Improvement Institute, Karaj.

A field study was conducted to determine if earthworm activity and mycorrhiza seperetely and in combination, would affect the growth rate of berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.). The experiment conducted with four replicates under a randomized block design at the Seed and Plant Improvement Institute, Karaj in May 2006. Forage yield of all harvesting except first cutting affected by Earthworm activity and mycorrhiza. Increasing berseem forage yield by earthworm activity caused through of enhancement of mycorrhoza infection rate. Phonological stages of berseem clover weren't influenced by both mycorrhiza and earthworm activity.

Keywords: Berseem clover, Arbuscular mycorrhiza, Earthworm.

مقدمه

شیدر برسیم (*Trifolium alexandrinum* L.) جزو لگوم‌های علوفه‌ای مناطق نیمه خشک مدیترانه است که به صورت خالص یا مخلوط جهت تولید علوفه کشت می‌گردد و به خاطر انکا بسیار کم به نهاده‌های ورودی، به عنوان منبع استراتژیک کشاورزی پایدار محسوب می‌گردد (۸، ۱۸). این گیاه با توانایی ایجاد تنوع در تناوب با سایر محصولات، شکستن تک‌کشتی‌ها و تولید نیتروژن دارای اثرات بسیار مفیدی بر عملکرد محصول بعد از خود است (۲۴، ۲۸).

اثرات مفید فعالیت کرم‌خاکی بر رشد گیاهان به خصوص گیاهان مرتعی (۹، ۲۷) و در سیستم‌های تولید گیاهان زراعی (۹، ۱۰) مورد تایید عمومی است. ۷۵ درصد مقالات منتشر شده نشان دهنده افزایش معنی‌دار عملکرد بیوماس گیاهی در حضور کرم‌های خاکی است (۲۵). از اثرات کرم‌خاکی بهبود ساختمان خاک (۲۶)، افزایش خلل و فرج خاک (۵)، افزایش رشد فلور و فون خاک (۷) و بهبود شرایط شیمیایی و فیزیکی خاک (۴، ۱۷) است.

میکوریزا با ایجاد همزیستی با ریشه ۹۰٪ گیاهان خشکی (۱۳) قادر به انتقال عناصر غذایی به داخل گیاه است (۶، ۲۰، ۲۲). این فرایند تحت تاثیر فعالیت کرم‌های خاکی قرار می‌گیرد (۲۹). کرم‌خاکی ممکن است اسپور قارچ میکوریزا را مورد تغذیه قرار دهد، سبب انتقال و تجمع این اسپورها در نزدیکی ریشه گیاه شود (۱۴، ۲۹) و یا اینکه به عنوان یک منبع غذایی آنها را مصرف نماید (۱۲)، هرچند جزو غذای مطلوب آنها محسوب نمی‌شوند (۱۹). عوامل دیگری نظیر میزان کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها نیز شکل‌گیری قارچ میکوریزا را متاثر می‌سازند (۱، ۳، ۱۶، ۲۱). اکثر تحقیقات انجام گرفته جهت بررسی اثرات کرم‌خاکی و میکوریزا بر گیاهان تحت شرایط کنترل شده محیطی بوده که قابل تعمیم به شرایط طبیعی مزرعه نیست (۵). بنابراین تحقیق در این زمینه تحت شرایط واقعی و بر گیاهانی که چندین بار برداشت

می‌شوند می‌تواند به شناخت و به کارگیری بهتر میکوریزا و کرم‌خاکی کمک نماید. هدف از انجام این آزمایش بررسی اثرات قارچ میکوریزا آربسکولار و کرم‌خاکی بر عملکرد شیدر برسیم بوده است، با این منظور که بتوان از نتایج این تحقیق برای بالا بردن عملکرد این محصول استراتژیک استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در بهار سال ۱۳۸۵ در موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج انجام گرفت. بذر شیدر برسیم به عنوان محصول بهاره به صورت دست کاشت در ۱۸ پلات هر کدام به مساحت ۱۸ مترمربع در ۳ تکرار و تحت طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی کشت گردید. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (بدون کود) (Control)، کرم‌خاکی (EW)، میکوریزا به صورت تلقیح با خاک (M_{Soil}) و تلقیح با بذر (M_{Seed})، کرم‌خاکی + میکوریزا تلقیح با خاک ($M_{Seed}E_W$) و کرم‌خاکی + میکوریزا تلقیح با بذر ($M_{Soil}E_W$) بود. کرم‌خاکی مورد استفاده از منطقه کرج و جزو کرم‌های اندوژئیک (Endogeic) بودند. به منظور رهاسازی کرم‌های خاکی، پلات‌ها به وسیله ورقه‌های آلومنیومی به ارتفاع ۵۰ سانتیمتر که در عمق زمین کار گذاشته شده بود از سایر پلات‌ها جدا گردیدند. ۲۰ عدد کرم‌خاکی در مترمربع با وزن و طول مشابه در همه پلات‌ها بجز پلات شاهد رها شدند. رهاسازی پس از چین اول که علوفه به صورت کود سبز در پلات‌ها باقی ماند انجام شد، به این دلیل که قبل از آن خاک حاوی مواد آلی ناکافی است و نیز کود شیمیایی هنوز در خاک موجود است. از قارچ گلوموس موسی (*Glomus mosseae* Nicolson & Gerd) به صورت مخلوطی از اسپور، هیف و قطعات جدا شده ریشه‌های آلوده (تهیه شده توسط موسسه تحقیقات کشاورزی و بیوتکنولوژی) همراه با ماده حجم دهنده (*Carrier*)، به عنوان اینوکولوم برای تلقیح بذر و خاک استفاده شد.

جدول ۱. تجزیه واریانس با استفاده از آمار F

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	میزان آلودگی میکوریزا (چین اول)	چین اول	درجه آزادی	میزان آلودگی میکوریزا (چین دوم)
تیمار	۲	میانگین مربعات	۲۲۲/۹۳	۱۴۰۱۸۲۲/۲۴	۵	۱۴۴۳/۴۱۹
خطا	۶	میانگین مربعات	۱/۱۱۲۷	۱۶۹/۲۶	۱۵	۰/۰۹۸۸
$P \leq F$ تیمار		F	۲۰۱/۲۴	۸۲۸/۳۸		۱۴۵۹۶/۱۷۵
منبع تغییر	درجه آزادی				چین چهارم	
تیمار	۵	میانگین مربعات	چین دوم	چین سوم	۲۵۵۷۷/۵۱	
خطا	۱۵	میانگین مربعات	۳۶۱۸۰۲/۸۶۶	۷۸۶۶۶	۱۱۰۰/۲۷	
$P \leq F$ تیمار		F	۰/۰۸۸۸	۸۳۳/۳۳	۲۳۲	
			۹۹۹۹۹/۹	۹۴۴/۰		

** معنی دار در سطح ۱ درصد

۳ گرم بذر در هر متر خط کشت استفاده شد. در روش تلقیح قارچ میکوریزا با بذر، ابتدا بذر را به طور کامل با محلول آب شکر آغشته و سپس سطح آنها به صورت کامل (۳۰ گرم برای هر ۳ گرم بذر) با اینکولوم پوشیده گردید. در تلقیح با خاک نیز میزان ۳۰ گرم اینکولوم به عمق ۲ و فاصله ۵ سانتیمتر از خط کشت با خاک آغشته گردید. برای تعیین میزان درصد همزیستی میکوریزا، قبل از هر کدام از چین‌های اول و دوم، ۵ بوته به صورت تصادفی از هر پلات انتخاب شد. روش رنگ آمیزی مطابق با روش Philips و Hayman (۲۳) و میزان همزیستی میکوریزا به وسیله میکروسکوپ طبق روش Mosse و Giovanetti (۱۵) انجام گرفت. در هر چین به منظور تعیین عملکرد علوفه، در مرحله ۲۵٪ گلدهی، نمونه برداری‌ها از ۲ مترمربع وسط هر پلات انجام گرفت. سپس نمونه‌ها خشک و میزان عملکرد بر اساس ماده خشک تولیدی بر مترمربع محاسبه گردید. تجزیه آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS ۸٫۱ و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتیجه گیری و بحث

بین تیمارها از نظر درصد همزیستی میکوریزا و عملکرد علوفه خشک تفاوت معنی داری وجود داشت (جدول ۱). میزان همزیستی میکوریزایی ریشه طی چین اول کمتر از چین دوم بود و روش به کارگیری آن به صورت تلقیح با خاک و یا بذر تاثیری بر میزان درصد همزیستی نداشت (جدول ۳). در چین دوم درصد همزیستی ریشه و قارچ میکوریزا با افزودن کرم خاکی، به طور معنی داری افزایش پیدا کرد (جدول ۳). بیشترین میزان درصد همزیستی ریشه از تیمار کرم خاکی - میکوریزا به صورت تلقیح با بذر ($M_{Seed}E_W$) و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد (Control) بود (جدول ۳). درصد پایین همزیستی میکوریزا طی اولین چین می‌تواند به خاطر کافی بودن عناصر غذایی (بقایای کود شیمیایی مربوط به محصول قبلی) (جدول ۲) باشد چنانچه نتایج سایر بررسی‌ها نیز نشان دهنده آن است که بقایای کود (۳، ۱۶) به خصوص فسفر (۳، ۱۱) و نیتروژن (۱) سبب کاهش میزان همزیستی قارچ میکوریزا با گیاه می‌گردد ولی در چین بعدی به خاطر تخلیه این عناصر میزان آلودگی ریشه با قارچ افزایش پیدا می‌نماید (جدول ۲). نتایج نشان داد با افزودن کرم خاکی به شبدر تلقیح شده با میکوریزا، میزان همزیستی میکوریزایی افزایش می‌یابد. پژوهش‌های دیگر محققان نشان می‌دهد همزیستی قارچ میکوریزا احتمالاً به علت ترشح ترکیبات فیتوهورمونی توسط کرم خاکی افزایش می‌یابد (۲، ۹). Yu و همکاران در سال ۲۰۰۵ طی آزمایشی گلخانه‌ای گزارش دادند میزان همزیستی قارچ میکوریزا با چچم علوفه‌ای در اثر فعالیت کرم خاکی افزایش یافت (۳۰).

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که کاربرد قارچ میکوریزا تفاوت معنی داری را بر میزان عملکرد علوفه خشک طی چین اول به همراه ندارد ولی تیمارهای بکاررفته اختلاف معنی داری بر چین دوم تا چهارم داشته است (جدول ۴). در چین دوم و سوم بیشترین عملکرد مربوط به تیمار کرم خاکی + میکوریزا تلقیح با بذر ($M_{Seed}E_W$) می‌باشد ولی در چین چهارم بین تیمارهای کرم خاکی + میکوریزا تلقیح با

بذر ($M_{Seed}E_W$) و کرم خاکی + میکوریزا تلقیح با خاک ($M_{Soil}E_W$) اختلاف معنی داری وجود ندارد و بیشترین عملکرد علوفه خشک از این دو تیمار به دست آمد (جدول ۴). این بررسی نشان می‌دهد میزان عملکرد به تدریج طی چین‌های دوم تا چهارم رو به کاهش می‌گذارد و بیشترین عملکرد مربوط به چین دوم و کمترین مربوط به چین چهارم است (جدول ۴). در چین اول عدم تفاوت معنی دار عملکرد در

جدول ۲- میزان اسیدیته، فسفر و نیتروژن خاک محل آزمایش بعد از چین دوم

کربن آلی کل	فسفر قابل دسترس (mg/kg)	اسیدیته خاک pH	خصوصیات شیمیایی خاک
۱/۰۸	۲۱	۷/۱	قبل از شروع آزمایش
بعد از چین دوم در تیمارهای مختلف			
۱/۲۴	۱۳/۸	۷/۰۲	شاهد
۱/۲۴	۱۴	۶/۸	میکوریزا
۱/۲۴	۱۴	۷/۱	کرم خاکی
۱/۲۴	۱۴/۶۶	۶/۹	میکوریزا-کرم خاکی

جدول ۳- میزان همزیستی ریشه شبدر برسیم با قارچ میکوریزا (%) قبل از چین اول و دوم در تیمارهای مختلف

میکوریزا	تیمارهای آزمایش	کرم خاکی	چین	
			قبل از چین اول میزان آلودگی میکوریزا (%)	قبل از چین دوم میزان آلودگی میکوریزا (%)
Control	-	-	۰/۰ c	۰/۶۷ f
E _w	-	+	-	۳/۳۳ e
M _{Seed}	+	-	۱۵/۰ a	۳۷/۳۳
M _{Soil}	+	-	۱۳/۹۵ ab	۳۶/۰ d
M _{SEED} E _w	+	+	-	۴۲/۳۳ a
M _{SOIL} E _w	+	+	-	۲۸/۳۳ b

اعداد با حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده غیر معنی دار بودن تفاوت بین تیمارهای آزمایش است.

سایر تحقیقات نیز نشان داده که کرم خاکی از طریق سرعت بخشیدن به چرخه عناصر غذایی، تجزیه مواد ارگانیک، بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک، رشد گیاهان را بهبود می بخشد (۴، ۵، ۷، ۲۶). نتایج سایر بررسی‌ها نشان داده کرم خاکی از طریق تغذیه میسلیوم قارچ ارتباط متقابل بین گیاهان از طریق میسلیوم را از بین برده و بدین طریق جذب عناصر به گیاه را افزایش می دهد (۲۹). کرم خاکی به سبب افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی و بهبود شرایط فیزیکی خاک سبب افزایش رشد گیاهان می گردند (۴). افزایش رشد گیاه در اثر فعالیت کرم خاکی بیشتر مربوط به افزایش فسفر قابل جذب توسط آنها است (۲۹). Toffen و همکاران در سال ۲۰۰۲ گزارش دادند کرم خاکی از طریق انتقال اسپور و افزایش جذب فسفر توسط هیف قارچ، سبب افزایش همزیستی و کارایی میکوریزا با گیاه میزبان می گردد (۲۹). نتایج این آزمایش نشان داد که میزان آلودگی ریشه شبدر برسیم با قارچ آربسکولار میکوریزا با فعالیت کرم خاکی افزایش پیدا می نماید. در چین اول بین تیمار شاهد و تلقیح با میکوریزا از نظر میزان عملکرد علوفه خشک، تفاوت معنی داری وجود نداشت ولی به تدریج و با تخلیه

تیمارهای مختلف می تواند ناشی از میزان مناسب عناصر غذایی خاک باشد که درصد پایین همزیستی میکوریزایی طی چین اول این موضوع را ثابت می نماید (جداول ۲ و ۳) ولی در چین های بعد به خاطر افزایش درصد آلودگی ریشه با قارچ و نیز فعالیت کرم های خاکی میزان عملکرد افزایش پیدا نموده است. اثرات مفید فعالیت قارچ میکوریزا و کرم خاکی به صورت جداگانه و یا ترکیب با هم در شرایط کنترل شده بر رشد گیاهان به خوبی اثبات گردیده است (۳۰). کرم خاکی با ترشح مواد هومیک (Humic) از طریق اثرگذاری بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه سبب بهبود رشد می گردد (۴). از طرفی قارچ میکوریزا نیز از طریق تولید هیف سبب افزایش سطح جذب و قابلیت دسترسی عناصر خاک به گیاه می شود (۲۲). علت افزایش عملکرد در روش تلقیح میکوریزا با بذر در مقایسه با تلقیح با خاک می تواند به خاطر افزایش شانس ریشه در برقراری همزیستی میکوریزایی باشد ولی در چین های بعد این عدم اختلاف در نوع به کارگیری قارچ می تواند به علت گسترش ریشه ها و فعالیت کرم های خاکی باشد که اسپور قارچ ها را ضمن تغذیه مواد ارگانیک (۱۲) در نزدیکی ریشه تجمع می دهند (۱۴، ۲۹). نتایج

جدول ۴- تاثیر کرم خاکی و قارچ میکوریزا بر عملکرد چین‌های اول تا چهارم شبدر برسیم (کیلوگرم ماده خشک بر هکتار) در تیمارهای مختلف

میکوریزا	تیمارهای آزمایش	کرم خاکی	چین			
			چین چهارم	چین سوم	چین دوم	چین اول
			عملکرد خشک علوفه (کیلوگرم درهکتار)	عملکرد خشک علوفه (کیلوگرم درهکتار)	عملکرد خشک علوفه (کیلوگرم درهکتار)	عملکرد خشک علوفه (کیلوگرم درهکتار)
Control	-	-	۱۰۳۰/۷۵ a	۱۴۰۶ f	۷۵۰ e	۶۰۰ e
E _w	-	+	-	۱۵۰۰/۵ e	۱۳۰۰ d	۳۵۰ d
MI _{Seed}	+	-	۱۱۳۶/۵ a	۱۹۱۶/۲ d	۱۶۰۰ c	۹۰۰ b
MI _{Soil}	+	-	۱۰۷۱/۵ a	۲۰۰۰/۵ c	۱۶۰۰ c	۸۵۰ c
MI _{SEED} E _w	+	+	-	۲۱۲۵/۵ a	۱۹۵۰ a	۹۶۷ a
MI _{SOIL} E _w	+	+	-	۲۰۳۱/۲۵ b	۱۹۰۰ b	۹۹۹/۵ a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده غیر معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارهای آزمایش است.

Effects of mycorrhizae and phosphorus on growth and nutrient uptake of millet, cowpea and sorghum on a West African Soil. J. Agric. Sci. 135, 39-407.

4-Baker G.H., Carter P.J., Barrett V.J., 1999. Influence of earthworms, Aporetodea spp.(Lumbricidae), on pasture production on southeastern Australian Journal of Agriculture Research 50, 1247-1252.

5-Binet, F., Hallaive, V., Curmi, P., 1997. Agricultural practices and the spatial distribution of earthworm in maize fields. Relationships between earthworm abundance, maize plants, and soil compaction. Soil Biol. Biochem. 22, 577-583.

6-Clark, R.B., Zeto, S.K., 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. Journal of plant Nutrition 23,876-902.

7-Clapperton, M.J., Lee, N.O., Binet, F., Conner, R.L., 2001. Earthworm indirectly reduce the effects of take-all (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) on soft white spring wheat (*Triticum aestivum* cv Fielder). Soil Biol. Biochem. 33, 1531-1538.

8-Dalgaard, T., Hutchings, N.J., Porter, J.R., 2003. Agroecology, scaling and interdisciplinarity. Agric. Ecosyst. Environ. 100, 39-51.

9-Edwards, C.A., Bate, J.E., 1992. The use of earthworms in environmental management. Soil Biol. Biochem. 24, 1683-1689.

10-Edwards, C.A., Bohlen, P. J., 1996. Biology and Ecology of Earthworm. 3rd ed. Chapman and Hall, London 426pp.

خاک طی چین‌های بعدی اثرات مفید میکوریزا در افزایش میزان عملکرد علوفه بیشتر آشکار می‌گردد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت توامان کرم‌خاکی و میکوریزا باعث افزایش علوفه خشک می‌گردد که بیانگر روابط متقابل مثبت بین کرم‌خاکی و میکوریزا بر رشد و افزایش عملکرد است. بنابراین ضمن توصیه استفاده از بذور تلقیح شده شبدر برسیم با اینوکولوم قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae* Nicolson & Gerd) بر افزودن کرم‌خاکی در مزارع شبدر برسیم پس از چین اول تاکید می‌شود. ضمناً استفاده از چین دوم شبدر برسیم برای بهره‌برداری بهینه از آن در موارد مختلف، قابل توصیه است.

سپاسگزاری

از کمک‌های آقای دکتر خلوتی (موسسه تحقیقات کشاورزی و بیوتکنولوژی کرج) و میثم الیاسی تکنسین بخش ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج در مدت انجام تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع مورد استفاده

1-Alexander, I.J., Fairley, R.I., 1983. Effects of nitrogen on populations of fine roots and mycorrhiza as in sprucehumus. Plant soil 71, 49-53.

2- Amador, J.A., Goñres, J.H., Savin, M.C., 2003. Carbon and nitrogen dynamics in *Lumbricus terrestris* (L.) burrow soil: Relationship to plant residues and macropores. Soil Sci. Soc. Am. J. 67, 1755-1762.

3-Bagayoko, M., George, E., Roñmheld, V., Buerkert, A., 2000.

