تأثیر قارچ میکوریزا و PGPR بر وضعیت تغذیه و رشد درختان در تولید سیب ارگانیک

فاطمه زارع پیشه
دانشجوی کارشناسی گیاه‌پزشکی دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
helmazare.79@gmail.com

مقدمه

تمایل شدید به محدود کردن اثرات منفی محیطی بر محصولات باعث شده است که در سال‌های اخیر علاقه به تولید میوه‌های ارگانیک افزایش یابد. کشاورزی ارگانیک استفاده از نهاده‌های مصنوعی مانند آفتکش ها و کودها را ممنوع می‌کند. در نتیجه، این سیستم از نظر کنترل بیماری و آفات و همچنین تغذیه معدنی گیاهان، که از عوامل کلیدی در رشد و عملکرد خوب و متعادل درختان میوه هستند، بسیار نیازمند است. از سوی دیگر، پژوهش¬ها حاکی از آن است که شیوه‌های کم مصرفی مورد استفاده در سیستم‌های مدیریت ارگانیک و تامین کمتر مواد مغذی می‌تواند فعالیت‌های موجودات زنده خاک را بهبود بخشد، که در آن قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار (AMF) از اجزای ضروری هستند. قارچ‌ها مسئول نوع خاصی از همزیستی هستند که با اکثر گیاهان عالی به نام اندومیکوریزا رخ می‌دهد. میکوریزای آربوسکولار (Endomycorrhizae)، توسط قارچ‌های بیوتروفیک طبیعی متعلق به شاخه گلومرومیکوتا تثبیت می‌شوند. گیاهان شرکت کننده در همزیستی که با قارچ‌های مفید میکوریزا تماس برقرار می‌کنند، توانایی دریافت مواد مغذی را از طریق دو مسیر دارند: یک مسیر مستقیم از طریق ریشه و اپیدرم ریشه به طور مستقیم از محلول خاک، و یک مسیر غیر مستقیم (مسیر میکوریزی) که شامل یک شریک قارچی جذب به کمک میکوریز که نیاز به جمع آوری مواد معدنی از طریق هیف‌های خارج از خاک و انتقال آن‌ها به آربوسکول دارد، جایی که به گیاه منتقل می شود. هزینه ایجاد تماس میکوریزا توسط گیاه میزبان، کربوهیدرات‌های تولید شده در طول فتوسنتز است که تنها منبع انرژی برای قارچ است و تخمین زده می‌شود که تا ۲۰ درصد از کل تولید فتوسنتزی را تشکیل می‌دهد. ماده مغذی اصلی مرتبط با میکوریزا فسفر است. گزارش‌های زیادی با شواهد واضح وجود دارد که نشان می‌دهد میکوریزا از جذب فسفر، به ویژه در خاک‌هایی که این ماده مغذی را کم دارند، حمایت می‌کند. در پرتو مطالعات قبلی، مکانیسم‌های تبادل دو جانبه مواد جذب شده برای یون‌های فسفات همچنین یون‌های نیترات و آمونیوم از جنبه فیزیولوژیکی و مولکولی به خوبی شناخته شده‌اند. لوپز- پدروس و همکاران در مطالعات خود، حضور انتقال دهنده‌های آمونیوم (AMT) و نیترات (NT) و همچنین مولکول‌های انتقال دهنده به شکل آمینو اسید پرماز (AAPs) در هیف‌های خارجی *Glomus mosseae* شناسایی کرده‌اند. بنابراین، علاوه بر اشکال معدنی، نیتروژن را به اشکال نیترات و آمونیوم را می‌توان همچنین از طریق AMF به شکل اسیدهای آمینه از تجزیه مواد آلی به دست آورد. طبق گزارش اولسون و همکارانش، همبستگی قوی بین فسفر و پتاسیم، به ویژه در هیف‌ها و وزیکول‌های قارچی به این معنی است که میکوریزا آربوسکولار همچنین می‌تواند جذب پتاسیم را بهبود بخشد. با توجه به نقش مهم این ماده غذایی در زندگی گیاهی و اغلب کم بودن اشکال موجود، به ویژه در خاک‌هایی با خاصیت جذب بالا، اهمیت پدیده میکوریزی نیز ممکن است برای این عنصر بسیار مهم باشد. با توجه به پژوهش‌های پالون و همکارانش، پتاسیم به مقدار قابل توجهی در هاگ‌های AMF انباشته می‌شود. نتایج اولسون و همکارانش نشان داد که هیف‌ها و وزیکول‌های قارچی نیز منابعی با

محتوای پتاسیم بالا هستند که در مورد وزیکول‌ها به عنوان اندام‌های ذخیره سازی جالب به نظر می‌رسد. هدف اصلی این پژوهش تعیین اثرات AMF و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR) بر رشد و وضعیت تغذیه ارقام مختلف درخت سیب کشت شده در زیر کشت ارگانیک است که می‌تواند کارایی مصرف مواد مغذی و بهره وری آن‌ها را افزایش دهد. ما فرض کردیم که استفاده از تلقیح AMF + PGPR حضور ساختارهای میکوریزی را در ریشه‌ها افزایش می‌دهد و بر جذب مواد مغذی تأثیر مثبت می‌گذارد و در نتیجه وضعیت تغذیه بهتر درختان سیب در شرایط مزرعه را به همراه دارد. نتایج این مطالعه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را برای متخصصین علاقه‌مند به تولید سیب ارگانیک فراهم کند.

مواد و روش‌ها

مواد آزمایش شامل گیاهان شاهد (درختان تلقیح نشده) و درختان تلقیح شده ارقام «توپاز»، «اودرا» و «شوپن» و کلون U ۸۸۶۹ در شرایط رشد میوه ارگانیک بود. در بهار ۲۰۱۱ درختان پیوندی روی پایه M ۹ با فاصله ۲ در ۳،۵ متری بر روی خاک آبرفتی سیلتی لوم در قالب طرح آزمایشی بلوک خرد شده با ۴ تکرار و ۳ درخت در هر کرت با ۶ درخت شاهد بین بلوک‌های گیاهی تلقیح نشده و تلقیح شده کاشته شدند. مدیریت کف باغ شامل چیدن چمن کوچه‌ها ۳ تا ۵ بار در هر فصل (بسته به شرایط آب و هوایی) و خاکورزی مکانیکی در ردیف درختان با استفاده از یک ابزار روتیلر سوار بر تراکتور مجهز به سیستم هیدرولیک بود که امکان دسترسی به منطقه بین درختان را فراهم می‌کرد. خاک تا عمق ۵ سانتی متر دو بار در یک فصل رشد در آوریل و اکتبر کشت شد.

نمونه‌های خاک، هر یک از ۱۵۰۰-۲۰۰۰ گرم ساخته شده از ۱۵ نمونه فرعی که قبل از کاشت درخت در بهار ۲۰۱۱ با استفاده از روش مارپیچ برای نمونه برداری گام به گام جمع آوری شده بودند و نشان دهنده سه لایه خاک (۰-۲۰، ۲۱-۴۰ و ۴۱-۶۰ سانتی متر) بودند، در دمای اتاق خشک شدند. تجزیه و تحلیل خاک گرفته شده قبل از آماده سازی محل برای کاشت درخت نشان داد که مقدار pH هر لایه متفاوت است (جدول ۱). در لایه ۰ تا ۲۰ سانتی متر، pH کمی اسیدی بود و به ۶/۲۳ رسید. هر چه نمونه‌های خاک عمیق‌تر برداشته می‌شد، مقادیر pH ذکر شده بالاتر می‌رفت. هر دو در لایه‌های ۲۱-۴۰ و ۴۱-۶۰ سانتی متر، خاک با مقادیر pH قلیایی ۷/۳ و ۷/۵، به ترتیب مشخص شد. با در نظر گرفتن لایه خاک و سهم ذرات خاک با قطر کمتر از۰/۰۲ میلی متر محتوای فرم‌های قابل دسترس فسفر و پتاسیم برای گیاه در خاک کم بود، در حالی که محتوای منیزیم مقدار قابل توجهی بالا بود که این اثر مستقیم بر مقدار بسیار پایین نسبت پتاسیم به منیزیم داشت. علاوه بر این، خاک در لایه ۰ تا ۲۰ سانتی متر محتوای مواد آلی بیش از ۲/۵ درصد را نشان داد و سهم آن به تدریج با کاهش یافت.

تمام تیمارهای کشاورزی در راستای الزامات کشاورزی ارگانیک انجام شد، یعنی در طول دوره آزمایش از عوامل مصنوعی استفاده نشد. در تمام مدت آزمایش از کود و

Depth	pH_{KCl}	Available Macroelements in Soil mg·100 g^{-1}			K/Mg Ratio	Organic Matter %	Share of Soil Particles with Diameter < 0.02
		P	K	Mg			
0–20	6.2	1.7	5.8	17.0	0.34	2.52	37.6
21–40	7.3	1.3	2.9	11.4	0.25	0.99	25.1
41–60	7.5	1.0	2.5	10.5	0.24	0.50	17.9

جدول۱- پارامترهای فیزیکوشیمیایی خاک منطقه آزمایشی در بهار ۲۰۱۱ قبل از کاشت درخت

سمپاشی استفاده نشد. اسکب سیب با استفاده از عوامل مس و گوگرد آهک کنترل شد. در سال ۲۰۱۳ کنه‌های شکارچی (*Typhlodromus pyri*) برای کنترل جمعیت کنه‌های تار عنکبوتی و روش‌های اختلال جفت‌گیری برای کنترل شب پره (*Cydia pomonella*) معرفی شد.

تلقیح درختان در شرایط مزرعه انجام شد. تلقیح میکروبی تجاری موجود Micosat F با غلظت کل ۱-CFU.g ۱۰۶ حاوی ریشه‌های آسیاب شده و خرد شده گیاهان میزبان با هاگ و میسلیوم قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* GP۱۱) AMF) *G. viscosum* GC۴۱، *G. intraradices* GB۶۷، و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) از قبیل *Bacillus subtilis* BA۴۱ و *Streptomyces* spp. SB۱۹ فرموله شده به صورت پودر، در حین کاشت درخت با دوز ۱۰ گرم برای هر درخت در حفره‌های خاک به عمق ۳۰ سانتی متر اعمال شد و پس از گذشت هر سال از آزمایش ۲ گرم در مترمکعب ۱ دوز از مایه تلقیح در کنار درخت اعمال شد.

برای ارزیابی وضعیت تغذیه درختان، سه بار در هر فصل در فواصل ۳ هفته‌ای با اولین دوز در اوایل می، ۵۰ برگ در هر کرت پس از پایان رشد فاز رویشی در پایان جولای در هر سال مطالعه برداشت شد. برگ‌های جمع آوری شده از قسمت میانی شاخساره‌های یکساله گرفته شد، در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد و به پودر تبدیل شد که برای تعیین مقدار نیتروژن، فسفر، پتاسیم و منیزیم استفاده شد. نمونه‌های ریشه هر سال در پایان ژوئن از مزرعه برداشت می‌شد. ریشه‌های درختان از هر درخت در قطعه‌ای از عمق ۳۰ سانتی متری با استفاده از بیل صحرایی جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند و در زیر آب لوله کشی تمیز شدند. نمونه‌های حاوی حداقل ۲۰ گرم ریشه پاک شده در هر کرت طبق روشی که توسط درکوفسکا و همکارانش توضیح داده شد رنگ آمیزی شدند. از کربول فوکسین برای رنگ آمیزی استفاده شد.

پارامترهای فراوانی میکوریزا (F؛ سهم قطعات ریشه که در آن ساختارهای میکوریز تشکیل شده است)، شدت نسبی میکوریز (RMI؛ سهم ناحیه قطعات ریشه کلونیزه که ساختارهای میکوریز در آن ایجاد شده است) و شدت مطلق میکوریز (AMI؛ سهم از تمام قطعات ریشه که در آن ساختارهای میکوریزا ایجاد شده است) در نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند.

هر نمونه یک قطعه را نشان می‌داد و حاوی ۳۰ قسمت ریشه به طول ۱ سانتی‌متر بود که در گلیسیرین روی یک لام میکروسکوپ نصب و با لامل پوشیده شده بود. تمام مقادیر پارامتر میکوریز با استفاده از نرم افزار MYCOCALC محاسبه و به صورت درصد آورده شده است.

سطح برگ برای ۵۰ برگ در هر کرت با استفاده از مساحت سنج Li-۳۱۰۰ (Li-Cor, Lincoln, NE, USA) اندازه گیری شد. برای این منظور، نمونه برداری از برگ با همان روشی که برای ارزیابی وضعیت تغذیه گیاهان بیان شد، انجام شد. اندازه و رشد درخت بر اساس سطح مقطع تنه (TCSA) بر حسب سانتی متر مربع بیان شد. مقادیر این پارامتر از قطر تنه درخت اندازه گیری شده در ارتفاع ۳۰ سانتی متر محاسبه شد. قطر تنه روی هر درخت در کرت مستقیما پس از کاشت درخت و سپس در اکتبر هر سال آزمایش اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس در بسته نرم افزاری Statistica ۱۳ تجزیه و تحلیل شدند. میانگین‌ها با آزمون‌های تعقیبی نیومن- کویلز با سطح معنی‌دار $P \leq ۰/۰۵$ جدا شدند. تجزیه و تحلیل رگرسیون با نرم افزار Weka انجام شد که به صورت نمودارهایی در Microsoft Excel ارائه شده است.

نتایج

۱. پارامترهای میکوریز

پارامترهای میکوریز به عوامل مورد استفاده در آزمایش و همچنین برهم کنش آنها بستگی دارند (جدول ۲). تلقیح درختان به طور قابل توجهی فراوانی میکوریزی (F)، شدت میکوریزی مطلق (AMI) و شدت میکوریز نسبی (RMI) را در ریشه‌های مورد آزمایش در هر سال آزمایش افزایش داد. در شرایط تیمار بدون تلقیح، به استثنای سال آخر مطالعه، فرکانس نسبتاً پایینی برای کلون U ۸۸۶۹ مشخص بود، برخلاف «شوپن» که مقادیر نسبتا بالایی از این پارامتر

Year	Treatment	Cultivar	Mycorrhizal Frequency	Absolute Mycorrhizal Intensity	Relative Mycorrhizal Intensity
2012	NI	Topaz	A 20.7 ± 4.73 ab	A 1.33 ± 0.59 a	A 7.25 ± 4.17 a
		Odra	A 24.8 ± 6.38 ab	A 0.66 ± 0.45 a	A 2.98 ± 2.50 a
		U 8869	A 16.2 ± 7.20 a	A 1.36 ± 1.60 a	A 7.34 ± 6.47 a
		Chopin	A 37.3 ± 11.01 b	A 2.32 ± 1.54 a	A 6.05 ± 3.54 a
	I	Topaz	B 72.9 ± 9.57 a	B 19.15 ± 3.86 a	B 26.43 ± 4.37 a
		Odra	B 91.3 ± 4.19 b	B 36.41 ± 9.76 b	B 40.23 ± 11.29 b
		U 8869	B 69.6 ± 11.35 a	B 39.77 ± 4.81 b	B 57.85 ± 2.98 c
		Chopin	B 83.0 ± 7.39 ab	B 39.22 ± 4.58 b	B 47.60 ± 4.85 bc
2013	NI	Topaz	A 32.1 ± 11.01 ab	A 3.20 ± 1.76 a	A 9.84 ± 3.96 a
		Odra	A 28.8 ± 8.77 ab	A 1.60 ± 1.61 a	A 5.68 ± 5.16 a
		U 8869	A 24.6 ± 8.82 a	A 2.31 ± 1.16 a	A 9.13 ± 3.26 a
		Chopin	A 44.2 ± 4.19 b	A 6.28 ± 3.09 a	A 13.97 ± 5.74 a
	I	Topaz	B 72.6 ± 4.20 a	B 47.58 ± 9.65 ab	B 65.32 ± 11.12 a
		Odra	B 67.7 ± 7.39 a	B 52.45 ± 12.44 b	B 77.08 ± 12.63 a
		U 8869	B 55.9 ± 5.69 a	B 38.08 ± 6.35 a	B 68.17 ± 8.90 a
		Chopin	B 62.6 ± 16.68 a	B 56.87 ± 10.85 ab	B 65.22 ± 11.30 a
2014	NI	Topaz	A 37.3 ± 11.34 a	A 10.56 ± 2.34 a	A 23.73 ± 8.67 a
		Odra	A 33.9 ± 9.95 a	A 5.03 ± 1.82 a	A 16.67 ± 9.31 a
		U 8869	A 39.6 ± 15.64 a	A 9.63 ± 5.58 a	A 22.89 ± 6.02 a
		Chopin	A 31.0 ± 5.67 a	A 6.20 ± 3.77 a	A 19.32 ± 9.26 a
	I	Topaz	B 80.3 ± 12.15 b	B 50.68 ± 7.46 a	B 64.15 ± 5.74 a
		Odra	B 73.8 ± 9.81 ab	B 47.65 ± 3.42 a	B 65.50 ± 6.21 a
		U 8869	B 60.1 ± 9.18 a	B 38.45 ± 12.11 a	B 63.53 ± 13.13 a
		Chopin	B 61.8 ± 9.62 a	B 40.85 ± 1.83 a	B 67.16 ± 8.04 a
Year			0.0882	**<0.0001**	**<0.0001**
Treatment			**<0.0001**	**<0.0001**	**<0.0001**
Cultivar			**0.0062**	0.1259	0.0982
Year × Treatment			**<0.0001**	**0.0001**	**<0.0001**
Year × Cultivar			**0.0061**	**0.0001**	**0.0444**
Treatment × Cultivar			**0.0015**	**0.0204**	**0.0130**
Year × Treatment × Cultivar			0.1927	**0.0056**	**0.0239**

جدول۲- فراوانی میکوریزا، شدت میکوریز مطلق و شدت میکوریز نسبی درختان سیب آزمایش شده طی سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۴ با تلقیح و رقم میکوریزی متفاوت NI: تلقیح نشده و I: تلقیح شده. میانگین داده ها ۳ = n است.

را نشان داد. یافته‌های مربوط به کلون U ۸۸۶۹ نیز در ترکیبی که از قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (AMF) + ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR) به ترتیب برای «اودرا» و «توپاز» در سال اول و سوم مطالعه اعمال شده بود، تأیید شد.

تلقیح درخت در شرایط مزرعه بر شدت مطلق و نسبی میکوریز تأثیر معنی‌داری داشت. مقادیر بالاتر این پارامترها برای ریشه‌های گرفته شده از درختان تیمار شده با تلقیح آزمایش شده در هر سال آزمایش مشاهده شد. ژنوتیپ رقم نیز در سال‌های ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳ AMI و RMI در سال ۲۰۱۲ را تحت تأثیر قرار داد، اما تنها در ترکیبی که تلقیح استفاده شده بود. در ریشه درختان رقم «توپاز» در سال ۲۰۱۲،RMI و AMI به طور قابل توجهی کمتر از سایر ارقام مورد استفاده در آزمایش مشاهده شد. از نظر RMI در سال ۲۰۱۳، شدت میکوریزی نسبی بالاتری در ریشه در مقایسه با کلون U ۸۸۶۹ در رقم «اودرا» مشاهده شد.

۲. وضعیت تغذیه درختان

با توجه به داده‌های ارائه شده در جدول ۳، وضعیت تغذیه درختان تحت تأثیر عوامل اصلی (منیزیم) یا برهمکنش دوگانه (پتاسیم و منیزیم یا سه گانه نیتروژن و فسفر آن‌ها قرار گرفت. در نتیجه تلقیح در همه ارقام آزمایش شده به استثنای «توپاز»، محتوای نیتروژن برگ بالاتر در سال های ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳ مشاهده شد، در حالی که در سال ۲۰۱۴ بدون در نظر گرفتن تیمار یا واریته هیچ تاثیری وجود نداشت. ژنوتیپ رقم به جز درختان تلقیح شده در سال ۲۰۱۳ بر غلظت نیتروژن در برگ‌ها در سال‌های ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳ تأثیر گذاشت. «توپاز» و «شوپن» غلظت‌های بیشتری از نیتروژن در برگ‌ها را نسبت به سایر ارقام نشان دادند، اما این یافته تنها برای درختانی که با تلقیح میکروبی تیمار نشده بودند به جز «شوپن» در سال ۲۰۱۲ معنی‌دار بود.

Year	Treatment	Cultivar	Macronutrient (% d.m.) N	P	K	Mg
2012	NI	Topaz	A 1.98 ± 0.02 c	A 0.32 ± 0.04 a	B 1.13 ± 0.09 b	A 0.24 ± 0.02 a
		Odra	A 1.78 ± 0.05 b	B 0.42 ± 0.08 b	B 1.18 ± 0.14 b	A 0.18 ± 0.01 a
		U 8869	A 1.65 ± 0.11 a	B 0.34 ± 0.03 a	B 1.12 ± 0.24 b	A 0.17 ± 0.04 a
		Chopin	A 1.95 ± 0.08 c	B 0.48 ± 0.06 b	B 0.75 ± 0.12 a	A 0.21 ± 0.13 a
	I	Topaz	A 1.97 ± 0.04 a	A 0.36 ± 0.01 c	A 0.74 ± 0.04 ab	B 0.34 ± 0.03 ab
		Odra	B 1.94 ± 0.05 a	A 0.25 ± 0.04 b	A 0.50 ± 0.05 a	B 0.39 ± 0.05 ab
		U 8869	B 1.88 ± 0.06 a	A 0.15 ± 0.01 a	A 0.79 ± 0.05 b	B 0.30 ± 0.01 a
		Chopin	B 2.11 ± 0.09 b	A 0.21 ± 0.03 ab	A 0.37 ± 0.04 a	B 0.45 ± 0.01 b
2013	NI	Topaz	A 2.00 ± 0.02 b	B 0.47 ± 0.03 b	B 1.22 ± 0.12 b	A 0.31 ± 0.04 a
		Odra	A 1.84 ± 0.05 a	B 0.54 ± 0.03 b	B 1.03 ± 0.06 ab	A 0.28 ± 0.01 a
		U 8869	A 1.72 ± 0.08 a	B 0.32 ± 0.05 a	B 1.01 ± 0.24 ab	A 0.29 ± 0.03 a
		Chopin	A 1.99 ± 0.07 b	B 0.39 ± 0.08 ab	B 0.80 ± 0.17 a	A 0.32 ± 0.02 a
	I	Topaz	A 2.07 ± 0.06 a	A 0.40 ± 0.07 c	A 0.71 ± 0.31 b	A 0.32 ± 0.17 a
		Odra	B 2.09 ± 0.09 a	A 0.31 ± 0.06 b	A 0.45 ± 0.07 ab	B 0.47 ± 0.04 b
		U 8869	B 2.17 ± 0.08 a	A 0.19 ± 0.02 a	A 0.35 ± 0.03 a	B 0.43 ± 0.03 ab
		Chopin	B 2.14 ± 0.07 a	A 0.21 ± 0.02 a	A 0.32 ± 0.02 a	B 0.57 ± 0.05 b
2014	NI	Topaz	A 2.10 ± 0.07 a	A 0.27 ± 0.06 a	B 1.27 ± 0.07 b	A 0.26 ± 0.16 a
		Odra	A 2.04 ± 0.07 a	B 0.37 ± 0.05 ab	B 0.90 ± 0.02 a	A 0.25 ± 0.02 a
		U 8869	A 1.98 ± 0.08 a	B 0.30 ± 0.02 a	B 1.01 ± 0.13 ab	A 0.22 ± 0.04 a
		Chopin	A 2.11 ± 0.05 a	B 0.42 ± 0.11 b	B 0.81 ± 0.12 a	A 0.30 ± 0.02 a
	I	Topaz	A 2.07 ± 0.07 a	A 0.30 ± 0.04 a	A 0.80 ± 0.11 b	B 0.36 ± 0.03 a
		Odra	A 2.04 ± 0.03 a	A 0.27 ± 0.04 a	A 0.52 ± 0.13 a	B 0.39 ± 0.01 a
		U 8869	A 2.01 ± 0.11 a	A 0.27 ± 0.02 a	A 0.57 ± 0.11 ab	B 0.40 ± 0.08 a
		Chopin	A 2.09 ± 0.07 a	A 0.30 ± 0.04 b	A 0.56 ± 0.22 ab	B 0.47 ± 0.05 b
Year			<0.0001	<0.0001	0.0246	<0.0001
Treatment			<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Cultivar			<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Year × Treatment			<0.0001	0.0107	0.0289	0.6460
Year × Cultivar			0.0312	<0.0001	0.0451	0.2806
Treatment × Cultivar			<0.0001	0.0002	0.2699	0.0006
Year × Treatment × Cultivar			0.0358	<0.0001	0.4473	0.3523

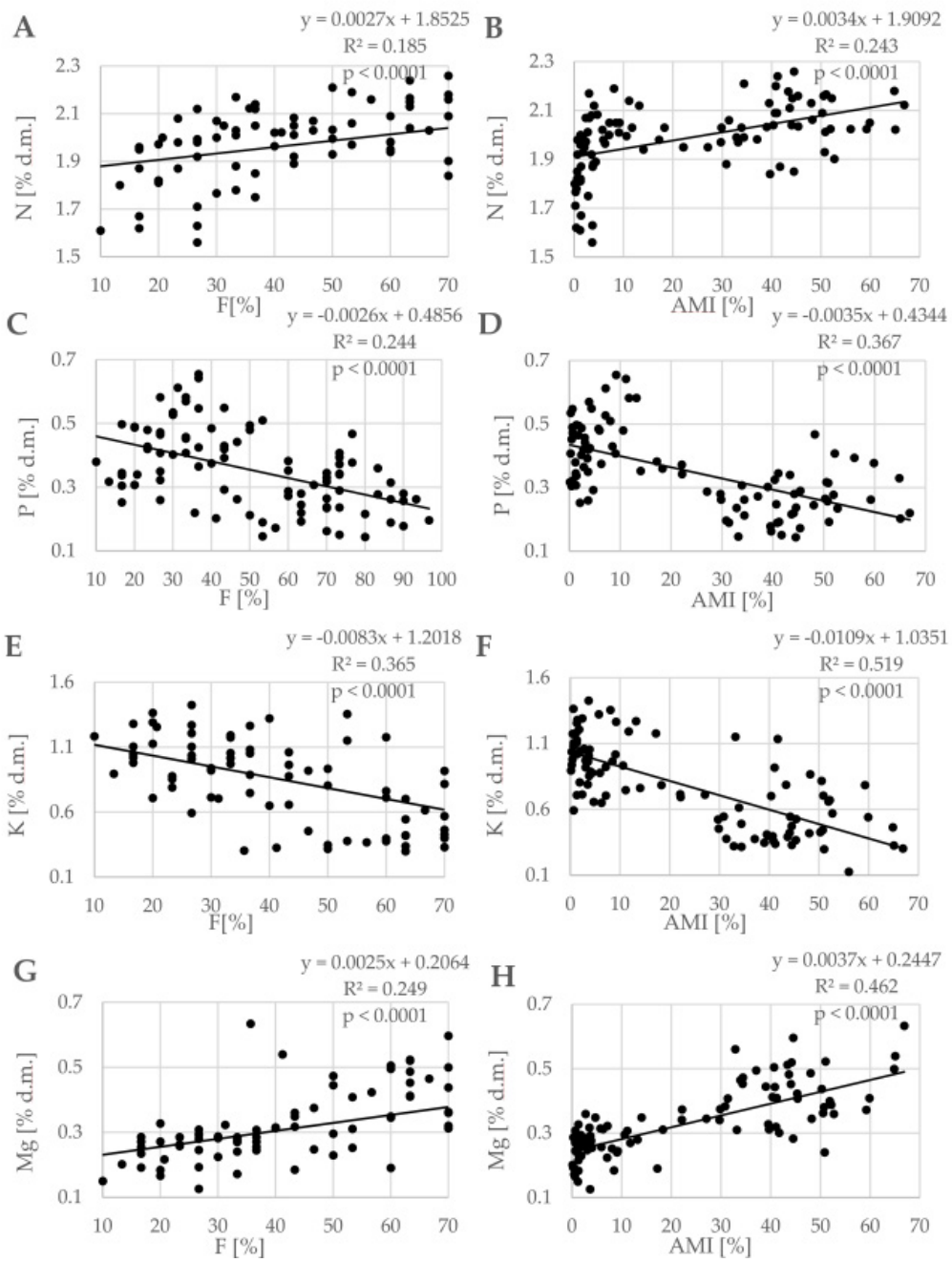
جدول ۳- محتوای درشت مغذی‌ها در برگ‌های درختان سیب آزمایش شده طی سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۴ با تلقیح و رقم PGPR + AMF

میزان کمتری از فسفر و پتاسیم برگ برای درختان تلقیح شده نسبت به شاهد مشاهده شد. استثناء رقم «توپاز» در سال ۲۰۱۲ و ۲۰۱۴ بود که از نظر غلظت فسفر به تلقیح پاسخ نداد. وضعیت تغذیه‌ای فسفر و پتاسیم نیز تحت تأثیر ژنوتیپ چوب پیوندک، در تعامل با تیمار تلقیح قرار گرفت. استفاده از تلقیح PGPR + AMF به شدت بر غلظت منیزیم برگ تأثیر گذاشت. به جز «توپاز» در سال ۲۰۱۳، محتوای منیزیم بالاتر در برگ برای درختان تلقیح شده مشاهده شد. تجزیه و تحلیل رگرسیون نشان داد که بین پارامترهای میکوریزی و محتوای معدنی برگ روابط متفاوتی وجود دارد (نمودار ۱). تناسب آنها مشابه بود؛ یعنی مقادیر بالاتر F، AMI و RMI با مقادیر بالاتر نیتروژن و منیزیم برگ و به طور همزمان، میزان فسفر و پتاسیم پایین‌تر همبستگی مثبت داشت. اهمیت این همبستگی‌ها به پارامتر بستگی دارد و همبستگی‌های قوی‌تری برای RMI و AMI در مقایسه با F ثبت شد، همانطور که در نمودار ۲ نشان داده شده است. رابطه AMI و RMI با محتوای منیزیم و پتاسیم در برگ‌ها تقریباً دو برابر بیشتر از همان پارامترکه برای F محاسبه شده بود.

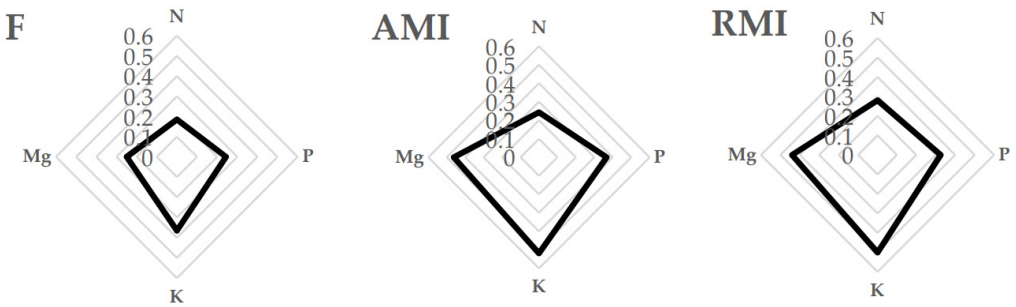
۳. رشد درختان

همانطور که توسط فعل و انفعالات معنی‌دار (تیمار سال و/ یا رقم سال) ارائه شده در جدول ۴ نشان داده شده است، کاربرد تلقیح PGPR + AMF و ژنوتیپ‌های رقم بر رشد درخت در سال‌های بعدی آزمایش تأثیر گذاشت. درختان در بهار ۲۰۱۱ نشان دادند که اندازه مواد کاشته شده یکنواخت است و استفاده از تلقیح PGPR + AMF به طور قابل توجهی باعث افزایش سطح مقطع تنه (TCSA) شده است (نمودار ۳). مقادیر بالاتر این پارامتر پس از هر فصل رشد کامل ثبت شد برای گیاهان تلقیح شده در مقایسه با شاهد تلقیح نشده. تأثیر ژنوتیپ رقم قبلا در مرحله تنظیم آزمایشی در سال ۲۰۱۱ ثابت شده بود و با سطح مقطع تنه (TCSA) که در آن درختان U ۸۸۶۹ و «توپاز» مقادیر بیشتری از TCSA نسبت به «اودرا» و «شوپن» داشتند بیان می‌شود. . در حالی که این اثر رشد بالاتر برای این دو رقم در مقایسه با «اودرا» حفظ شد، «شوپن» دارای TCSA مشابهی نسبت به «توپاز» و U ۸۸۶۹ در سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۴ بود (نمودار ۴).

استفاده از تلقیح PGPR + AMF به طور قابل توجهی بر افزایش TCSA محاسبه شده برای دوره زمانی تحت پوشش کارآزمایی تأثیر گذاشت. درختان تیمار شده با تلقیح میکروبی ۲۳ درصد افزایش TCSA محاسبهشده را برای کل دوره آزمایش (جدول ۴) و سطح برگ بالاتر در مقایسه با شاهد تلقیح نشده بدون توجه به ارقام و سال نشان دادند. با این حال، اثر متقابل معنی داری بین سال و ارقام مشاهده شد. کوچک‌ترین برگ‌ها در «توپاز» و بالاترین سطح برگ به جز سال ۲۰۱۴ برای «شوپن» مشاهده شد (نمودار۵).



نمودار ۱- روابط خطی بین پارامترهای میکوریزی (F؛ فرکانس میکوریز و شدت میکوریز AMI مطلق) و غلظت عناصر ماکرو (N- نیتروژن، P- فسفر، K- پتاسیم و Mg- منیزیم) در برگ‌های درخت سیب آزمایش شده طی سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۴.

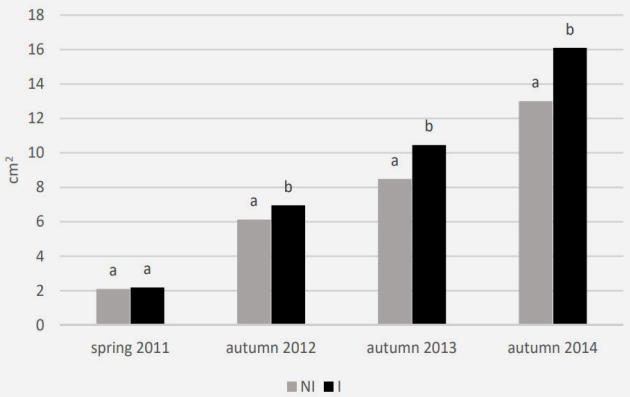


نمودار ۲- تعیین ضرایب از روابط خطی بین F (فرکانس میکوریز)، AMI (شدت میکوریزی مطلق)، و RMI (شدت نسبی میکوریزی) و غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم و منیزیم محاسبه شده در برگ‌ها در طول سال های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۴.

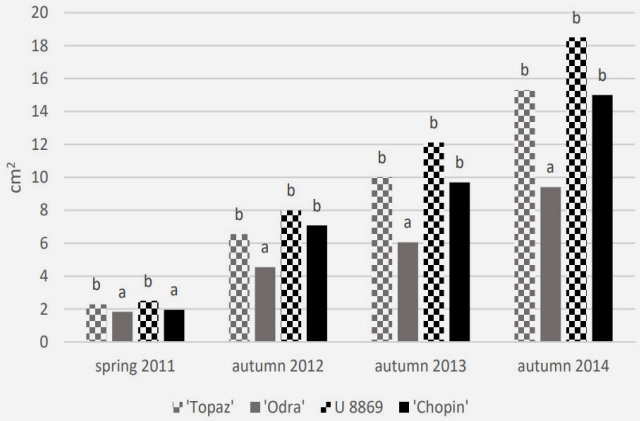
Treatment	Cultivar	TCSA (cm^2) 2011	2012	2013	2014	TCSA Increment 2011–2014 (cm)	Leaf Area (cm^2) 2012	2013	2014
NI	Topaz	2.10 ± 0.08	3.46 ± 0.38	9.06 ± 1.41	13.9 ± 1.5	11.8 ± 1.5	20.4 ± 2.1	20.5 ± 3.1	19.6 ± 1.2
	Odra	1.79 ± 0.25	2.39 ± 0.31	5.39 ± 0.62	9.50 ± 1.2	7.80 ± 1.1	25.0 ± 3.7	25.5 ± 3.0	31.6 ± 3.1
	U 8869	2.64 ± 0.21	4.37 ± 0.43	11.2 ± 0.72	17.5 ± 1.7	14.8 ± 1.6	31.7 ± 2.7	32.1 ± 3.6	27.3 ± 0.6
	Chopin	1.85 ± 0.09	3.43 ± 0.60	7.99 ± 1.68	13.7 ± 2.4	11.9 ± 2.5	33.7 ± 5.1	30.7 ± 2.3	30.7 ± 1.5
Mean value for NI			6.89 ± 5.0			11.6 ± 3.0		27.4 ± 5.6	
I	Topaz	2.46 ± 0.15	4.11 ± 0.35	10.9 ± 2.03	16.4 ± 1.4	14.0 ± 1.4	25.2 ± 5.1	25.4 ± 5.2	25.1 ± 0.9
	Odra	1.87 ± 0.49	2.83 ± 0.68	6.62 ± 0.97	11.3 ± 2.7	9.50 ± 2.3	30.3 ± 1.2	31.1 ± 1.7	35.0 ± 3.1
	U 8869	2.37 ± 0.32	5.02 ± 0.08	12.9 ± 1.47	20.1 ± 0.3	17.7 ± 0.5	32.9 ± 6.1	31.7 ± 4.7	28.4 ± 0.6
	Chopin	2.05 ± 0.18	4.51 ± 0.96	11.2 ± 4.25	18.1 ± 3.9	16.0 ± 3.8	36.4 ± 4.7	38.9 ± 2.2	33.0 ± 1.0
Mean value for I			8.29 ± 6.2			14.3 ± 3.8		31.1 ± 5.4	
Year			**<0.0001**			-		0.9337	
Treatment			**<0.0001**			**0.0009**		**<0.0001**	
Cultivar			**<0.0001**			**<0.0001**		**<0.0001**	
Year × Treatment			**0.0162**			-		0.9559	
Year × Cultivar			**<0.0001**			-		**0.0020**	
Treatment × Cultivar			0.1282			0.6907		0.0904	
Year × Treatment × Cultivar			0.9439			-		0.9759	

Note: bold format intends to highlight statistical significance.

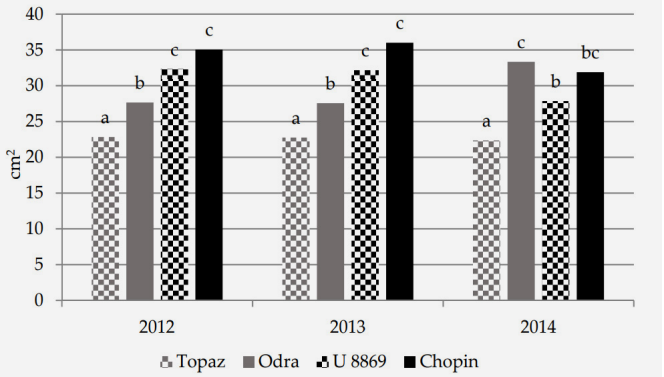
جدول ۴- TCSA، افزایش آن و سطح برگ درختان سیب آزمایش شده در طول آزمایش به سال، تلقیح میکروبی و رقم بستگی دارد.



نمودار ۳- سطح مقطع تنه TCSA درخت سیب به تلقیح با AMF + PGPR در طول دوره آزمایش بستگی دارد. میانگین برای ارقام (میانگین علامت گذاری شده با همان حرف در دوره به طور قابل توجهی در p ≤ ۰/۰۵ با توجه به نیومن- کویلز متفاوت نیست.)



نمودار ۴- TCSA درخت سیب در طول دوره آزمایش به رقم بستگی دارد.

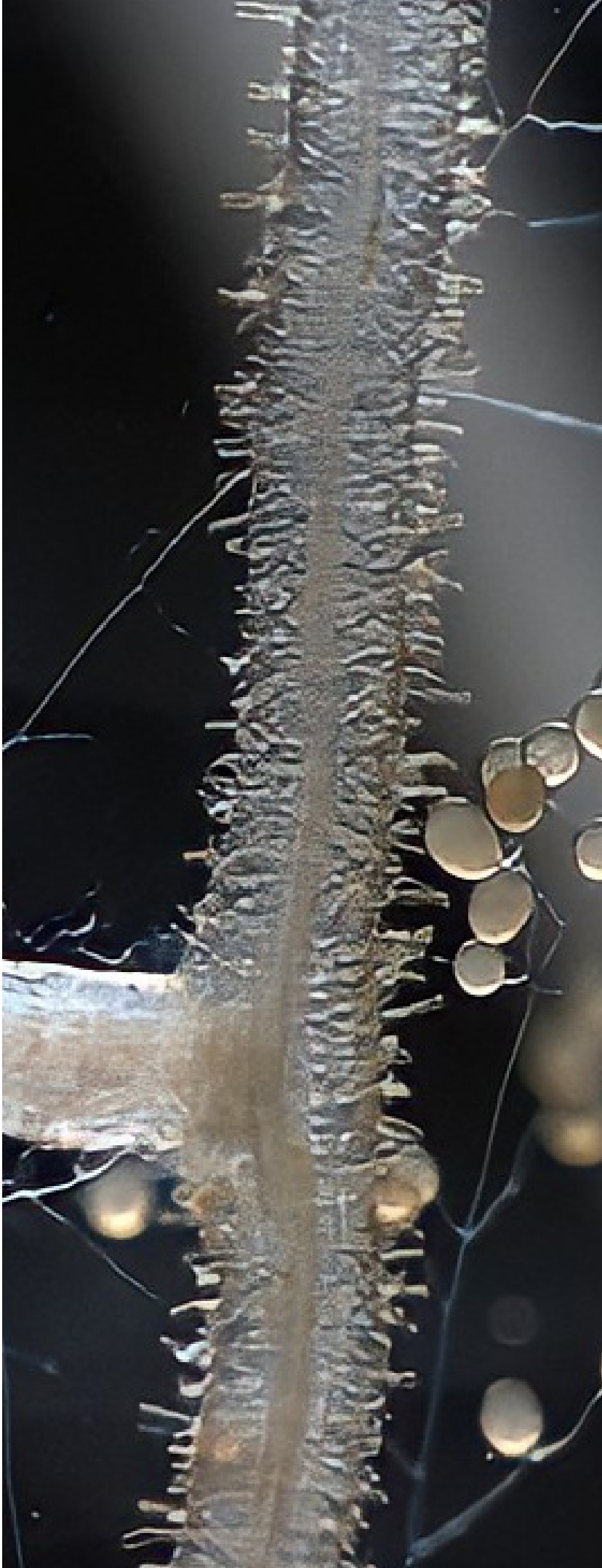


نمودار ۵- سطح برگ درخت سیب در طول دوره آزمایش به رقم بستگی دارد.

بحث

محدود کردن تأثیر منفی تولید میوه بر محیط طبیعی را می‌توان با کاهش مصرف کودها و بهبود کارایی مصرف مواد مغذی به دست آورد که همچنین منجر به کاهش آبشویی عناصر غذایی و تغذیه متعادل‌تر گیاه می‌شود. این امر تولیدکنندگان را مجبور می‌کند تا به دنبال روش‌هایی باشند که از فرآیندهای طبیعی استفاده کنند و به روشی مثبت به گیاهان کمک می‌کنند. هدف ما در این مطالعه تعیین اثر تلقیح قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (AMF) + ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR) بر رشد سیب‌های ارگانیک و تعیین تأثیر آن بر وضعیت تغذیه و رشد درختان بود. در طول تحقیق ما ثابت کردیم که استفاده از تلقیح میکروبیولوژیکی در مراحل اولیه توسعه باغ منجر به تقویت تعامل میکوریزا می‌شود و روش کاربرد تلقیح قارچ‌های میکوریز آربوسکولار که در کار ما شرح داده شد از نظر کلونیزاسیون ریشه توسط AMF بسیار مؤثر بود. در پایان دوره آزمایش، مقادیر فراوانی میکوریزا برای گیاهان تلقیح شده به طور متوسط ۹۴/۷ درصد بیشتر از کرت‌های شاهد بود و تغییرات برای سایر پارامترهای میکوریز حتی بیشتر بود. لازم به ذکر است که یک کلونیزاسیون طبیعی سیستم ریشه گیاه شاهد (تلقیح نشده) توسط قارچ‌های مفید موجود در خاک وجود دارد. این نشان دهنده حضور گسترده میکوریزا در طبیعت است و ثابت می‌کند که در شرایط مزرعه تقریبا غیرممکن است که از تعامل بین گیاه و AMF جلوگیری کرد؛ به ویژه زمانی که محتوای کم فسفات ها و سایر مواد مغذی برهمکنش گیاه و AMF را محدود نمی‌کند.

نرخ نسبتاً بالای ساختارهای AMF در سیستم ریشه نیز بر وضعیت تغذیه گیاه تأثیر می‌گذارد، اما به نظر می‌رسد این اثر همیشه مستقیم نیست و همچنین به عنصر معدنی در نظر گرفته بستگی دارد. در مورد نیتروژن در سال‌های ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳، به استثنای رقم «توپاز»، متوجه شدیم که درختان تلقیح شده غلظت بیشتری از این عنصر را در برگ‌ها نشان می‌دهند. عدم تغییر در سال ۲۰۱۴ ممکن است ناشی از یک اثر رقیق سازی باشد که اغلب به دلیل وضعیت تغذیه‌ای نیتروژن بهتر مشاهده می‌شود، که در مطالعه ما نیز چنین بود. جذب بیشتر نیتروژن تأثیر قابل توجهی بر رشد درختان داشت که توسط سطح مقطع تنه TCSA بیان می‌شود و قدرت کلی درختان را افزایش داد. بعد از چهار سال مشاهده درختان تیمار شده با تلقیح AMF، ۲۴ درصد TCSA بالاتری نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند.



در این آزمایش ما ثابت کردیم که تلقیح PGPR + AMF نه تنها بر اندازه درخت تأثیر می‌گذارد، بلکه باعث افزایش سطح برگ نیز می‌شود. ریشه‌ها به طور گسترده توسط قارچ‌های آربوسکولار کلونیزه می‌شوند.

در مورد پتاسیم که یک همبستگی مثبت قوی با فسفر در ساختارهای میکوریزی دارد، به نظر می‌رسد کاهش محتوای آن در برگ‌های تحت تأثیر تیمار تلقیح، زمینه مشابهی داشته باشد. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل نمونه خاک انجام شده قبل از استقرار آزمایشی نشان داد که سطح پتاسیم پایین و سهم ذرات رس تا ۳۷/۲ درصد بود. در سایت آزمایشی، کانی‌های رسی در خاک که عمدتا از گروه مونتموریلونیت، کائولینیت و ایلیت هستند و به دلیل تمایل بالا به تثبیت قوی پتاسیم در فضاهای بسته معروفند، گاهی منجر به کمبود پتاسیم قابل مشاهده در برگ‌ها می‌شوند. در چنین شرایطی، کمبود پتاسیم در خاک ممکن است نقش محرکی در تغییر رابطه گیاه و AMF در رقابت در مورد جذب این ماده غذایی داشته باشد. محتوای منیزیم بالاتر بدست آمده در برگ درختان سیب تلقیح شده نشان دهنده اثر مفید میکوریزا بر جذب این جزء از خاک است که در سایر مقالات تحقیقاتی نیز تایید شد. برخی از نویسندگان ادعا کردند که تامین بهتر منیزیم گیاهی یک اثر غیرمستقیم مربوط به یکی از مکانیسم‌های انتقال و جذب این عنصر توسط گیاه است. مکانیسمی که می‌تواند مسئول افزایش جذب منیزیم توسط درختان تلقیح شده در آزمایش ما باشد، جذب بهتر آب است که جریان مواد را از طریق خاک به ریشه درختان بهبود می‌بخشد. این یافته را می‌توان با محتوای بالای منیزیم مشاهده شده در خاک، که جذب آن را محدود نمی‌کند، و تغذیه بهتر نیتروژن، که با نرخ تعرق بالاتر همراه است، پشتیبانی کرد.

حضور PGPR در ترکیب میکروبی که در آزمایش خود استفاده کردیم نیز به نظر می‌رسد بر نتایج جمع‌آوری‌شده تأثیر بگذارد. با توجه به آنالیز رگرسیونی که نشان دهنده همبستگی بین پارامترهای میکوریزی و محتوای مواد معدنی برگ بود، باید به این نکته اشاره کرد که مقادیر r۲ مدل رگرسیونی بالاتر از ۰/۵ نبود. این نشان می‌دهد که بهبود کلونیزاسیون AMF تنها عاملی نبود که در مورد تغییر وضعیت تغذیه درختان تلقیح شده و تلقیح نشده تعیین کننده باشد، بلکه PGPR نیز می‌توانست در این آزمایش نقش ایفا کند. نتایج مربوط به میزان فسفر و نیتروژن در برگ‌ها همچنین ممکن است نشان دهد که رقم «توپاز» در مقایسه با سایر گونه‌های سیب مورد استفاده به طور طبیعی چنین پاسخ رشد میکوریزی قوی را نشان نمی‌دهد. فقدان گزارشی در مورد این پدیده در درختان میوه وجود دارد، و پاسخ رشد میکوریزی عمدتاً در سطح گونه‌های گیاهی منفرد مورد بحث قرار می‌گیرد.

اغلب اوقات اثر مفیدی از PGPR و AMF در کشاورزی ارگانیک مشاهده نمی‌شود؛ زیرا برخی اصلاحات ارگانیک در حال حاضر چندین جامعه میکروبی را تامین می‌کنند یا ممکن است جوامع میکروبی طبیعی را ارتقا دهند. در طول این کارآزمایی چهار ساله، ما تایید کردیم که میکوریزا یک پدیده گسترده است و کلونیزاسیون ریشه درخت سیب توسط AMF طبیعی در شرایط ارگانیک به طور طبیعی و صرف نظر از چوب پیوندک استفاده شده رخ می‌دهد. استراتژی تلقیح مصنوعی درختان با AMF حضور ساختارهای میکوریزی را در ریشه‌ها افزایش می‌دهد و رشد قوی‌تر و جذب بهتر منیزیم را در نتیجه تغذیه درختان با نیتروژن بهبود می‌بخشد. بر اساس نتایج مطالعه ما ، همچنین باید در عمل از تلقیح PGPR + AMF عمدتا برای بهبود وضعیت تغذیه درختان از نظر نیتروژن و منیزیم استفاده شود، به شرطی که خاک با کمبود پتاسیم روبرو نباشد.

منابع

Przybyłko, Sebastian, Wojciech Kowalczyk, and Dariusz Wrona. 2021. «The Effect of Mycorrhizal Fungi and PGPR on Tree Nutritional Status and Growth in Organic Apple Production» Agronomy 11, no. 1402 :7. https://doi.org/10.3390/agronomy11071402