

تأثیر قارچ‌های میکوریزا- آربسکولار بر رشد رویشی گیاه شبدر برسیم تحت سطوح مختلف لجن

فاضلاب

نوید قنواتی^{۱*}، حبیب الله نادیان^۲، عبدالامیر معزی^۳ و فرهاد رجالی^۴

(۱) دانش‌آموخته دکتری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، گروه خاکشناسی، خوزستان، ایران.

(۲) دانشیار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، گروه خاکشناسی، خوزستان، ایران.

(۳) دانشیار دانشگاه شهید چمران، دانشکده کشاورزی، گروه خاکشناسی، اهواز، ایران.

(۴) استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات خاک و آب تهران، تهران، ایران.

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد است.

* نویسنده مسئول: Navid_989@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۷/۰۴

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۴/۰۳

چکیده

به منظور بررسی اثر قارچ‌های میکوریزا- آربسکولار بر رشد رویشی در گیاه شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum* L.) تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب، آزمایشی گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با دوازده تیمار و سه تکرار به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایش ترکیبی از سه سطح قارچ میکوریزا ($M_0 = \text{عدم تلقیح}$ و $M_m = \text{Glomus mosseae}$ ، $M_i = \text{Glomus intraradices}$) و چهار سطح لجن فاضلاب ($S_0=0$ ، $S_1=25$ ، $S_2=50$ و $S_3=100$ تن در هکتار) بودند. نتایج نشان داد که افزودن لجن فاضلاب وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، طول ریشه و وزن گره‌ها در گیاه شبدر را به صورت معنی‌داری افزایش داده ولی درصد کلنی‌سازی ریشه‌ها را به صورت معنی‌داری کاهش داده است. تلقیح ریشه گیاه شبدر با هر دو گونه قارچ میکوریزا آربسکولار نسبت به عدم تلقیح بر اکثر شاخص‌های رویشی گیاه مورد نظر تأثیر مثبت و معنی‌داری داشته است.

واژه‌های کلیدی: قارچ میکوریزا، لجن فاضلاب، شبدر.

مقدمه

شبدر برسیم یا شبدر مصری از خانواده بقولات یا لگومینوز با نام علمی *Trifolium alexandrinum* L. می‌باشد. کشت این گیاه در دهه‌های ۶۰ و ۷۰ در ایران متداول شده و هم اکنون سطح زیر کشت آن در کشور به بیش از ۵۰ هزار هکتار است. شبدر برسیم یکی از با ارزش‌ترین علوفه‌های موجود برای تغذیه دام می‌باشد. درصد پروتئین شبدر برسیم را تا ۲۰/۹۶ درصد گزارش داده‌اند و چنانچه تولید ۳۰ تن علوفه تر در هکتار مبنای محاسبه قرار گیرد و فقط پروتئین حاصل از آن محاسبه گردد در هر دوره تولید حدود ۶۵۰ کیلوگرم پروتئین خالص از کشت یک هکتار شبدر برسیم به دست می‌آید.

قارچ‌های میکوریزا دارای رایج‌ترین و با سابقه‌دارترین همزیستی با سلسله گیاهی می‌باشند و از عوامل ضروری در سیستم پایدار خاک - گیاه محسوب می‌شوند (Schreiner et al., 2003). قارچ‌های میکوریزا با ریشه‌ی بیش از ۹۷ درصد گیاهان همزیستی دارند (Smith and Read, 2008). قدمت قارچ‌های میکوریزا در اکوسیستم خشکی به بیش از ۴۶۰ میلیون سال می‌رسد (Rillig, 2004).

قارچ میکوریزا آربسکولار از نظر کشاورزی اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد زیرا اغلب گیاهان زراعی و باغی دارای این نوع میکوریزا هستند. در این همزیستی گیاه و قارچ از یکدیگر سود می‌برند. مهم‌ترین و بارزترین اثر مفید قارچ‌های میکوریزا، افزایش رشد گیاه میزبان است که معمولاً به واسطه افزایش جذب عناصر غیرمتحرک از خاک صورت می‌گیرد. این همزیستی سبب تسریع تبادل عناصر غذایی بین گیاه میزبان و قارچ می‌شود (Li et al., 1991). از این رو استفاده از این همزیستی در گیاهان استراتژیک و مهم، که سطح کشت وسیعی در ایران دارند، می‌تواند بسیار مفید باشد.

هم‌چنین، این قارچ سبب بهبود جذب نیتروژن، پتاسیم، منیزیم، مس و روی در خاک‌های فقیر می‌شود. مزیت قارچ میکوریزا افزایش منطقه تخلیه عناصر غذایی به وسیله ریشه‌های میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی می‌باشد (Smith and Read, 2008). نتایج بررسی Gyaneshwar و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که قارچ‌های میکوریزا راهکاری ارزان و کم انرژی جهت کمک به افزایش اثر بخشی زراعی سنگ فسفات می‌باشند. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد که ریشه‌های گیاهان میکوریزایی قادر به استفاده از منابع نامحلول فسفر در خاک که قابل دسترس ریشه گیاه نیستند می‌باشند (Cabello et al., 2005; Duponnois et al., 2005).

کریمی نژاد و نادیان (۱۳۸۲) گزارش نمودند که قارچ‌های میکوریزا جذب عناصر غذایی کم تحرک به خصوص فسفر و روی را در گیاهان میکوریزایی افزایش داده که نشان دهنده نقش بسیار مثبت همزیستی میکوریزایی بر روی رشد گیاهان میزبان به خصوص در شرایط وجود تنش‌های محیطی (تنش رطوبتی، شوری و کمبود عناصر غذایی ضروری در خاک) می‌باشد.

Alizadeh (۲۰۰۵) گزارش نمود که در ذرت، تیمار میکوریزی از نظر ماده خشک بخش هوایی گیاه و ریشه یک افزایش نسبی نسبت به تیمارهای بدون میکوریزا مشاهده شد. موسوی جنگلی و همکاران (۱۳۸۴) گزارش نمودند، قارچ‌های میکوریزا

پس از همزیست شدن با گیاهان میزبان بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژی و بیوشیمی گیاه تأثیر گذاشته و موجب بهبود رشد و نمو آن می‌شود.

لجن فاضلاب به عنوان کود آلی در زمین‌های کشاورزی، فواید اقتصادی بیشماری دارد لجن فاضلاب بر خواص شیمیایی و غلظت عناصر پرمصرف در خاک اثر می‌گذارد. طی تحقیقات انجام شده در این راستا نتیجه‌گیری شد که لجن فاضلاب باعث افزایش معنی‌دار فسفر و پتاسیم قابل جذب، نیتروژن کل، درصد مواد آلی، هدایت الکتریکی و ظرفیت تبادل کاتیونی خاک‌ها گردید (Yan et al., 2007).

لجن فاضلاب می‌تواند بخش بزرگی از نیتروژن مورد نیاز محصولات را تأمین کند. در حالی که Epstien و همکاران (۱۹۷۶) گزارش کردند که افزودن لجن به خاک، فسفر قابل جذب گیاه در خاک را افزایش می‌دهد. در حالی که افزایش ماده آلی توانایی خاک را در جذب فسفر کاهش می‌دهد؛ زیرا اسیدهای آلی حاصل از این مواد به صورت تبادل لیگاندی، جذب سطح شده و برای محل‌هایی که جذب صورت می‌گیرد؛ با فسفر رقابت می‌کند. پتاسیم یکی دیگر از عناصر پرمصرف گیاهی است که البته غلظت آن در لجن فاضلاب نسبت به ازت و فسفر کمتر و در حدود چند دهم درصد است. بنابراین پتاسیمی که از این طریق وارد خاک می‌شود، تأمین کننده نیاز گیاه نبوده و برای تأمین نیاز گیاه به این عنصر علاوه بر مصرف لجن باید از منابع شیمیایی نیز استفاده شود (واثقی و همکاران، ۱۳۸۴).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات قارچ میکوریزا آربسکولار بر رشد رویشی، جذب عناصر غذایی در شبدر برسیم تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب، آزمایشی گلخانه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی بهبهان واقع در ۲۰۰ کیلومتری جنوب شرقی اهواز با ارتفاع ۳۰۵ از سطح دریا و طول جغرافیایی ۵۰/۲۶ درجه و ۳۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰/۵۹ درجه و ۴۲ دقیقه شمالی اجرا شد. به منظور بررسی اثر قارچ‌های میکوریزا- آربسکولار بر رشد رویشی در گیاه شبدر برسیم (*Trifolium alexandrum* L.) تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب، آزمایشی گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با دوازده تیمار و سه تکرار به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایش ترکیبی از سه سطح قارچ میکوریزا ($M_0=Glomus intraradices$ ، $M_1=Glomus mosseae$ و $M_m=Glomus mosseae$) و چهار سطح لجن فاضلاب ($S_0=0$ ، $S_1=25$ ، $S_2=50$ و $S_3=100$ تن در هکتار) بودند. به منظور اجرای آزمایش ابتدا بذور شبدر توسط محلول ۱۰٪ هیپوکلریک سدیم ضد عفونی و استریل شد. پس از شستشوی کامل با آب مقطر، در داخل پتری دیش بر روی کاغذ صافی مرطوب به تعداد ۲۰ تا ۲۵ عدد بذور شبدر برسیم در هر پتری دیش قرار داده شده، پتری دیش‌ها به مدت ۳ روز در داخل اتاقک رشد قرار گرفت تا بذور شبدر کاملاً جوانه بزنند. در این مدت جوانه‌های شبدر به طول ۱/۵ الی ۲ سانتی‌متر رشد کردند.

گلدان‌های آزمایش قبل از استفاده با هیپوکلریک سدیم ضد عفونی و با آب مقطر شسته شدند. سپس با توجه به حجم گلدان‌ها ۴ کیلوگرم خاک استریل که به طور کامل و یکنواخت با ماسه مخلوط شد (جدول ۱) و هم‌زمان عمل تلقیح با ۲۰ گرم مایه تلقیحی که از کشت ۱۰۰ روزه سورگوم آلوده شده با دو نوع قارچ فوق‌الذکر بطور مجزا در موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردیده بود: با توجه به اهداف تحقیق و به منظور اعمال تیمارها، از لجن فاضلاب استریل شده به مقدار لازم توزین و به گلدان‌ها اضافه گردید. در مرحله بعد گلدان‌ها آماده و کدبندی شده و به گلخانه منتقل و توسط یک میله شیشه‌ای ۶ عدد حفره به عمق ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر در گلدان‌ها ایجاد شد، سپس مایه تلقیح در کف هر حفره قرار داده شد و سپس دو عدد جوانه ریشه گیاهچه‌های شبدر در ۳۶ گلدان در هر حفره بر روی مایع تلقیح کاشته شدند. در طول دوره رشد گیاهان، مراقبت‌های لازم از قبیل میزان نور، دما و رطوبت اعمال شد. آزمایش بسته به میزان رشد گیاهان به مدت ۱۲ هفته ادامه یافت. در طول این مدت ویژگی‌های رشد مانند ارتفاع، طول ساقه و شاخص سطح برگ اندازه‌گیری شد.

در پایان آزمایش، وزن خشک اندام‌های هوایی (شامل برگ و سایر اندام‌ها) و ریشه‌ها به طور جداگانه (با شستشو و قرار دادن در آون در درجه حرارت ۶۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت) و سپس اندازه‌گیری وابستگی میکوریزایی صورت گرفت.

قبل از خشک کردن ریشه‌ها آنها را به طور کامل شسته و طول کل ریشه‌های تغذیه‌کننده (قطر کوچک‌تر از ۲ میلی‌متر) با استفاده از روش لاین-اینترسکت اندازه‌گیری شد (Tennant, 1975). درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها با قارچ نیز پس از رنگ‌آمیزی آن‌ها با ترای-پن-بلو با روش گریدلاین-اینترسکت تعیین شد (Phillip and Hayman, 1970). هم‌چنین به منظور تعیین غلظت عناصر غذایی گیاه، پس از آسیاب نمودن گیاه خشک شده، نمونه‌ای یک گرمی از هر تیمار در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شده و سپس در ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک دو نرمال حل و پس از عبور دادن از کاغذ صافی با اضافه نمودن آب مقطر، حجم را به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و با استفاده از روش رنگ سنجی، غلظت فسفر به روش مورفی و ریلی اندازه‌گیری شد (Murphy and Riley, 1962). غلظت پتاسیم نیز با دستگاه فلیم فتومتر تعیین گردید. بعد از برداشت گیاهان، از خاک گلدان‌ها نمونه‌برداری شد. نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه هوا خشک شده، نمونه‌ها به طور جداگانه کوبیده، از الک ۲ میلی‌متری گذرانده و خواص شیمیایی آنها به شرح زیر تعیین گردید.

هدایت الکتریکی نمونه‌های خاک در عصاره اشباع و pH گل اشباع اندازه‌گیری شد (McLean, 1982). اندازه‌گیری ماده آلی به روش اکسایش تر صورت می‌گیرد (Walkley and Black, 1934). غلظت پتاسیم و فسفر خاک و لجن فاضلاب به ترتیب توسط دستگاه‌های فلیم فتومتر و اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

به منظور انجام تجزیه‌های آماری از نرم‌افزار SPSS و MSTATC استفاده شد. هم‌چنین برای انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای توکی (HSD) استفاده گردید. برای رسم نمودارها و برخی روابط رگرسیونی از نرم‌افزار Excel بهره‌گیری شد.

جدول ۱: برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و لجن فاضلاب مورد استفاده در این آزمایش

پارامترهای اندازه‌گیری شده	واحد	خاک	لجن فاضلاب
pH	-	۷/۴۲	۷/۷۱
قابلیت هدایت الکتریکی	dS m^{-1}	۳/۵۱	۱۰/۹۰
ماده آلی	%	۰/۶۹	۱۰/۸۱
نیتروژن	%	۰/۰۵	۰/۳۶
فسفر	mg kg^{-1}	۹/۰۱	۱۳/۰۱
پتاسیم	mg kg^{-1}	۹۶/۰۱	۴۴۰

نتایج و بحث

تأثیر تلقیح با قارچ و لجن فاضلاب بر میزان کلنی سازی ریشه گیاه شبدر

نتایج جدول ۲ نشان داد که اثرات اصلی تلقیح با قارچ میکوریزا و سطوح لجن فاضلاب و نیز برهمکنش‌های آنها بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح ۱٪ معنی‌دار بودند.

مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی نشان داد که تلقیح گیاه شبدر با دو گونه قارچ میکوریزا نسبت به عدم تلقیح، درصد کلنی‌سازی ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داد و بین دو گونه قارچ نیز اختلاف معنی‌دار ملاحظه گردید. تلقیح ریشه‌ها با دو قارچ *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* نسبت به عدم تلقیح، کلنی‌سازی ریشه را افزایش داد.

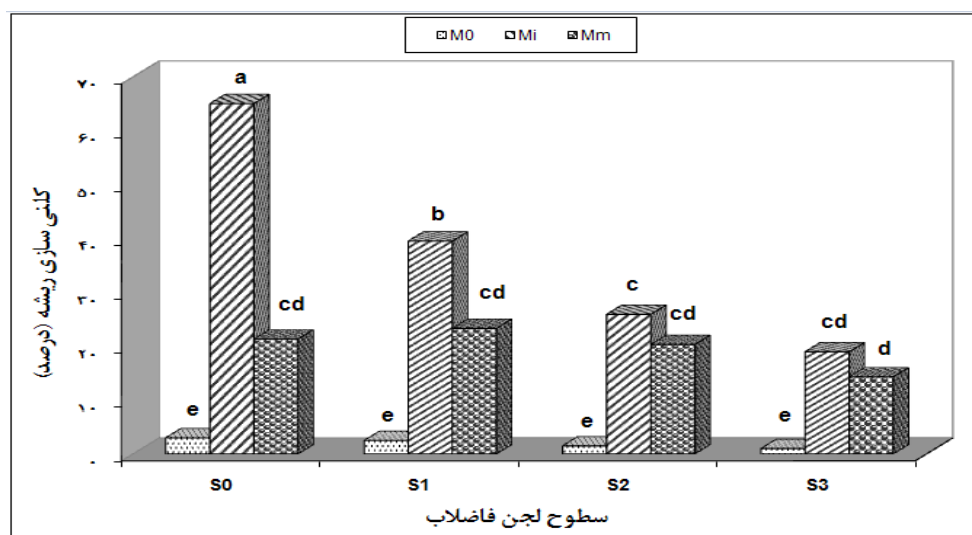
سطوح لجن فاضلاب سبب کاهش معنی‌دار کلنی‌سازی ریشه شد و با افزایش میزان لجن فاضلاب، کاهش ملاحظه شده بیش‌تر بود، به طوری که تحت سطوح کم (S_1)، متوسط (S_2) و زیاد (S_3) نسبت به شرایط بدون مصرف لجن، کلنی‌سازی به ترتیب به میزان ۷/۸۷٪، ۱۳/۳۷٪ و ۱۷/۶۹٪ کاهش یافتند.

مقایسه میانگین برهمکنش توأم دو فاکتور نشان داد که بیش‌ترین درصد کلونیزاسیون ریشه در تیمار M_1S_0 و کم‌ترین آن به تیمار M_0S_3 اختصاص یافت. با افزایش سطوح لجن هم گیاه تلقیح شده با دو گونه قارچ و هم گیاه تلقیح نشده، درصد کلنی‌سازی ریشه را کاهش دادند (شکل ۱).

جدول ۲: تجزیه واریانس تأثیر دو نوع قارچ میکوریزا و سطوح لجن فاضلاب بر کلنی سازی و وزن گره ریشه گیاه شبدر

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن گره	کلنی سازی ریشه		
۰/۱۲**	۸۳۹۳/۶۷**	۲	قارچ میکوریزا (M)
۰/۴۹**	۱۵۷۳/۴۹**	۳	سطوح لجن فاضلاب (S)
۰/۰۶**	۲۲۷۹/۹۴**	۶	M×S
۰/۰۶۵	۵۰۰/۴۴	۲۴	خطا

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.



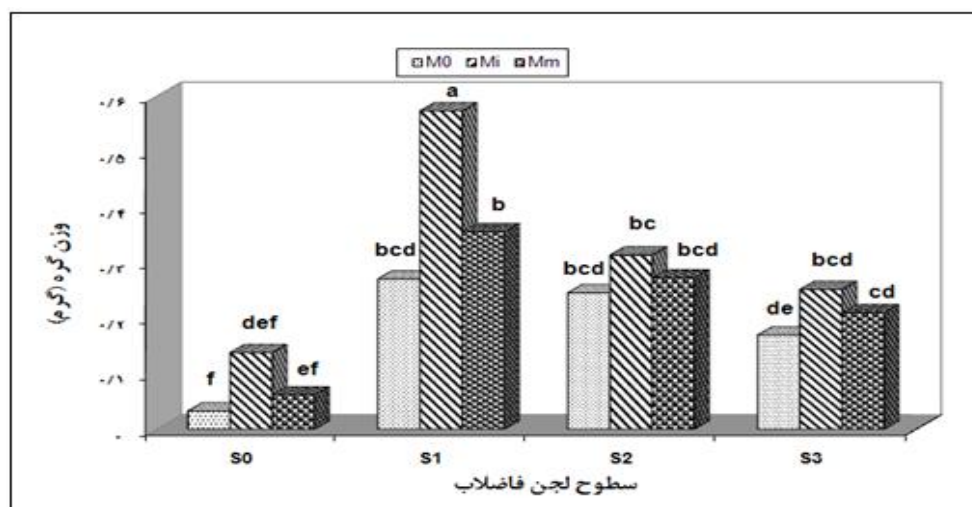
شکل ۱: تأثیر برهمکنش سطوح لجن فاضلاب و تلقیح یا عدم تلقیح با قارچ میکوریزا بر درصد کلونی سازی ریشه

وزن گره گیاه شبدر

نتایج جدول ۲ نشان داد که اثرات اصلی تلقیح با قارچ میکوریزا و سطوح لجن فاضلاب و نیز برهمکنش آن‌ها بر وزن گره در سطح ۱٪ معنی‌دار بود.

سطوح لجن فاضلاب سبب افزایش معنی‌داری بر وزن گره نسبت به تیمار بدون مصرف لجن فاضلاب داشته است. به طوری که با افزایش لجن نسبت به شرایط بدون مصرف لجن، به ترتیب وزن گره، به میزان ۲۴۱/۸٪، ۱۳۷/۶٪ و ۷۹/۴٪ افزایش یافت. اما بین سطح S₂ و S₃ مصرف لجن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

شکل ۲ نشان داد که تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب، تیمارهای M_m و M_i نسبت به شاهد (M₀)، وزن گره را بهبود بخشیدند به طوری که بیش‌ترین وزن گره، به تیمار M_iS₁ و کم‌ترین آن به تیمار M₀S₀ اختصاص یافت.



شکل ۲: تأثیر برهمکنش سطوح لجن فاضلاب و تلقیح یا عدم تلقیح با قارچ میکوریزا بر وزن گره ریشه

در همین رابطه Kapoor و همکاران (۲۰۰۴) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها مشاهده کردند که درصد همزیستی ریشه در تلقیح با دو گونه قارچ میکوریزا *G.fasiculatum* (۸۴٪) و *G.macrocarpum* (۸۰٪) به طرز چشمگیری بیش‌تر از عدم تلقیح (۱۰٪) گردید. در پژوهش دیگر Gupta و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز نشان دادند که تلقیح یک گونه از قارچ میکوریزا (*G.fasiculatum*)، با ریشه نعناع، سبب افزایش محسوس درصد همزیستی گردید.

Sullivan و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که با افزایش میزان لجن فاضلاب درصد کلنی‌سازی قارچ‌های میکوریزا کاهش یافته که این اثر ممکن است مستقیماً به دلیل فراهمی عناصر غذایی و یا به صورت غیر مستقیم از طریق تأثیر لجن فاضلاب بر جامعه گیاهی باشد. همچنین Arriagada و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیق خود مشاهده کردند که در تمام سطوح لجن فاضلاب درصد کلنی‌سازی قارچ میکوریزا کاهش یافته است.

تأثیر تلقیح با قارچ و سطوح لجن فاضلاب بر ویژگی‌های رشد گیاه شبدر

وزن خشک اندام هوایی گیاه شبدر

نتایج جدول ۳ نشان داد که اثرات اصلی تلقیح با قارچ میکوریزا و سطوح لجن فاضلاب بر وزن خشک اندام هوایی در سطح

۱٪ معنی‌دار بود ولی برهمکنش‌های آنها معنی‌دار نبود.

نتایج جدول ۴ نشان داد که تلقیح گیاه شبدر با دو گونه قارچ میکوریزا نسبت به عدم تلقیح، وزن خشک اندام هوایی را به طور معنی‌داری افزایش داد. در ارتباط با وزن خشک اندام هوایی، گیاهان کلونی شده با گونه *lomus intraradices* (Mi) برتری معنی‌داری نسبت به گیاهان کلنی شده با *Glomus mosseae* (Mm) داشتند که نشان دهنده برتری این گونه در تجمع ماده خشک گیاهان همزیست بوده است.

سطوح لجن فاضلاب سبب افزایش معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی نسبت به تیمار بدون مصرف لجن فاضلاب داشته است. به طوری که با افزایش لجن نسبت به شرایط بدون مصرف لجن، به ترتیب وزن خشک اندام هوایی، به میزان $۰.۶۴/۵$ ، $۰.۱۰۵/۶$ و $۰.۷۱/۶$ افزایش یافت اما بین سطوح S_1 و S_3 مصرف لجن فاضلاب اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین با افزایش میزان مصرف لجن در سطح S_3 میزان عملکرد نسبت به سطح S_2 کاهش پیدا کرده است (جدول ۴).

شکل ۳ نشان داد که تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب، تیمارهای M_i و M_m نسبت به شاهد (M_0)، وزن خشک اندام هوایی را بهبود بخشیدند. به طوری که بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی، به تیمار M_iS_2 و کم‌ترین آن به تیمار M_0S_0 اختصاص یافت.

جدول ۳: تجزیه واریانس برخی صفات رشد رویشی در گیاه شبدر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		وزن خشک اندام هوایی	وزن ریشه	طول ریشه
قارچ میکوریزا (M)	۲	$۱۰۸/۱۳^{**}$	$۹/۰۱^{**}$	$۲/۵۶E^{**}$
سطوح لجن فاضلاب (S)	۳	$۶۵/۲۸^{**}$	$۴/۳۹^{**}$	$۱/۰۸E^{**}$
M×S	۶	$۸/۵۶^{ns}$	$۰/۸۸۷^{**}$	$۲/۷۱E^{*}$
خطا	۲۴	$۱۸/۷۱$	$۶۸/۷۱$	$۳/۸۸E^{*}$

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول ۴: مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمارهای آزمایشی بر صفات رشد رویشی گیاه شبدر

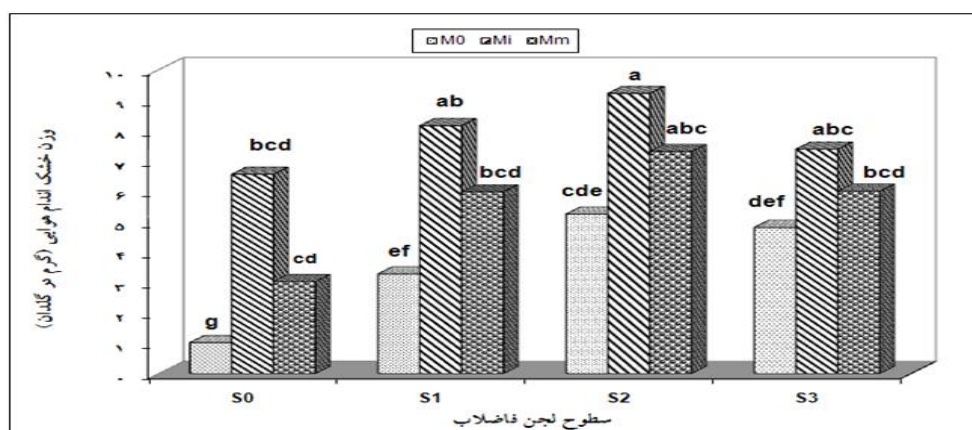
تیمار	وزن خشک اندام هوایی (گرم در هر گلدان)	وزن ریشه (گرم در هر گلدان)	طول ریشه (سانتی‌متر در هر گلدان)
تلقیح با قارچ میکوریزا (M)			
M_0	$۳/۵۹a$	$۰/۶۳۹a$	$۵۰۸۲/۴۳a$
M_i	$۷/۸۳b$	$۱/۸۶b$	$۱/۱۵E^{*}b$
M_m	$۵/۵۸c$	$۱/۱۶c$	$۷۵۳۶/۴۳c$
سطوح لجن فاضلاب (S)			
S_0	$۳/۵۳a$	$۰/۷۶۷a$	$۵۴۵۵/۴۹a$
S_1	$۵/۸۱b$	$۱/۵۱b$	$۹۲۸۴/۸۵b$
S_2	$۷/۲۶c$	$۱/۶b$	$۹۹۴۳/۴۹b$
S_3	$۶/۰۶d$	$۰/۹۹۸c$	$۷۵۴۶/۹۵c$

حروف مشابه در هر ستون به منزله عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

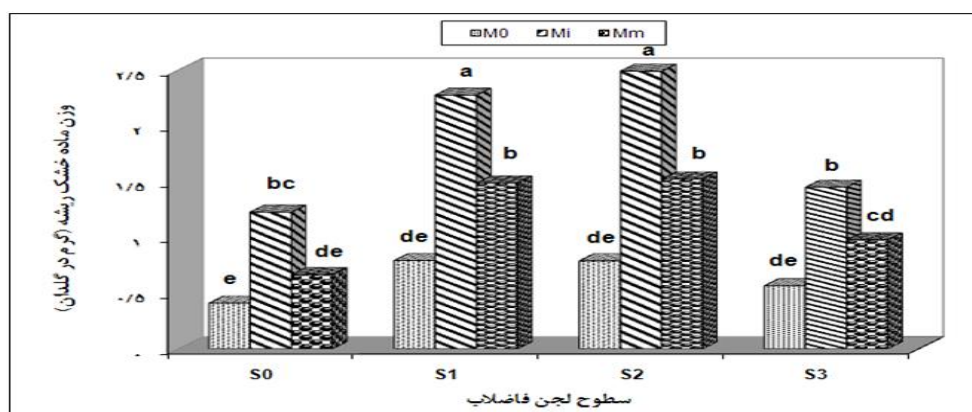
وزن ماده خشک ریشه گیاه شبدر

نتایج جدول ۳ نشان داد که اثرات اصلی تلقیح با قارچ میکوریزا و سطوح لجن فاضلاب و نیز برهمکنش‌های آنها بر وزن ماده خشک ریشه در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشد.

نتایج جدول ۴ نشان داد که تلقیح گیاه شبدر با دو گونه قارچ میکوریزا نسبت به عدم تلقیح، وزن ماده خشک ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داد. به طوری که میانگین وزن ماده خشک ریشه در تیمار M_i و M_m نسبت به شاهد (M_0) به ترتیب ۱۹۱٪ و ۸۱٪ افزایش یافت. سطوح لجن فاضلاب سبب افزایش معنی‌داری در وزن ماده خشک ریشه نسبت به تیمار بدون مصرف لجن فاضلاب گردید. به طوری که با افزایش لجن نسبت به شرایط بدون مصرف لجن، به ترتیب وزن ماده خشک ریشه، به میزان ۹۶/۸٪، ۱۰۸/۶٪ و ۳۰٪ افزایش یافت اما بین سطح S_1 و S_2 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). مقایسه میانگین برهمکنش دو فاکتور نشان داد که تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب، تیمارهای M_i و M_m نسبت به شاهد (M_0)، وزن ماده خشک ریشه را بهبود بخشیدند به طوری که بیش‌ترین وزن خشک ریشه، به تیمار $M_i S_2$ و کم‌ترین آن به تیمار $M_0 S_0$ اختصاص یافت (شکل ۴).



شکل ۳: تأثیر برهمکنش سطوح لجن فاضلاب و تلقیح یا عدم تلقیح با قارچ میکوریزا بر وزن خشک اندام هوایی



شکل ۴: تأثیر برهمکنش سطوح لجن فاضلاب و تلقیح یا عدم تلقیح با قارچ میکوریزا بر وزن خشک ریشه

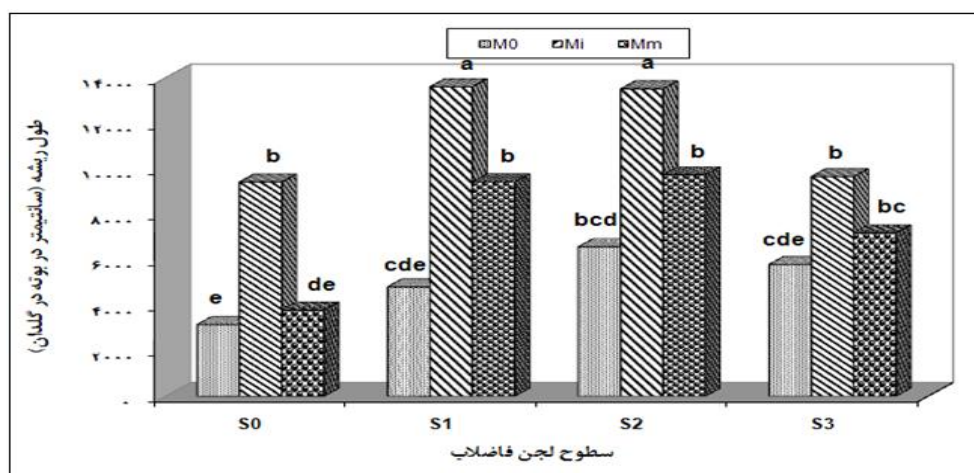
طول ریشه گیاه شبدر

نتایج جدول ۳ نشان داد که اثرات اصلی تلقیح با قارچ میکوریزا و سطوح لجن فاضلاب بر طول ریشه در سطح ۱٪ و برهمکنش آنها در سطح ۵٪ معنی‌دار بود.

نتایج جدول ۴ نشان داد که تلقیح گیاه شبدر با دو گونه قارچ میکوریزا (*Glomus intraradices* (M_i) و *Glomus mosseae* (M_m) به طور معنی‌داری طول ریشه را افزایش دادند. به طوری که میانگین طول ریشه در تیمار M_m و M_i نسبت به شاهد (M_0) به ترتیب ۴۸٪ و ۱۲۶٪ افزایش یافت.

سطوح لجن فاضلاب سبب افزایش معنی‌داری بر طول ریشه نسبت به تیمار بدون مصرف لجن فاضلاب داشته است. به طوری که با افزایش لجن نسبت به شرایط بدون مصرف لجن، به ترتیب طول ریشه، به میزان ۷۰٪/۲، ۷۳٪/۱ و ۳۸٪ افزایش یافت (جدول ۴).

شکل ۵ نشان داد که تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب، تیمارهای M_m و M_i نسبت به شاهد (M_0)، طول ریشه را بهبود بخشیدند به طوری که بیش‌ترین طول ریشه، به تیمار M_iS_1 و کم‌ترین آن به تیمار M_0S_0 اختصاص یافت.



شکل ۵: تأثیر برهمکنش سطوح لجن فاضلاب و تلقیح یا عدم تلقیح با قارچ میکوریزا بر طول ریشه

یافته‌های Gupta و همکاران (۲۰۰۲) نیز مشخص کرد که همزیستی قارچ میکوریزا با گیاه نعنای از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی موجب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب افزایش بیشتر و بهبود عملکرد گردید. نتایج تحقیقات Kapoor و همکاران (۲۰۰۲) روی شوید، Gupta و Janardhanan (۱۹۹۱) و Ratti و همکاران (۲۰۰۱) مؤید این مطلب است که همزیستی میکوریزایی سبب بهبود عملکرد در گیاهان مورد مطالعه شده است.

افزایش در اکثر شاخص‌های رویشی در گیاه شبدر تحت سطوح مختلف لجن فاضلاب از دیگر نتایج این تحقیق است. مطابق اظهارات Antolin و همکاران (۲۰۰۵) افزایش رشد گیاهان ممکن است به دلیل افزایش معدنی شدن عناصر غذایی

باشد. Khan و Scullion (۲۰۰۰) نیز معدنی شدن نیتروژن لجن فاضلاب را یکی از دلایل افزایش رشد گیاهان برشمردند. در حقیقت تلقیح با قارچ میکوریزا در حضور لجن فاضلاب دارای اثرات مختلفی بر رشد گیاهان می باشد که این امر ممکن است به دلیل فراهمی بالای فسفر در لجن فاضلاب و یا رشد متوسط گیاه مورد نظر ایجاد شود (Eason et al., 1999; Kourtev et al., 2003; Arriagada et al., 2007).

Bestel-Corre و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نمود که کاربرد لجن فاضلاب در گیاه *Medicago truncatula* تلقیح شده با قارچ *G.mosseae* عملکرد بیش تری نسبت به تیمار بدون تلقیح داشته است.

Cavender و همکاران (۲۰۰۳) در پژوهشی بر روی گیاه سورگوم دانه ای، مشاهده نمودند که کاربرد توأم میکوریزا و کمپوست لجن فاضلاب موجب افزایش محسوس عملکرد گردید. آن ها اظهار داشتند که این افزایش ناشی از اثر مستقیم کمپوست لجن فاضلاب بر درصد همزیستی میکوریزایی نبوده، بلکه حاصل از اثر عناصر غذایی موجود در کمپوست لجن فاضلاب بر روی توسعه و تحرک رشد گیاه میزبان بوده است. نتایج مطالعات برخی از محققین دیگر در رابطه با مصرف لجن فاضلاب بر بهبود عملکرد گیاهان مختلف نیز مؤید همین مطلب است (Smith and Read, 1997; Kourtev et al., 2003).

منابع

- کریمی نژاد، م. و نادیان، ح. ۱۳۸۲. بررسی جذب عناصر فسفر، روی و کادمیم توسط شبدر تلقیح شده با قارچ های میکوریزایی و زیکولار آریسکولار گونه *Glomus interaradices*. مجموع هشتمین کنگره علوم خاک ایران. جلد اول. ۵۵۲ صفحه.
- موسوی جنگلی، ب، شریفی، م. و حسینی نژاد، ز. ۱۳۸۴. بررسی تأثیر حل کننده فسفات و قارچ های میکوریزا در عملکرد و اجزای عملکرد ذرت دانه ای (رقم سینگل کراس ۷۰۴). فصلنامه علمی دانش کشاورزی ایران. جلد ۱. شماره ۱، ص ۴۶-۶۰.
- واثقی، س،، افیونی، م،، شریعتمداری، ح. و مبلی، م. ۱۳۸۴. اثر لجن فاضلاب بر غلظت تعدادی از عناصر غذایی و ویژگی های شیمیایی خاک. فصلنامه آب و فاضلاب اصفهان، ۵۳: ۷۲-۸۰.

-Alizadeh, A. 2005. Effects of different levels of nitrogen and drought stress absorption and mycorrhizal symbiosis in maize. Ph.D. Thesis Islamic Azad University. Research and Science Unit. Ahvaz. Iran (In Persian with English abstract), 23: 68-82.

-Antolin, M.C., Pascual, I., Garcia, C., Polo, A. and Sanchez-Diaz, M. 2005. Growth, yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. Field Crops Res, 94:224-37.

- Arriagada, C.A., Herrera, M.A., Borie, F. and Ocampo, J.A., 2007. Contribution of arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi to the aluminum resistance of *Eucalyptus globulus*. *Water Air Soil Pollut*, 182: 383–94.
- Arriagada, C., Sampedro, I., Garcia-Romer, I. and Ocampo, J. 2009. Improvement of growth of *Eucalyptus globules* and soil biological parameters by amendment with sewage sludge and inoculation with arbuscular mycorrhizal and saprobr fungi. *Science of the Total Environment*, 407: 4799-4806.
- Bestel-Corre, G., Gianinazzi, S. and Dumas-Gaudot, E. 2004. Impact of sewage sludges on *Medicago truncatula* symbiotic proteome. *Phytochemistry*, 65:1651–9.
- Cabello, M., Irrazabal, G., Bucsinszky, A.M., Saparrat, M. and Schalamuk, S. 2005. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*, and a rock phosphate solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soil less medium. *J. Basic Microbial*, 45:182-189.
- Cavender, N.D., Atiyeh, R.M. and Knee, M. 2003. Sewage sludge stimulates mycorrhizal colonization of roots of sorghum bicolor at the expense of plant growth. *Pedobiologia*, 47: 85-89.
- Duponnois, R., Colombet, A., Hien. V. and Thioulouse, J. 2005. The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biol. Biochem*, 37:1460-1468.
- Eason, W., Scullion, J., Scott, E.P. 1999. Management and site factors affecting mycorrhizal effectiveness. *Agr Ecosyst Environ*, 73:245–55.
- Epstien, E., Tylor, J.M. and Chaney, R.L. 1976. "Effect of Sewage Sludge Compost Applied to Soil on Some Soil Physical Properties." *J. Environ. Qual.*, (55), 422-426.
- Gupta, M.L. and Janardhanan, K.K. 1991. Mycorrhizal association of *Glomus aggregatum* with palmarosa enhances growth and biomass. *Plant and Soil*, 131: 261-263.
- Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M. and Kumar, S. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technol*, 81: 77-79.
- Gyaneshwar, P., Kumar, G.N., Parekh, L.J. and Poole, P.S. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil*, 245:83-93.

- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G. 2002. *Glomus macrocarpum*: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in Dill (*Anethum graveolens* L.) and carum (*Trachyspermum ammi* Sprague). *World J. Microbiol Biotechnol*, 18: 459-463.
- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *foeniculum vulgare* Mill. on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technol*, 93: 307-311.
- Khan, M. and Scullion, J. 2000. The effect of soil on microbial responses to metals in sludge. *Environ Pollut*, 110:115-25.
- Kourtev, P.S., Ehrenfeld, J.G. and Haggblom, M. 2003. Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem*, 35:895-905.
- Li, X., George, E. and Marschner, H. 1991. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil, (a). *Plant Soil*, 136: 41-48.
- McLean, E.O. 1982. Soil pH and lime requirement PP. 199-224. In: A.L. page, R.H. Miller and D.R. Keeney. *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Biological Properties*. 2nd ed., Soil Sci. Soc. Am. Inc. pub., USA.
- Murphy, J. and Riley, J.D. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.*, 27: 31-36.
- Philips, J.M. and Hayman, D.S. 1970. Improved procedure from clearing roots and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycorrhizal Society*, 55: 158-160.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N. and Gautam, S.P. 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martini* var. *motia* by rhizobacteria, AMF and azospirillum inoculation. *Microbiol. Res*, 156: 145-149.
- Rillig, M.C. 2004. *Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes*, university of Montana, U.S.A, 284.
- Schreiner, R.P., Mihara, K.L, McDaniel, K.L. and Benthlenfalvay, G.J. 2003. Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant and Soil*, 188:199-209.
- Smith, S.E. and Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*, Academic Press. San Diego. C.A., 429.
- Smith, S.E. and Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, New York, 587.

- Sullivan, T.S., Stromberger, M.E. and Paschke, M.W. 2006. Parallel shifts in plant and soil microbial communities in response to biosolids in a semi-arid grassland. *Soil Biol Biochem*, 38: 449–459.
- Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersects method of estimating root length. *J. Ecology*, 63: 995-1001.
- Walkley, A. and Black, C.A. 1934. An examination of the degtjareff-method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci*, 37: 29-38.
- Yan, S., Bala-Subramanian, S., Mohammedi, S., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. and Lohani, B.N. 2007. Wastewater sludge as a raw material for biopesticides production- impact of seasonal variations”. *Proceedings of IWA special conference on Facing sludge diversities, Challenges, Risks and Opportunities, (IWA Antalya 2007), 28-31 March, Belek, Antalya, Turkey*, 26: 117-131.