شناسایی قارچهای مختلف همزیست Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) به منظور تکثیر و توسعه آنها

زینب آجورلو[۱*] و فاطمه فروهی[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرقدس، باشگاه پژوهشگران جوان، تهران، ایران، zeinabajorlou@gmail.com

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرقدس، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران

چکیده

امروزه استفاده از سیستم‌های زراعی کم نهاده و ابداع شیوه های نوین مدیریت بهره برداری از منابع به منظور دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار اهمیت ویژه ای پیدا کرده است. همچنین استفاده از کودهای بیولوژیک به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش عملکرد گیاهان یک مساله مهم در جهت حرکت به سمت کشاورزی پایدار است. در این آزمایش نیز به منظور شناسایی قارچ های میکوریزایی (کود بیولوژیک) در منطقه شهرقدس از روش جدا کردن اسپورهای قارچ از تهیه محلول خاک مزرعه با آب و عبور آن از الک های ۶۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ مش استفاده گردید. مواد جمع شده بر روی الک ۴۰۰ مش را به سطح ستونی از ساکارز ۶۰ درصد منتقل شده و به مدت سه دقیقه با سرعت ۲۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سوسپانسیون بالایی سانتریفوژ را به الک ۴۰۰ مش منتقل کرده و با مقدار کافی آب شستشو داده شد. قسمتی از مواد جمع شده بر سطح الک ۴۰۰ مش را به پتری ها منتقل کرده و با مشاهده نمونه زیر بینوکولر و استفاده از پی پت اپیندروف، اسپورهای موجود که فاقد هیف رویشی بودند برداشته شده و به لوله آزمایش ۶×۱/۵ سانتی متر حاوی ۲ میلی لیتر آب مقطر منتقل گردیدند. سپس جهت تکثیر آنها از رشد در مجاورت ریشه گیاه گندم در شرایط آزمایشگاه استفاده شد و در نهایت جهت تعیین درصد کلنیزاسیون و رنگ آمیزی ریشه ها از روش استاندارد فیلیپس و هایمن استفاده گردید. در پایان ۵ نوع قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae, Glomus intraradices, Glomus caledonium, Glomus clarum* و *Glomus etunicatum* شناسایی شدند که قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae* بیشترین فراوانی (۸۶ درصد) را به خود اختصاص داد.

واژه های کلیدی: قارچ میکوریزا، رنگ آمیزی، تکثیر و توسعه.

Archive of SID

مقدمه

بیش از ۹۰ درصد گیاهان خاکزی حداقل با یک نوع قارچ همزیست هستند. مهمترین نوع قارچ های همزیست، قارچ های میکوریز آربوسکولار هستند که به راسته *Glomales* از شاخه *Zygomycota* تعلق دارند و تقریباً با ۸۰ درصد گیاهان خاکزی شامل نهاندانگان، بازدانگان، سرخس ها، خزه ها و پنجه گرگیان رابطه همزیستی دارند. این قارچ ها قدمت زیادی داشته و در فسیل های ٤٦٠-٤٠٠ میلیون سال قبل مشاهده شده اند (Yao, 2001). همزیستی Arbuscular Mycorrhiza در سال های اخیر توجه ویژه گیاه شناسان، اکولوژیست ها

آدرس نویسنده مسئول: تهران، شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس.

* دریافت: ۹۰/۳/۱۸ و پذیرش: ۹۰/۶/۳

www.SID.ir

و کشاورزان را به خود جلب کرده است، زیرا اثرات برجسته در رشد و عملکرد گیاهان دارند.

برخی مزایای حاصل از همزیستی AM برای گیاهان عبارتند از:

- جذب آب و مواد معدنی به ویژه عناصر کم تحرک مثل H_2PO_4، NH_4، Zn و Cu (Warner, 1992).
- مقاومت علیه بیماری های خاکزاد (Norris et al., 1994).
- افزایش مقاومت به تنش خشکی و شوری (Stadon and Fitter., 2000).
- تثبیت شن های روان در مناطق کویری و بیابانی و کاهش فرسایش خاک و بهبود بافت و ساختمان خاک (Norris et al., 1994).
- افزایش مقاومت به فلزات سنگین (Conway and Bagyaraj., 1984).

یکی از مهمترین این اثرات، جذب فسفر است. بنابراین مقیاس جانشینی فسفر در غیاب رابطه میکوریزایی می تواند به عنوان یک شاخص اقتصادی برای ارزیابی این همزیستی استفاده شود. در تحقیق انجام شده بر روی شبدر قرمز مشخص شده است که برای جبران کردن فسفر در غیاب قارچ های میکوریز آربوسکولار در هر هکتار ٦٦ دلار هزینه لازم است (Morton, 1990).

ساختار قارچ های میکوریز آربوسکولار

(۱) ریسه (Hyphae)

ریسه در این قارچ ها به دو گروه تقسیم می شوند (Warner, 1992):

الف- ریسه های خارج ریشه ای (Extraradical Hyphae): این ریسه ها خارج از بافت ریشه گیاهان و در محیط ریزوسفر مشاهده می شوند و نقش اصلی آن ها جذب آب و املاح است (Bonfante, 2003).

ب- ریسه های داخل ریشه ای (Intraradical Hyphae): این ریسه ها به درون ریشه های مویین یا سلول های اپیدرمی ریشه های مسن تر بوسیله فعالیت آنزیمی همراه با فشار مکانیکی وارد می شوند و در اپیدرم و کورتکس ریشه های گیاه فعال هستند. این ریسه ها به طور متوسط ۷-۲ میکرون قطر دارند. این ریسه ها در داخل ریشه حرکت می کنند تا به کورتکس داخلی می رسند و در این ناحیه، ریسه ها تولید آربوسکول می نمایند (Abbot and Gazey., 2001).

(۲) آربوسکول (Arbuscule)

ریسه های داخل ریشه ای در لایه های داخلی پارانشیم پوست به درون سلول ها نفوذ می کنند و در حد فاصل دیواره سلولی و غشای پلاسمایی تولید اندام درختچه مانندی به نام آربوسکول می نماید که محل تبادل مواد غذایی بین گیاه و قارچ می باشد (Conway and Bagyaraj., 1984).

(۳) وزیکل (Vesicle)

وزیکل ها اندام های بیضی شکل با دیواره نازک و محتوی چربی هستند که به صورت انتهایی یا میانی از ریسه های داخل ریشه ای تشکیل می شوند. این اندام ها در لایه های خارجی، میانی و داخلی کورتکس ریشه به صورت بین سلولی یا داخل سلولی تشکیل می شوند و اندازه آن ها بسیار متغیر می باشد. این اندام ها غنی از لیپید هستند و تعداد آن ها در ریشه های مسن و مرده بیشتر است (Bonfante, 2003).

(٤) سلول های همراه (Auxiliary cells)

دسته ای از سلول ها با دیواره نازک هستند که در زیر راسته *Gigasporinae* و جنس *Gigaspora* دارای سطح خاردار و به صورت چند تایی و در جنس *Scutellospora* سطح آن ها صاف و یا دارای پاپیل هستند و سلول ها به صورت مجتمع و گرهی شکل هستند (Schenck and Perez, 1988).

Archive of SID

www.SID.ir

(۵) اسپورها (Spores)

دیوارهای اسپور بر اساس منشأ و نحوه تشکیل به دو گروه تقسیم می شود:

۱- دیواره اسپور (Spore wall) : هر اسپور دارای یک دیواره منشأ گرفته از ریسه زایا می باشد که با دیواره ریسه پیوسته است. این دیواره همراه با افزایش اندازه اسپور رشد کرده و تمایز می یابد. ارتباط بین دیواره اسپور و ریسه در گونه های *Glomus* به خوبی قابل مشاهده است.

۲- دیواره قابل انعطاف داخلی (Flexible Inner Wall) : این دیواره به خاطر ویژگی الاستیسیته و قابلیت ارتجاع آن به هنگام شکستن اسپور به این نام، نامیده می شود. از مهمترین صفات لایه های دیواره قابل انعطاف داخلی میتوان ضخامت و واکنش آن ها را در مقابل معرف ملزر نام برد.

استفاده از کودهای شیمیایی در اکوسیستم های زراعی نه تنها باعث تخریب ساختار فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک می شود، بلکه کیفیت محصولات تولید شده را نیز به شدت تحت تاثیر قرار می دهد. استفاده طولانی مدت از کودهای شیمیایی باعث فشردگی خاک و کاهش حاصلخیزی زمین های زراعی می‌شود ولی استفاده از کودها در حد لازم برای بدست آوردن حداکثر عملکرد، تاثیر منفی چندانی بر خاک ندارد ولی با مصرف بیش ازحد، احتمال آلودگی آب های سطحی و تحت الارض وجود دارد (هاشمی دزفولی، ۱۳۷٤). Pokorna (۱۹۸٤) گزارش نمود که استفاده مداوم و مفرط از کودهای شیمیایی رایج می‌تواند فعالیت باکتریایی و حاصلخیزی خاک را به‌طور محسوسی کاهش دهد. دلایل اصلی در زیان رساندن به فعالیت‌های بیولوژیک، تغییرات pH و تجمع نمک حاصل از کود دهی بیش از حد می‌باشد. امروزه استفاده از سیستم‌های زراعی کم نهاده و ابداع شیوه های نوین مدیریت بهره برداری از منابع به منظور دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار اهمیت ویژه ای پیدا کرده است. Ademar و همکاران (۲۰۰۳) دریافتند که کود فسفر با افزایش رشد ریشه و شاخ و برگ سبب افزایش عملکرد اندام هوایی در گیاه دارویی گشنیز گردید. همچنین Gabler(۲۰۰۲) در تحقیقات خود بر روی گیاه دارویی گشنیز نشان داد که تنش خشکی به شدت سبب کاهش عملکرد بیولوژیک، عملکرد ریشه و وزن هزار دانه در این گیاه دارویی گردیده ولی درصد اسانس به شدت افزایش یافت. همچنین در تحقیقی بر روی گشنیز نشان داده شد که تنش خشکی درصد اسانس را در این گیاه افزایش داد (Hamrouni و همکاران، ۲۰۰۱). Kapoor و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیقات خود بر روی گشنیز دو گونه از قارچ میکوریزی (*Glomus macrocarpum* و *Glomus fasciculatum*) را به کار بردند و نتایج آن ها بیانگر افزایش عملکرد بیولوژیک و درصد اسانس در شرایط کاربرد قارچ میکوریزی بود. نتایج تحقیقی نشان داد که قارچ میکوریزی *Glomus mosseae* در شرایط تنش خشکی سبب افزایش اسانس و عملکرد بیولوژیک در گیاه دارویی پونه گردیده و وضعیت ریشه این گیاه را بهبود بخشید و با افزایش مقدار فسفر اندام هوایی در این گیاه سبب افزایش وزن هزار دانه نیز گردید (Khaosaad و همکاران، ۲۰۰٦). دو گونه قارچ *Glomus macrocarpum* و *Glomus fasciculatum* میزان فسفر، منگنز و آهن را در اندام هوایی گیاه دارویی درمنه افزایش و با توسعه شاخ و برگ سبب افزایش اسانس و عملکرد ماده خشک در این گیاه گشته و بازده مصرف آب را در شرایط تنش بهبود بخشید (Chaudhary و همکاران، ۲۰۰۷). Freitas و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی خود بر روی گیاه دارویی نعناع، گونه های مختلفی از قارچ میکوریزی را به کار بردند و نتایج آن ها نشان داد که همزیست شدن ریشه نعناع با قارچ میکوریزی، میزان اسانس در این گیاه را در شرایط تنش خشکی دو برابر کرد و عملکرد بیولوژیک به میزان قابل توجهی افزایش یافت. Khalvati و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیقات خود بر روی جو به این نتیجه دست یافتند که درصد کلنیزاسیون ریشه در شرایط تنش بسیار بیشتر از شرایط کنترل بوده و قارچ میکوریزی *Glomus mosseae* سبب افزایش جذب آب

Archive of SID

www.SID.ir

و مقدار فسفر اندام هوایی در شرایط خشکی گردیده و درصد کلنیزاسیون ریشه با افزایش کاربرد فسفر در شرایط تنش، کاهش یافت. قارچ های میکوریزا ازجمله فراوانترین قارچ های همزیست با گیاهان هستند که به سودمندیهای فراوان ، مانند تولید کودهای بیولوژیکی قابل جذب کردن عناصرغذائی بخصوص فسفر و مبارزه ی بیولوژیکی با آفات محصولات زراعی و باغی دارای جایگاه ویژه ای درکشاورزی هستند . بعضی میکروارگانیسمها ازنظر بیولوژیکی درکشاورزی ازارزش بالائی برخوردارند و میتوان ادعا کرد که ابزار یک کشاورزی پایدار هستند وازجمله درتولید کودهای بیولوژیکی، قابل جذب کردن عناصرغذائی و مبارزه بیولوژیکی با دشمنان طبیعی محصولات زراعی نقش دارند (اسماعیل زاده و همکاران، ۱۳۸٤). همزیستی میکوریزائی رابطه ای پویا و مسالمت آمیز بین سیستم ریشه ای گیاه و دسته ای خاص از قارچ های خاکزی به نام Veshcular Arbuscular Mycorrlizal (VAM) فراوانترین و معمولترین قارچهای همزیست در خاک بوده و قادرند با بیش از ۹۰٪ گونه های گیاهی ارتباط همزیستی برقرار کنند . بیشترین اثر سودآور قارچهای میکوریزائی بهبود وضع تغذیه ی گیاه میزبان بخصوص درمورد فسفر است . این قارچها درخاکهائی که غلظت عناصر غذائی آنها (به ویژه فسفر) کم تا متوسط باشد ، قادرند نیاز فسفری گیاه میزبان را تامین کنند بطوریکه نیازی بمصرف کودهای شیمیائی فسفره نباشد از اینرو به قارچهای میکوریزا " کود بیولوژیکی " نیز گفته میشود (خواجه زاده، ۱۳۷۵). این قارچها در شرکت با یک تعامل سه گانه خاک – قارچ – گیاه قادرند فوائد دیگری را برای گیاه میزبان فراهم کنند که اهم آنها عبارتند از : افزایش مقاومت گیاه به امراض ، تشدید تثبیت بیولوژیکی نیتروژن ، افزایش مقاومت گیاه در مقابل خشکی و تشدید میزان فتوسنتز. در گیاهان دارای همزیستی میکوریزایی عضو اصلی در جذب عناصر معدنی از خاک قارچ میکوریزا است همچنین نتایج تحقیقاتی که اخیراً صورت گرفته است مؤید نظرات قبلی مبنی بر نقش کلیدی قارچ های میکوریزا در استقرار گیاهان اولیه در شرایط خشکسالی است. از آنجایی که قارچ های میکوریزا موجب افزایش توانایی گیاهان میزبان در جذب فسفر و عناصر معدنی از خاک و بخصوص از منابع غیر قابل دسترس آنها می شوند ، لذا به این میکروارگانیسم های مفید لفظ biofertilizer اطلاق شده و عقیده بر این است که قارچ های میکوریزا می توانند جایگزین خوبی برای قسمتی از کود های شیمیایی مصرف شده مخصوصاً کودهای فسفاته در اکوسیستم های مختلف باشند (شیرانی راد، ۱۳۸۵). انواع روابط همزیستی مایکوریزایی با شناسایی هر چه بیشتر ساختمان های موجود در این نوع همزیستی ، هارلی و اسمیت در سال ۱۹۸۳ روابط همزیستی مایکوریزایی را به هفت نوع مختلف تقسیم بندی نمودند که عبارتند از اکتومایکوریزا ، اکتنومایکوریزا ، اربتوئید مایکوریزا ، مونو..... مایکوریزا ، ارکیدمایکوریزا و اربسکولار مایکوریزا فوائد رابطه همزیستی میکوریزایی افزایش جذب عناصر غذایی ، افزایش مقاومت به خشکی ، افزایش مقاومت به شوری ، افزایش مقاومت گیاه به عوامل بیماریزای ریشه ، تولید هورمون های محرک رشد گیاه ، افزایش مقاومت گیاه به تنش های ناشی از تراکم خاک و اصطلاح ساختمان خاک ، کاهش از بین رفتن نهال ها در جابجایی ، افزایش فعالیت تثبیت ازت توسط انواع دی ازوتروف های همزیست و همیار با گیاهان ، تشدید فعالیت های میکروارگانیسم شد و از این تعداد در نهایت دو سویه برتر برای فرمولاسیون کود زیستی تحت عنوان فسفاته بارور انتخاب گردید . کود زیستی بارور که حاوی دو نوع باکتری می باشد با تولید اسیدها آلی باعث رها سازی فسفات از ترکیبات معدنی و با تولید و ترشح آنزیم فسفاتاز باعث رها سازی فسفات از ترکیبات آلی می شود (Abbot and Gazey, 2001).

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس اجرا شد. هدف از اجرای این آزمایش هم شناسایی قارچ های میکوریزایی موجود در مزرعه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس بود و هم رنگ آمیزی و تکثیر و توسعه آنها بود. لذا ابتدا به صورت تصادفی از ۱۰ قسمت از مزرعه ۱۰۰ خاک زراعی از منطقه توسعه ریشه (۰ تا ۳۰ سانتی متری) جمع آوری و به آزمایشگاه کشاورزی منتقل شد. برای جدا کردن اسپورهای قارچ از تهیه محلول خاک مزرعه با آب و عبور آن از الک های ٦۰، ۱۰۰ و ٤۰۰ مش استفاده گردید. مواد جمع شده بر روی الک ٤۰۰ مش را به سطح ستونی از ساکارز ٦۰ درصد منتقل شده و به مدت سه دقیقه با سرعت ۲۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سوسپانسیون بالایی سانتریفوژ را به الک ٤۰۰ مش منتقل کرده و با مقدار کافی آب شستشو داده شد. قسمتی از مواد جمع شده بر سطح الک ٤۰۰ مش را به پتری ها منتقل کرده و با مشاهده نمونه زیر بینوکولر و استفاده از پی پت اپیندروف، اسپورهای موجود که فاقد هیف رویشی بودند برداشته شده و به لوله آزمایش ۱/۵×٦ سانتی متر حاوی ۲ میلی لیتر آب مقطر منتقل گردیدند. لوله آزمایش فوق در ظرف حاوی تکه های یخ قرار داده شد و اجتماع اسپورهای قارچ در ته لوله آزمایش با چشم غیرمسلح قابل رویت بود (رجالی و همکاران، ۱۳۸۵).

بعد از جمع آوری، جهت شناسایی قارچ ها از روش استاندارد فیلیپس و هایمن استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا ریشه ها شسته و به قطعات ۱ سانتی متری برش داده شدند. جهت شفاف سازی ریشه ها به مدت ٤۵ دقیقه در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد در بن ماری در حال جوش قرار داده شدند. سپس ریشه ها برای حذف هیدروکسید پتاسیم ۳ بار با آب مقطر شسته شده و به مدت ۵-۳ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۱ درصد قرار گرفتند. برای رنگ آمیزی، ریشه ها را در محلول ۰/۰۵ درصد آنیلین بلو (Aniline blue) در لاکتوفنل قرار داده و به مدت ٤۵ دقیقه در بن ماری در حال جوش قرار گرفتند. به این ترتیب، اندام های قارچی به رنگ آبی در داخل ریشه های شفاف شده قابل مشاهده گردیدند (Philips و Hayman، ۱۹۷۰ و رجالی و همکاران، ۱۳۸۵). بعد از شناسایی قارچ های میکوریزا نوبت به تکثیر آنها رسید، بدین صورت که اسپورهای قارچ ها در طی یک دوره کشت در مجاورت ریشه گیاه گندم در محیط متشکل از سه قسمت ماسه بادی و یک قسمت خاک با بافت لوم که به همراه گلدان ٤ کیلوگرمی در گلخانه با نور طبیعی و درجه حرارت ١٦ الی ۲۸ درجه سانتی گراد و طول روز ١٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی تکثیر گردید. درون گلدان ها سه بذر ضدعفونی شده و جوانه زده گندم کشت گردید و برای آبیاری و تغذیهٔ گیاهچه ها از محلول غذایی استریل هوگلند با ۲۵٪ غلظت فسفر به صورت هفتگی و از آب استریل دوبار در هفته استفاده شد. پس از گذشت ٤ ماه از شروع کشت، گیاهچه های گندم از سطح خاک قطع و گلدان ها به مدت دو هفته در گلخانه نگهداری شدند. برای جدا کردن اسپورهای قارچ ها از تهیه سوسپانسیون محیط کشت گیاه با آب استفاده و به روش قبلی (رجالی و همکاران، ۱۳۸۵) اسپورهای قارچ های میکوریزا جمع آوری گردید.

برای تعیین تعداد اندام فعال قارچی از روش استاندارد تترازولیوم[1] استفاده شد. بدین صورت که تعداد اسپورهای موجود در ۱۰ گرم ماسه بادی به مدت ٢٤ ساعت و در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد در محلول ۱٪ MTT [2] در ۳ تکرار قرار گرفتند. سپس با قرار دادن اسپورها در زیر میکروسکوپ، اندام های فعال قارچی (اسپورهای زنده ای که قابلیت جوانه زنی داشتند) به رنگ قرمز نمایان شدند و اندام های غیر فعال قارچی (اسپورهای غیر زنده ای که قابلیت جوانه زنی نداشتند) فاقد هرگونه لکه رنگی بودند. با شمارش تعداد اسپورهای رنگی، تعداد اندام فعال قارچی در ۱۰ گرم ماسه بادی تعیین شد (Meier و Charvat، ۱۹۹۳ و رجالی و همکاران، ۱۳۸۵). در نهایت برای اندازه گیری

[1] - Tetrazolium bromide technique
[2] - Dimethylthiazol diphenyl tetrazolium bromide

Archive of SID

www.SID.ir

درصد کلنیزاسیون ریشه یک صد قطعه یک سانتی متری از ریشه های رنگ آمیزی شده توسط هر قارچ در ۳ تکرار را بر روی چهار لام میکروسکوپ قرار داده با اضافه کردن چند قطره محلول لاکتوگلیسیرول، ریشه ها با لامل پوشانده شدند. با بررسی های میکروسکوپی با بزرگنمایی X ۲۵۰ برای هر قطعه یک سانتی متری ریشه درصد کلنیزاسیون تعیین و میانگین درصد کلنیزاسیون قطعات ریشه ای برای هر قارچ محاسبه گردید (Norris و همکاران، ۱۹۹۲ و رجالی و همکاران، ۱۳۸۵). اطلاعات حاصل از طریق برنامه آماری MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین ها از طریق آزمون چند دامنه ای دانکن مقایسه شدند و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

در پایان ۵ نوع قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, *Glomus caledonium*, *Glomus clarum* و *Glomus etunicatum* شناسایی شدند که قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae* بیشترین فراوانی (۸۶ درصد) را به خود اختصاص داد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار (گونه های قارچ میکوریزایی) بر درصد کلنیزاسیون و درصد اندام فعال قارچی در سطح ۱ درصد معنی دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین ها به روش دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد که بیشترین درصد کلنیزاسیون (۵۹ درصد) و بیشترین درصد اندام فعال قارچی (۴۸ درصد) از قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae* به دست آمد که نسبت به سایر گونه های قارچ میکوریزایی برتری قابل توجهی داشت (جدول ۳).

Hobbie و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تغییرات هورمونی در گیاه با آلودگی میکوریزایی در ارتباط است و تغییرات مرفولوژیک برگ را در نتیجه واکنش به تغییرات هورمونهای گیاهی گزارش کردند. همچنین این دانشمندان افزایش غلظت سیتوکنین را در برگ ها و ریشه کراس ها که همزیستی میکوریزایی داشتند گزارش کردند. در ضمن نشان دادند که در شرایط تنش خشکی میکوریزا فنولوژی گل را به تاخیر می اندازد. میکوریزی شدن ریشه می‌تواند در بهبود این مکانیسم مؤثر باشد، گزارشات ضد و نقیضی در مورد تأثیر میکرویزی شدن روی جذب عناصری مانند پتاسیم و منیزیم وجود دارد. در گیاه یونجه تحت تنش شوری میزان جذب منیزیم گیاهان میکوریزی کاهش یافته بود و دلیل این کاهش، نقش میکوریزها در ممانعت از جذب کاتیون زیادی و حفظ تعادل کاتیون به آنیون بیان شده است (Azcon and Barea, 1992). یکی از مهمترین این اثرات، جذب فسفر است. بنابراین مقیاس جانشینی فسفر در غیاب رابطه میکوریزایی می تواند به عنوان یک شاخص اقتصادی برای ارزیابی این همزیستی استفاده شود. در تحقیق انجام شده بر روی شبدر قرمز مشخص شده است که برای جبران کردن فسفر در غیاب قارچ های میکوریز آربوسکولار در هر هکتار ٦٦ دلار هزینه لازم است (Morton, 1990). Usha و همکاران (۲۰۰٤) درصد کلنیزاسیون قارچ میکوریز آربوسکولار در ریشه گیاه دارویی رازیانه را مورد بررسی قرار دادند. در این آزمایش از قارچ *Glomus mosseae* استفاده شد. نتایج این بررسی نشان داد که *Glomus mosseae* رابطه همزیستی بسیار خوبی با ریشه رازیانه داشته و عملکرد حاصل از کاربرد قارچ و ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار با عملکرد حاصل از کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار و عدم کاربرد قارچ با یکدیگر در یک گروه آماری قرار گرفتند. همزیستی میکوریزایی (اکتومیکوریز و اندومیکوریز) در پسته و اثر این همزیستی در جذب عناصر N,P, Na, K و Ca، رشد گیاه و نیز تحمل گیاه نسبت به شوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که وزن خشک در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان شاهد می‌باشد. بطور کلی مقدار عناصر مذکور در اندام های مختلف گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان غیر میکوریزی می‌باشد و مقدار سدیم در گیاهان غیرمیکوریزی

Archive of SID

www.SID.ir

کشت شده در محیط بدون نمک و شوری ۵۰ میلی‌مول، بیشتر از گیاهان میکوریزی می‌باشد. در این پژوهش مشخص گردید که همزیستی قارچهای اندومیکوریزی با گیاهان پسته سریعتر از قارچ های اکتومیکوریزی صورت گرفته و این همزیستی نقش موثری در افزایش وزن خشک و مقدار عناصردر اندام های مختلف گیاه دارد. قارچ های آندومیکوریزا می‌توانند تا حدودی در افزایش تحمل گیاه نسبت به شوری مؤثر باشند(خواجه زاده، ۱۳۷۵). میکوریزا عناصر غذایی را از لایه های عمیق تر خاک در اختیار گیاهان قرار می دهد و با مایه زنی[1] آن ها به استقرار و رشد بهتر گیاهان می توان کمک کرد. اکثر گیاهان نظیرگندم، ذرت و ... که وابسته به این رابطه هستند، با مایه زنی این قارچ ها، فسفات و عناصر غذایی بیشتری در اختیار این میوه ها قرار می گیرد. این اجتماع میکوریزها، همچنین به مقاومت گیاهان در برابر حمله بیماری ها کمک کرده و از طرفی خصوصیات خاک را نیز بهبود می بخشد (صالحی محمدی، ۱۳۸۳). در آزمایشی جهت تعیین نقش میکوریزا در افزایش عملکرد دانهٔ گیاه دارویی بابونه، قارچ *Glomus clarum* استفاده گردید. نتایج به دست آمده از این آزمون نشان داد که میکوریزا سبب افزایش عملکرد دانه در این گیاه گردید (Kaya و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج محققان حاکی از آن است که کاربرد قارچ میکوریزی سبب افزایش عملکرد می گردد که دلیل این امر مکانیزم عمل قارچ میکوریزی در جذب فسفر می باشد. پس از رویش اسپورهای قارچی و گسترش آن ها در ریزوسفر بخشی از ریسه ها وارد سیستم ریشهٔ گیاه شده و سبب کاهش غلظت آبسزیک اسید گشته و میزان سیتوکنین را افزایش می دهند. این عمل سبب گسترش سیستم ریشه ای و افزایش جذب آب می گردد. ریسه های برون ریشه ای نیز با ترشح اسیدهای آلی حل کننده فسفات های نامحلول نظیر اسید مالیک، جذب فسفر توسط گیاه را افزایش می دهند (Khalvati و همکاران، ۲۰۰۵). در نتیجه عملکرد در شرایط کاربرد قارچ میکوریزی افزایش نشان می دهد. افزایش عملکرد با افزایش شاخ و برگ و افزایش جذب مواد همراه می باشد بنابراین تولید مواد فتوسنتزی افزایش یافته و انتقال این مواد به سمت مخازن (بذرها) افزایش می یابد که موجب افزایش وزن هزار دانه در شرایط کاربرد قارچ میکوریزی می گردد. Bethenfalway و همکاران (۱۹۸۸) در تحقیقات خود بر روی سویا به این نتیجه دست یافتند که در شرایط تنش درصد کلنیزاسیون بیشتر از شرایط بدون تنش است و قارچ های میکوریزی با افزایش جذب آب سبب افزایش، عملکرد اندام هوایی و زمینی و درصد روغن گردیدند. افزایش عملکرد اندام هوایی در شرایط تنش بوسیله قارچ میکوریزی در آزمایشات Ellis و همکاران (۱۹۸۵) بر روی گندم و Osonubi و همکاران (۱۹۹۲) بر روی اقاقیا نیز به دست آمد. همچنین قارچ میکوریزی با مکانیزم جذب فسفر توانست که مقدار فسفر اندام هوایی را در شرایط تنش افزایش دهد و سبب افزایش عملکرد اندام زمینی و طول ریشه گشنیز گردد. Khalvati و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی های خود بر روی گیاه جو دریافتند که کاربرد *Glomus mosseae* در شرایط تنش میزان جذب فسفر و آب را افزایش داد و سبب افزایش کیفیت دانه جو گردید. با گسترش سیستم ریشه گیاه در شرایط تنش بوسیله قارچ میکوریزی، گیاه توان بیشتری برای جذب آب و مواد معدنی دارد که این امر سبب می گردد گیاه از عملکرد مطلوبتری نسبت به شرایط تنش برخوردار باشد (Auge، ۲۰۰۱). این چنین نتیجه ای در تحقیقات Busse و Ellis (۱۹۸۵) و Graham و همکاران (۱۹۸۷) نیز به دست آمد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی انجام شده با حمایت مالی باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس می‌باشد که بدین وسیله از کمک‌های ارزشمند باشگاه پژوهشگران جوان قدردانی می گردد.

[1]- Inoculation

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- نتایج آزمایش خاک مزرعه

عمق	pH	EC ds/m	N %	Na ppm	P ppm	K ppm	Clay %	Silt %	Sand %	بافت
۰-۳۰	۷/۳	۰/۱۷	۰/۰۵	۳۳/٤	۵/۱	۱٤٤/۳	۳۱	۲۹	٤۰	رسی شنی

جدول ۲- تجزیه واریانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		درصد کلنیزاسیون (درصد)	تعداد اندام فعال قارچی (درصد)
تکرار	۳	۱۲۹/۳۵۸	۳٦/۲٦۷
تیمار	۵	۰/۰۰۳*	۰/۰۰۸*
خطا	۱۵	۲۹/۳۱۷	۰/۳۹۷
ضریب تغییرات (%)		۳/۷	٤/٦

** و * به ترتیب معنی دار در سطوح ۱ و ۵ درصد

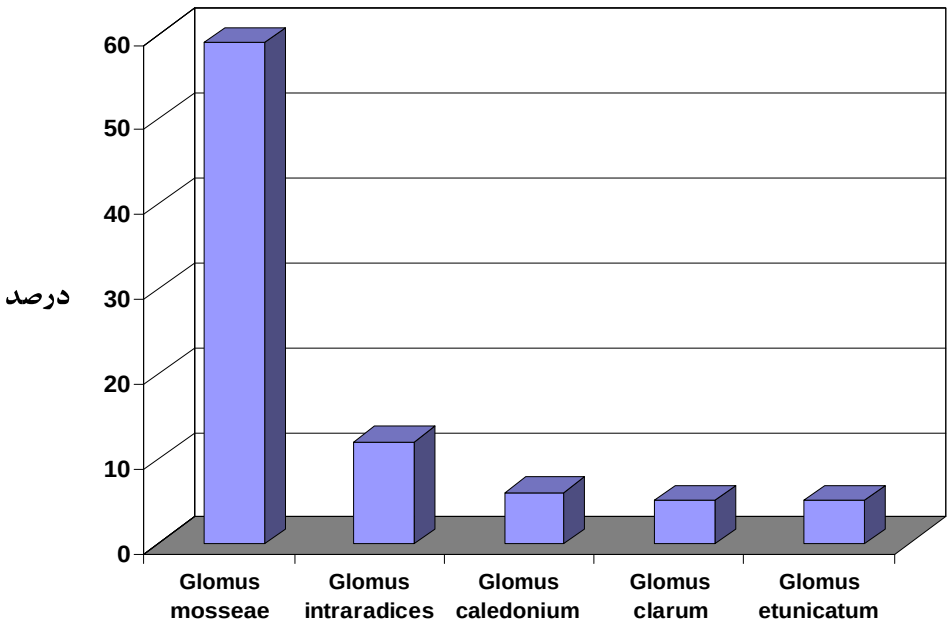
جدول ۳- مقایسه میانگین ها

	تیمار	درصد کلنیزاسیون (درصد)	تعداد اندام فعال قارچی (درصد)
قارچ میکوریزایی	*Glomus mosseae*	۵۹ A	٤۸ A
	Glomus intraradices	۱۲ B	۲۵ B
	Glomus caledonium	٦C	٤C
	Glomus clarum	۵C	۸C
	Glomus etunicatum	۵C	٤C

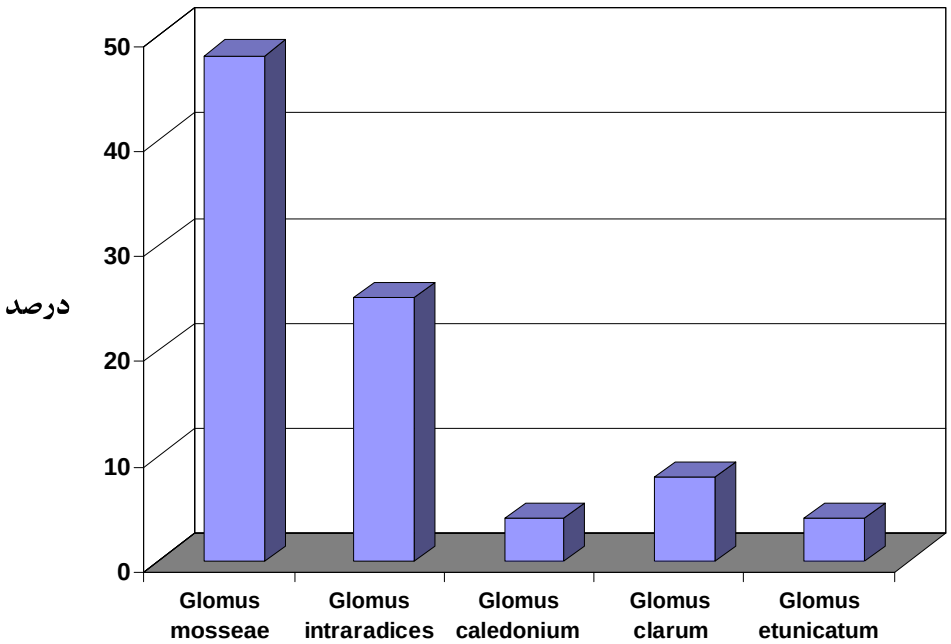
در هر ستون میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دار می باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

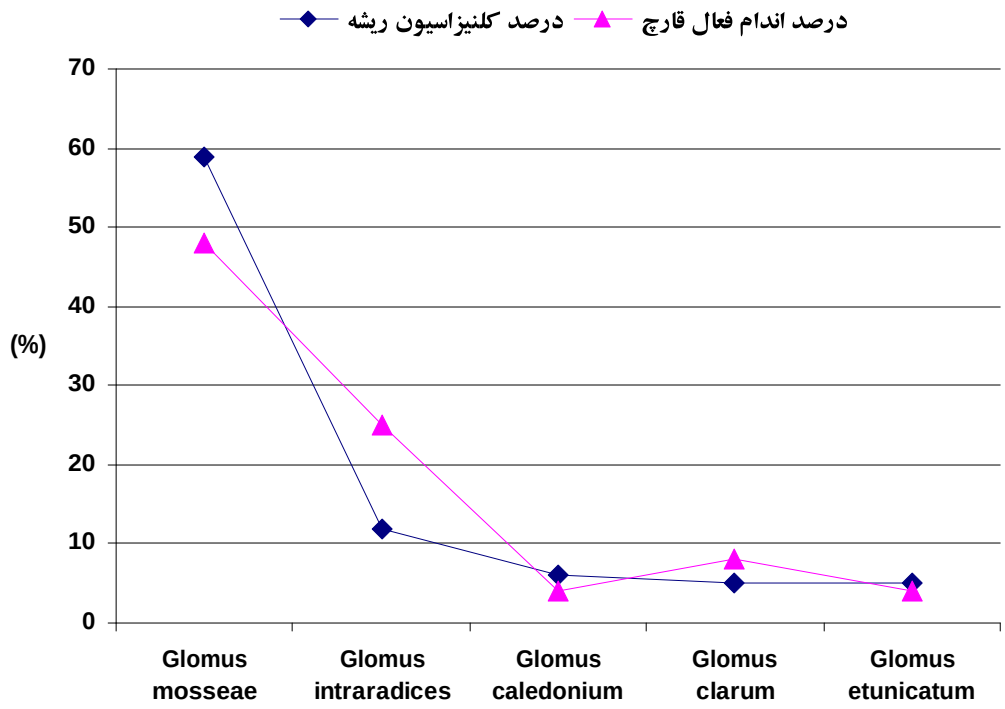


نمودار ۱– درصد کلنیزاسیون ریشه در گونه های مختلف قارچ میکوریزایی



نمودار ۲– درصد کلنیزاسیون ریشه در گونه های مختلف قارچ میکوریزایی

www.SID.ir



نمودار ۳- بررسی روند تغییرات درصد کلنیزاسیون ریشه و درصد اندام فعال قارچی در گونه های مختلف قارچ میکوریزایی

فهرست منابع

۱.اسماعیل زاده، ص.، زارع مایوان.، ح و ف.، قناتی. ۱۳۸٤. همزیستی میکوریز وزیکولار آربوسکولار در گیاهان دارویی پارک ملی تندوره. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد۲۱. شماره ٤. ص ٤۰-۵۳.

۲.خواجه‌زاده، م.۱۳۷۵. بررسی رابطه همزیستی میکوریزی در گیاه پسته و تاثیر آن در تحمل پسته نسبت به شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. ص ۱٤۵.

۳.رجالی، فرهاد، عزیزاله علیزاده، محمد جعفر ملکوتی، ناهید صالح راستین، کاظم خاوازی و احمد اصغر زاده. ۱۳۸۵. تکثیر *Glomus intraradices* و تهیه مایه تلقیح آن قارچ به روش کشت درون شیشه ای. مجله علوم خاک و آب. جلد ۲۰ شماره ۲ صفحات ۲۸۳-۲۷۳. موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران.

٤.شیرانی راد، ا. ۱۳۸۵. تاثیر قارچ میکوریز وسیکولار آربوسکولار و فسفر در شرایط تنش خشکی بر عملکرد دانه و کارآیی مصرف آب و فسفر گندم. فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان. جلد ۱. شماره ۱.

۵.صالحی محمدی، ر. ۱۳۸۳. کاربردهای بیوتکنولوژی در علم باغبانی وبه نژادی در گیاهان. روزنامه شرق. سال دوم – شماره ۳٤۳.

6.Abbot, K. L. and Gazey, C. 2001. Phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores. New Phytologist. 149: 95–103.

7.Ademar, P., R. Luciana, M. Jussara Ellen, F. Mendes, R. Ovidio, J. Dantas, S. Marcelo, and M. DaSilva. 2003. Effect of phosphorus fertilization on the yield of coriander in soil with low levels of phosphorus. Horticulture Brasileira. 60: 453- 456.

Archive of SID

www.SID.ir

8.Auge, R. M. 2001. Water relation, drought and VA mycorrhizal simbiosis. Mycorrhiza. 11: 3-42.
9.Azcon R, and Barea J. M. 1992. Nodulation, N_2 fixation (^{15}N) and N nutrition relationships in mycorrhizal or phosphate-amended alfalfa plants. *Symbiosis* 12: 33-41.
10. Bethenfalway, G. J., M. S. Brown, R. N. Ames, and R. S. Thomas. 1988. Effects of drought on host and endophyte development in mycorrhizal soybeans in relation to water use and phosphate uptake. Plant Physiology. 72: 565–571.
11. Bonfante, P. 2003. Plants, Mycorrhizal Fungi and Endobacteria: a Dialog Among Cells and Genomes. Dipartimento di Biologia Vegetale dell' Università di Torino and Istituto di Protezione delle Piante, Sezione di Torino, Viale Mattioli 25, 10125 Torino, Italy. *Biol. Bull*. 204: 215-220.
12. Chaudhary V., R. Kapoor, and A. K. Bhatnagar. 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. Mycorrhiza. 17: 581-587.
13. Conway, L. l. and Bagyaraj, D. 1984. Field Inoculations with VA Mycorrhizal Fungi. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. ISBN 0-8493-5694-6. pp: 234.
14. Ellis, J. R., H. J. Larsen, and M. G. Boosalis. 1985. Drought resistance of wheat plants inoculated with vesicular-arbuscular mycorrhizae. Plant and Soil. 86: 369–378.
15. Freitas, M. S. M., M. A. Martins, and I. J. C. Vieira. 2004. Yield and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. 9: 887-894.
16. Gabler, J. 2002, Drought stress and nitrogen effects on *Coriandrum sativum* L. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants. 44: 12- 28.
17. Graham, J.H., J. P. Syvertsten, and M. L. Smith. 1987. Water relations of mycorrhizal and phosphorus-fertilized non-mycorrhizal citrus under drought stress. New phytologist. 105: 411-419.
18. Hamrouni, I., H. Salah, and B. Marzouk. 2001. Effects of water-deficit on oil of coriander aerial parts. INRST, Laboratoire d'Adaptation et d'Amelioration des Plants, BP 95 2050. Hammam-Lif, Tunisia. 95: 21-52.
19. Hobbie, E., Colpaert, A. and Jan, V. 2004. Nitrogen availability and mycorrhizal colonization influence water use efficiency and carbon isotope patterns in *Cuminum cyminum* L. New Physiologist. 164(3): 515-525.
20. Kapoor, R., B. Giri, and G. Mukerji. 2001. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Foot and Agriculture. 82: 339-342.
21. Khaosaad, T., H. Vierheilig, M. Nell, K. Zitterl-Eglseer, and J. Novak. 2006. Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., *Lamiaceae*). Mycorrhiza. 16: 443- 446.
22. Khalvati, M. A., A. Mozafar, and U. Schmidhalter. 2005. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. Plant Biology Stuttgart. 7: 706-712.
23. Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H. and Tas, I. 2003. Mycorrhizal colonisation improves fruit yield and water use efficiency in *Matricaria chamomilla* L. grown under well-watered and water-stressed conditions. Plant and Soil, 253 (2): 287-292.
24. Meier, R., and I, Charvat. 1993. Reassessment of tetrazolium bromide as a viability stain for spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. American Journal of Botany. 80: 1007-1015.
25. Morton, J. B. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new

Archive of SID

www.SID.ir

families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*. 37:471-491.
26. Norris, J. R., Read, D. and Varma, A. K. 1994. Techniques for Mycorrhizal Research Methods in Microbiology. Academic Press Inc., San Diego, CA. ISBN 0-12-521490-1. pp: 928.
27. Osonubi, O. 1994. Coperactive effects of vesicular arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphrus fertilization on growth and phosphorus uptake of maize and sorghum plant under drought stressed conditions. Biology and Fertility of Soils. 14: 159-165.
28. Philips, J. M., and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of British Mycological Society. 55:158–161.
29. Pokorna, K. 1984. Effects of long term fertilization on the dynamics of changes of soil organic matter. Zbl. Microbiology. 139: 497-504.
30. Schenck, N. C., Perez, Y. 1988. A manual of identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. 2nd ed. Gainesville: University of Florida, pp: 241.
31. Staddon, P. L. and Fitter, A. H. 2000. The differential vitality of intraradical mycorrhizal structures and its implications. Soil Biology and Biochemistry. Pp: 147.
32. Usha, K., Mathew, R. and Singh, B. 2004. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth, nutrient uptake and yield of *Foeniculum vulgare*. Karnataka Journal of Horticulture, 1(1): 56-60.
33. Warner, A. 1992. Factors Affecting the Spread of Vesicular Mycorrhizal Fungi in Soil. I. Root Density. *New Phytologist*. 90(3): 529-536.
34. Yao, Q. 2001. Factors affecting arbuscular mycorrhizal dependency of wheat genotypes with different phosphorus efficiencies. Journal of Plant Nutrition. 24:1409-1419.

Archive of SID

www.SID.ir