

میکوریز آربسکولار در کیکم (*Acer cinerascens*) در دو فصل بهار و پاییز و ارتباط آنها با برخی عناصر غذایی ضروری (مطالعه موردی: بازفت، چهارمحال و بختیاری)

توران فیضی کمره^۱، محمد متینی زاده^{۲*}، انوشیروان شیروانی^۳، وحید اعتماد^۲ و مصطفی خوشنویس^۴

^۱ دانش آموخته کارشناس ارشد جنگل شناسی و اکولوژی جنگل دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

^۲ استادیار پژوهش بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

^۳ استادیار گروه جنگلداری دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

^۴ مربی پژوهشی بخش جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

(تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۵، تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۱۸)

چکیده

قارچ‌های میکوریزی آربسکولار از جمله مهم‌ترین ریزموجودات خاکزی هستند و نقش بسیار مهمی در حاصلخیزی خاک ایفا می‌کنند. گیاهان مختلف به علت داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در ریشه خود، همزیستی متفاوتی با این قارچ‌ها دارند. در این پژوهش برای بررسی رابطه قارچ میکوریزی آربسکولار و برخی عناصر ریزوسفری و عوامل فیزیکی و شیمیایی خاک، ۳۰ پایه کیکم در رویشگاه طبیعی آن در منطقه بازفت در چهار محال و بختیاری انتخاب شدند. در دو فصل بهار و پاییز، از ریشه‌های کیکم و خاک اطراف آنها نمونه برداری شد. ابتدا اسپوره‌های قارچ‌های آربسکولار همزیست با گونه کیکم (*Acer cinerascens*) به روش الک مرطوب و سانتریفوژ کردن با ساکارز، جداسازی و براساس صفات مورفولوژیکی چهار گونه *Glomus* و یک گونه *Acaulospora* تا حد جنس شناسایی شدند. همچنین برای تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه، با استفاده از محلول رنگی آنیلین بلو ۱ درصد، قطعاتی از ریشه‌ها رنگ آمیزی شدند. بین فراوانی اسپور و درصد کلنیزاسیون ریشه در بهار و پاییز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. درصد کلنیزاسیون ریشه با پتاسیم قابل جذب در فصل بهار همبستگی مثبتی نشان داد که ممکن است به دلیل تنش‌های فیزیولوژیکی مانند نزدیک شدن به دوره بذردهی باشد که به افزایش کلنیزاسیون ریشه منجر شده است. بین نیتروژن کل و فسفر قابل جذب در فصل بهار و پاییز همبستگی معنی‌داری وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: همزیستی، قارچ‌های میکوریز آربسکولار، عناصر غذایی، کیکم.

مقدمه و هدف

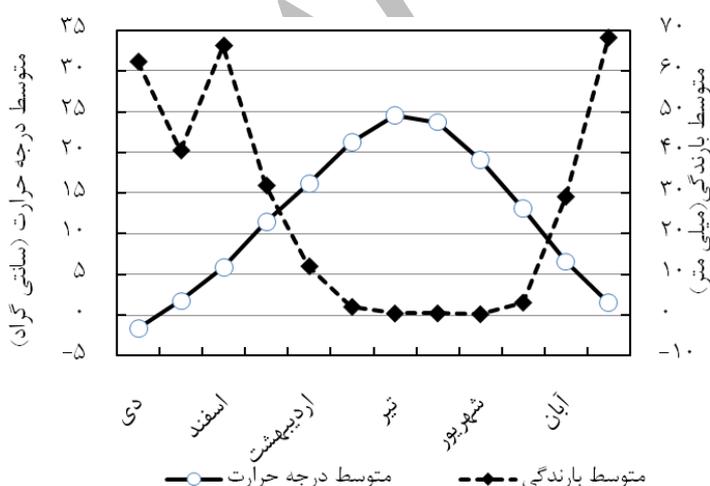
2004). اما درباره گونه *Acer cinerascens* تاکنون گزارشی منتشر نشده است.

هدف از این پژوهش بررسی همزیستی میکوریز آربسکولار با گونه کیکم در رویشگاه طبیعی آن و شدت حضور آنها در دو فصل مهم منطقه (خشک و مرطوب) و همبستگی آنها با سه عنصر غذایی مهم و ضروری (نیتروژن کل، فسفر قابل جذب و پتاسیم قابل جذب) ریزوسفر گیاه است.

مواد و روش‌ها

- استخراج و شناسایی قارچ‌ها

به منظور شناسایی و استخراج قارچ‌های میکوریز آربسکولار همزیست با ریشه درختان *Acer cinerascens* در استان چهارمحال و بختیاری، منطقه بافت با طول جغرافیایی $50^{\circ}08'$ شرقی و عرض جغرافیایی $32^{\circ}08'$ شمالی و ارتفاع ۲۲۷۲ متر از سطح دریا بررسی شد. ۳۰ پایه از درختان سالم و شاداب به طور انتخابی و در رده‌های سنی مختلف نشانه‌گذاری و از ریشه درختان و خاک پای آنها به صورت کاملاً تصادفی، ۳۰ نمونه برداشت شد. نمونه‌های خاک به همراه ریشه در عمق ۰-۳۰ سانتی متری هر درخت، در دو فصل بهار و پاییز تهیه شد (Bouamri *et al.*, 2006). پراکنش اندام‌های قارچ در فصول مختلف، تحت تأثیر تغییرات فصلی آب و هوا قرار می‌گیرند، بر این اساس، طبق منحنی آمبروترمیک منطقه، دو فصل عمده خشک (بهار) و مرطوب (پاییز) برای نمونه‌برداری انتخاب شد (شکل ۱).



شکل ۱- منحنی آمبروترمیک بر اساس آمار ده‌ساله ایستگاه

هواشناسی چهارمحال و بختیاری

کیکم (*Acer cinerascens*)، یکی از گونه‌های مهم و باارزش گیاهی جنس افرا (*Acer*) است که در ناحیه رویشی زاگرس رشد می‌کند. این گونه، بومی جنگل‌های غرب کشور است و جوامع جنگلی وسیعی را در ارتفاعات زاگرس به همراه گونه‌های مهم بنه، بادام، گلابی وحشی، بلوط و دیگر بوته‌های خشبی تشکیل می‌دهد (Khatamsaz, 1992). سالانه چندین میلیون هکتار جنگل در اکوسیستم‌های دست‌نخورده و طبیعی تخریب و نابود می‌شود. نابودی زیستگاه طبیعی جنگل‌ها، توانایی همزیستی میکروبی را با جامعه گیاهی کاهش می‌دهد. آنها مؤلفه‌های مهم اکولوژیکی در کنترل چرخه غذایی بیشتر گیاهان هستند. از دیدگاه تکامل، یکی از عوامل مؤثر بر گزینش طبیعی، توانایی موجودات زنده در بقای نسل تا تولید نسل بعدی است بر این اساس می‌توان میکوریز را به عنوان ساختاری زنده که در آن همزیستی قارچ و ریشه پدید می‌آید و به افزایش توان هر دو موجود منجر می‌شود، نام برد. یکی از مهم‌ترین گروه‌ها در این قارچ‌ها، میکوریز آربسکولار^۱ است (Liu & Lianfeng, 2008). تبادل مواد غذایی در این قارچ‌ها، بین هیف‌ها^۲ و سلول‌های ریشه میزبان جریان دارد. قارچ‌های آربسکولار توانایی گیاهان را برای استقرار، مقاومت در برابر موقعیت‌های تنش‌زا شامل کمبود مواد غذایی، خشکی و رقابت افزایش می‌دهد. این تأثیرها از راه توسعه شبکه‌های هیف به طول ۱۶۰ متر در هر گرم خاک ریزوسفر و تشکیل یک سیستم جذبی مکمل برای سیستم ریشه گیاه میسر می‌شود (Degens *et al.*, 1994). در بسیاری از تحقیقات (Jeffries *et al.*, 2003; Al-Karaki, 2006; Cardoso & Kuyper, 2006; Göhre & Paszkowki, 2006; Gregory, 2006; Martin *et al.*, 2007; Cavagnaro, 2008) به تأثیرهای مفید قارچ‌های آربسکولار در جذب بیشتر عناصر غذایی مثل نیتروژن، فسفر، گوگرد، مس، بر و ... اشاره شده است. چندین محقق گونه‌های مختلفی از افرا را میکوریزی معرفی کرده‌اند (Klironomos *et al.*, 1993; Klironomos, 1995; Booth,)

1- Arbuscular mycorrhiza

2- Hypha

نیتروژن به روش کجلدال (Mulvaney & Kurtz, 1982)، فسفر با استفاده از رنگ‌سنجی (Olsen & Sommer, 1982) و پتاسیم قابل جذب با استات آمونیوم (Hanway & Heidel, 1952) و سنجدیده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16 انجام گرفت که برای مقایسه درصد کلنیزاسیون در دو فصل از Paired-samples T-test استفاده شد.

نتایج

بررسی خواص فیزیکی - شیمیایی خاک - نتایج آزمایش‌های فیزیکی - شیمیایی خاک نشان داد که منطقه دارای بافت سیلت - رسی و pH قلیایی ۷/۹ است (جدول ۱).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی- شیمیایی خاک روبشگاه کیکم در منطقه بافت

فاکتور	pH	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	بافت
Silt - Clay	۷/۹	۲۸/۷	۵۱/۴	۱۹/۷	

شناسایی قارچ‌ها، تعیین فراوانی اسپور و درصد کلنیزاسیون ریشه در دو فصل بهار و پاییز جنس‌های قارچ شناسایی شده در کیکم *Acaulospora* و *Glomus* بود که در جنس *Glomus* چهار گونه و در جنس *Acaulospora* نیز یک گونه *A. sp.1* جدا شد. با رنگ‌آمیزی ریشه‌های گیاه کیکم در هر دو فصل بهار و پاییز، اندام‌های قارچ، وزیکول و هیف مشاهده شد (شکل ۲).

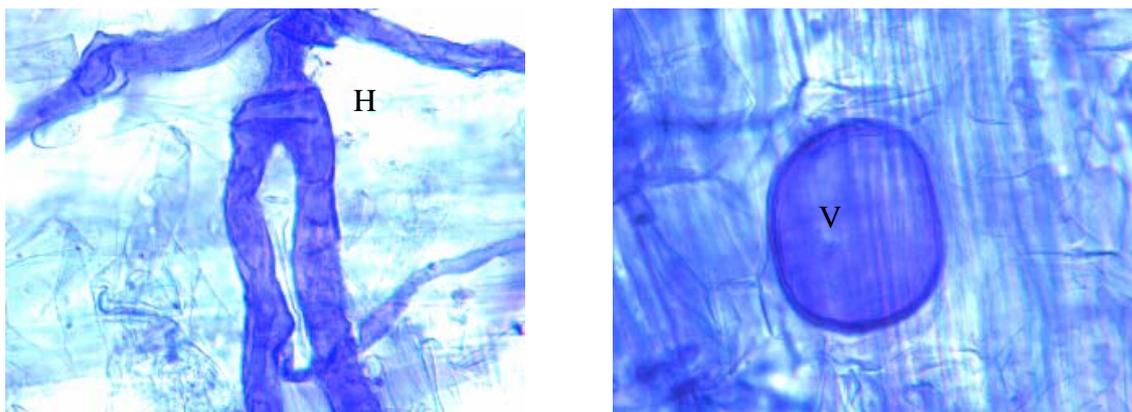
برای استخراج اسپور^۱ قارچ‌ها از روش الک مرطوب و سانتریفوژ کردن با ساکارز (Rajni & Mukerji, 2002) استفاده شد و سپس براساس ویژگی‌های مورفولوژیکی اسپور، شامل رنگ، تعداد لایه‌ها، اندازه لایه‌ها، قطر اسپور و طرح روی آن با میکروسکوپ Olympus مدل CH2 و بزرگنمایی x ۱۴۰۰ مشاهده و با استفاده از کلیدهای موجود (Morton & Redecker, 2001; Schenck & Perez, 1988) و اطلاعات سایت INVAM^۲ شناسایی شد. رنگ‌آمیزی ریشه‌ها، تعیین درصد آلودگی آنها و شمارش فراوانی اسپورها

ریشه‌ها در کوتاه‌ترین زمان ممکن پس از نمونه‌برداری رنگ‌آمیزی و در صورت نبود امکان سریع این آزمایش، در محلول تثبیت‌کننده نگهداری شدند. در هر نوبت ۲۰ قطعه ۱ سانتی‌متری از ریشه‌های فرعی نازک با قطر حدود ۱ میلی‌متر که برای رنگ‌آمیزی بهترین شرایط را داشتند، جدا شد. نمونه‌ها با روش Phillips & Hayman, 1970 با استفاده از محلول رنگ آنیلین بلو ۱ درصد رنگ‌آمیزی شدند. سپس اندام‌های قارچ با میکروسکوپ Olympus مدل CH2 و بزرگنمایی x ۱۴۰۰ مشاهده شد. پنج طبقه بر اساس مقدار کلنیزاسیون^۳ برای همزیستی میکوریزی تعریف شد (Giovanetti & Mosse, 1980). اگر کلنیزاسیون ۰ تا ۵ درصد باشد، همزیستی در طبقه ۱ و به همین ترتیب کلنیزاسیون‌های ۶ تا ۲۵ درصد، ۲۶ تا ۵۰ درصد، ۱۵ تا ۷۵ درصد و ۷۶ تا ۱۰۰ درصد همزیستی میکوریزی، به ترتیب در طبقه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ قرار می‌گیرند. برای شمارش فراوانی اسپورهای قارچ از روش الک مرطوب و سانتریفوژ کردن با ساکارز استفاده شد (Rajni & Mukerji, 2002).

تجزیه شیمیایی و فیزیکی خاک

نمونه‌های هواخشک‌شده خاک برای هر کدام از ۳۰ نمونه از الک ۲ میلی‌متری گذرانده شد و سپس بافت، pH، درصد ماده آلی، نیتروژن، فسفر و پتاسیم سنجش و بررسی شد. مواد آلی خاک به روش سرد (Walkley & Black, 1934)،

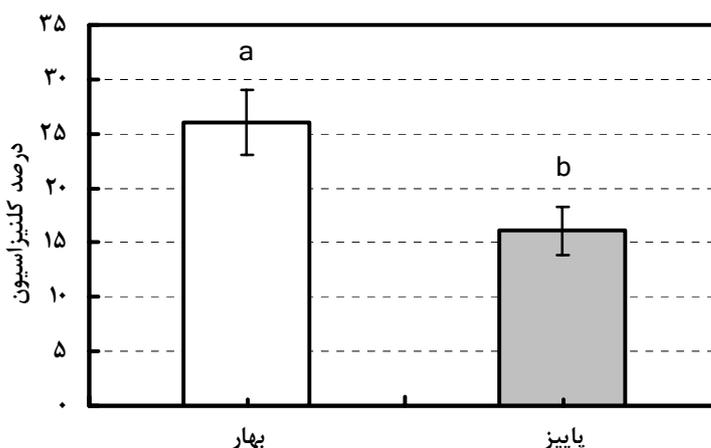
1- Spore
2- International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal
3- Colonization



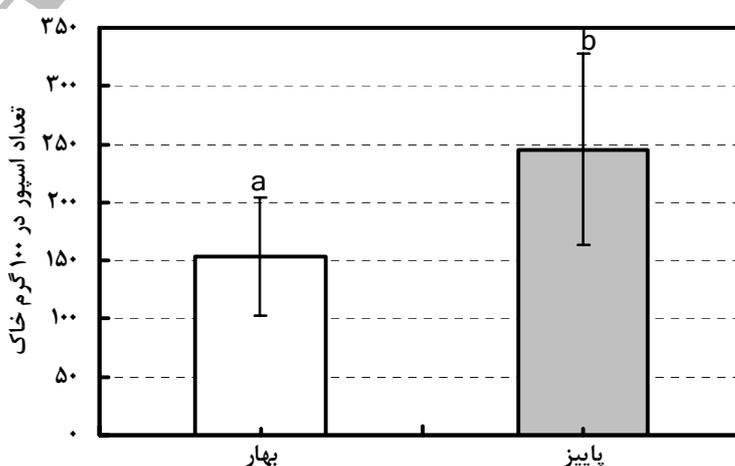
شکل ۲- اندام‌های هیف (H) و وزیکول (V) قارچ میکوریز آربسکولار درون ریشه کیکم

داشتند (شکل ۳). میانگین تعداد کل اسپور در هر دو جنس شناسایی شده در ۱۰۰ گرم خاک گیاه کیکم در بهار، ۱۵۳ و در پاییز ۲۴۶ بود و تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در دو فصل مشاهده شد (شکل ۴). فراوانی جنس *Glomus* بیشتر از جنس *Acaulospora* بود.

این پژوهش نشان داد که درصد کلنیزاسیون ریشه میکوریزی کیکم اندک است. این درصد در بین دو فصل بهار و پاییز تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ نشان داد. میانگین کلنیزاسیون ریشه ۲۲ درصد بود. بهار با ۲۶ درصد بیش‌ترین و پاییز با ۱۶ درصد کمترین مقدار کلنیزاسیون را



شکل ۳- درصد کلنیزاسیون قارچ‌های آربسکولار در ۳۰ ریشه کیکم در دو فصل بهار و پاییز



شکل ۴- فراوانی کل اسپورها در ریزوسفر ۳۰ پایه کیکم در دو فصل بهار و پاییز

میلی گرم در کیلوگرم) بود (جدول ۲). در این تحقیق اختلاف معنی داری بین مقدار پتاسیم قابل جذب در فصل بهار و پاییز مشاهده نشد. مقدار پتاسیم قابل جذب ۲۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک در پاییز و ۲۳۱ میلی گرم در یک کیلوگرم در بهار بوده است (جدول ۲). میانگین درصد ماده آلی در بهار ۳/۴ و در پاییز ۴/۲ بود (جدول ۲).

- بررسی برخی عناصر غذایی خاک
تفاوت معنی داری در سطح یک درصد برای ماده آلی خاک، نیتروژن کل و فسفر قابل جذب تحت تأثیر فصل وجود داشت. میانگین درصد نیتروژن کل در بهار ۰/۳۹ و در پاییز ۰/۲۶ بود (جدول ۲). میانگین فسفر قابل جذب در بهار ۱۴/۵ (میلی گرم در کیلوگرم) بیشتر از پاییز ۱۱/۷

جدول ۲- میانگین درصد نیتروژن کل، درصد ماده آلی، فسفر قابل جذب و پتاسیم قابل جذب در کیمک در دو فصل بهار و پاییز

کیمک	ماده آلی (%)	پتاسیم قابل جذب (mg/Kg)	فسفر قابل جذب (mg/Kg)	نیتروژن کل (%)
بهار	۳/۴	۲۳۱	۱۴/۵	۰/۳۹
پاییز	۴/۲	۲۳۰	۱۱/۷	۰/۲۶
T	**۶/۷	Ns	**۹/۵	**۹/۵

** اختلاف معنی دار در سطح ۱٪، ns: بدون اختلاف معنی دار

همبستگی عناصر خاک با درصد کلنیزاسیون و فراوانی اسپور در دو فصل بهار و پاییز محاسبه شد. فقط بین پتاسیم قابل جذب و درصد کلنیزاسیون در فصل بهار همبستگی مثبتی دیده شد (جدول ۳).

- همبستگی عناصر غذایی ریشه با قارچ های میکوریزی آریسکولار
بین درصد کلنیزاسیون و فراوانی اسپور در فصل های بهار و پاییز همبستگی معنی داری وجود نداشت (جدول ۳).

جدول ۳- همبستگی عناصر خاک با کلنیزاسیون ریشه و فراوانی اسپور

فصل	کلنیزاسیون ریشه (%)	ماده آلی (%)	پتاسیم قابل جذب (mg/Kg)	فسفر قابل جذب (mg/Kg)	نیتروژن کل (%)
بهار	فراوانی اسپور	۰/۱۴۰	-۰/۰۲۸	۰/۱۷۳	-۰/۰۹۳
	کلنیزاسیون	۱	*۰/۴۱۵	۰/۰۰۸	۰/۰۲۶
پاییز	فراوانی اسپور	-۰/۳۰۸	-۰/۲۷۱	-۰/۱۳۱	-۰/۱۹۹
	کلنیزاسیون	۱	-۰/۰۱۷	-۰/۰۹۸	۰/۰۵۵

اختلاف معنی دار در سطح ۵٪

کلنیزاسیون ریشه گیاه با قارچ های میکوریزی آریسکولار، استقرار و بقای گیاه را در شرایط سخت و دشوار خاک های خشک و نیمه خشک با عناصر غذایی اندک ممکن می کند. کیمک یکی از گونه های بارز رویشگاه های نیمه خشک زاگرس محسوب می شود. در این پژوهش قارچ های همزیست با کیمک (*A. cinerascens*)، دو جنس *Glomus* و *Klironomos* معرفی شده است. در تحقیقات *Klironomos et al.* (1993)، (1995) و Booth (2004) جنس

بحث
تحقیقات، کاهش فعالیت قارچ های میکوریزی را در اکوسیستم های تخریب شده نشان داده است (Gianinazzi & Schuepp, 1994). از این نظر، بررسی وضعیت موجود میکوریزی خاک در ترمیم اکوسیستم های تخریب شده اهمیت فراوان اجرای این پژوهش را نشان می دهد. نتایج تحقیقات *Smith et al.* (1998) نشان داد که

نشان دادند که کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریزی آربسکولار همبستگی منفی با نیتروژن کل، فسفر کل، فسفر قابل جذب و ماده آلی دارد، در حالی که همبستگی مثبتی را با pH خاک گزارش کرده اند. (Karanika et al., 2008) در آزمایش خود نشان دادند که کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریزی آربسکولار همبستگی منفی با فسفر و همبستگی مثبتی با نیتروژن دارد. براساس بررسی‌های شیمیایی خاک تفاوت معنی‌داری بین پتاسیم قابل جذب در دو فصل وجود نداشت، اما ضریب همبستگی مثبتی بین همین عامل با درصد کلنیزاسیون در فصل بهار مشاهده شد، در حالی که در دیگر عناصر تفاوت معنی‌داری بین فصل‌ها مشاهده شد که شاید به دلیل تنش‌های فیزیولوژیکی مانند نزدیک شدن به دورهٔ بذردهی باشد و در نتیجه کلنیزاسیون قارچ‌های همزیست بیشتر شده است (Vinichuk et al., 2010).

این پژوهش، گام نخست در معرفی قارچ‌های همزیست با کیکم است. امید است در آینده با ادامهٔ این تحقیقات و با تولید نهال‌های میکوریزی کیکم، امکان توانمندسازی نهال‌های این گونه و دیگر گونه‌های مهم و باارزش زاگرس فراهم شود تا درصد زنده‌مانی آنها در زمان استقرار در عرصه افزایش یابد.

منابع

- Al-Karaki, G.N., 2006. Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water, *Scientia Horticulturae*, 109: 1-7.
- Atti, T., C. Danny, H. Fabien, I. Lous, W. Andres & O. Fritz, 2008. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan Savannas of Benin, West Africa, as affected by agricultural land use intensity and ecological zone, *Mycorrhiza*, 18: 181-195.
- Bohrer, K.E., F. Carl, J. Friese & P. Amon, 2004. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in differing wetland habitats, *Mycorrhiza*, 14: 329-337.
- Booth, M.G., 2004. Mycorrhizal networks mediate overstorey-understorey competition in a temperate forest, *Ecology Letters*, 7: 538-546.
- Bouamri, R., Y. Dalpe, M.N. Serrhini & A. Bennani, 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi species associated with rhizosphere of *Phoenix dactylifera* L. in Morocco, *African Journal of Biotechnology*, 5(6): 510-516.

Glomus برای *Acer spp* معرفی شده است. همچنین (Cooke et al. (1993), Yawney & Schultz (1990) و Klironomos (1995) بر روی گونهٔ *Acer saccharum* Marsh جنس *Glomus* را معرفی کردند. (Moutogliss & Widden (1996) دو گونه قارچ از جنس *Glomus* شامل *G. sp.* و *G. rubiforme* را با عنوان *Acaulospora A. sp.* را برای گونهٔ *Acer saccharum* شناسایی کردند. (Helgason et al. (2002) جنس *Glomus* را برای گونهٔ *Acer pseudoplatanus* معرفی کردند. (Frankland & Harrison (1985) تلقیح نهال‌های *Acer pseudoplatanus* را با جنس *Glomus* بررسی کردند. از مقایسهٔ تحقیقات ذکر شده با یافته‌های تحقیق حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که جنس *Acer* در منطقهٔ بررسی شده، تنوع قارچی خوبی دارد.

آزمایش کلنیزاسیون ریشه نشان داد که در فصل بهار بیشترین درصد کلنیزاسیون به وجود می‌آید که به دلیل مساعد بودن شرایط خاک، اندام‌های قارچ درون گیاه به صورت اندام ذخیره‌ای وزیکول رؤیت می‌شود، اما در پاییز اندام قارچ بیشتر به صورت هیف دیده می‌شود. این نتایج با یافته‌های (Sharda et al. (2010 همخوانی داشت. تحقیقات (Smith & Smith (1990) حاکی از این بود که قارچ‌های میکوریزی بیشترین اسپور را در فصل رشد تولید می‌کنند. اما نتایج پژوهش حاضر، بیشترین تولید اسپور را در پاییز نشان داد. از آنجا که در شرایط تنش، تولید اسپور افزایش می‌یابد و با توجه به اقلیم منطقه که از اواسط بهار تا اواسط پاییز، دورهٔ خشکی بر رویشگاه حاکم می‌شود، افزایش اسپورها در پاییز طبیعی به نظر می‌رسد و یافته‌ها با نتایج تحقیقات (Hayman (1970), Sutton & Barron (1972) و (Rodríguez-Echeverri et al. (2008) مطابقت می‌یابد. تحقیقات زیادی، همبستگی فسفر قابل جذب و درصد کلنیزاسیون را نشان داده‌اند و تا حدودی ثابت شده است که همبستگی مثبت یا منفی بین این دو مؤلفه وجود دارد (Bohrer et al., 2004). اما نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هیچ‌گونه همبستگی بین فسفر قابل جذب و درصد کلنیزاسیون وجود ندارد که با یافته‌های (Atti et al. (2008 همخوانی دارد. (Lingfei et al. (2005 با تحقیقات خود

- Cardoso, I.M. & T.W. Kuyper, 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 116: 72-84.
- Cavagnaro, T.R., 2008. The role of arbuscular mycorrhizas in improving plant zinc nutrition under low soil zinc concentrations, *Plant and Soil*, 304: 315-325.
- Cooke, M.A., P. Widden & I. O'Halloran, 1993. Development of vesicular arbuscular mycorrhizae in sugar maple (*Acer saccharum*) and effects of base-action amendment on vesicle and arbuscule formation, *Canadian Journal of Botany*, 71: 1421-1426.
- Degens, B.P., G.P. Sparling & L.K. Abbott, 1994. The contribution from hyphae, roots and to the aggregation of a sandy loam under long-term clover based and grass pastures, European organic carbon constituents, *Soil Science*, 45: 459-468.
- Frankland, J.C. & A.F. Harrison, 1985. Mycorrhizal infection of *Betula pendula* and *Acer pseudoplatanus*: relationships with seedling growth and soil factors, *New Phytologist*, 101: 133-151.
- Gianinazzi, S. & H. Schuepp, 1994. Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems, Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, 117-131.
- Giovanetti, M. & B. Mosse, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots, *New Phytologist*, 84: 489-500.
- Göhre, V. & U. Paszkowski, 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation, *Planta*, 223: 1115-1122.
- Gregory, P.J., 2006. Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science, *European Journal of Soil Science*, 57: 2-12.
- Hanway, J.J. & H. Heidel, 1952. Soil analysis methods as used in Iowa state college, soil testing laboratory, *Iowa Agriculture Journal*, 54: 1-31.
- Hayman, D.S., 1970. Endogone spore numbers in soil and vesicular arbuscular mycorrhizas in wheat as influenced by season and soil treatments, *Trans British Mycology Society Journal*, 54: 53-63.
- Helgason, T., J.W. Merryweather, J. Denison & P. Wilson, 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from temperate deciduous woodland, *Journal of Ecology*, 90: 371-384.
- Jeffries, P., S. Gianinazzi, S. Perotto, K. Turnau & J.M. Barea, 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility, *Biology and Fertility of Soils*, 37: 1-16.
- Karanika, E.D., O.K. Voulgari, A.P. Mamolos, D.A. Alifragis & D.S. Veresoglou, 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi in northern Greece and influence of soil resources on their colonization, *Pedobiologia*, 51: 409-418.
- Khatamsaz, M., 1992. Iran Flora, Rosaceae Family. Research Institute of Forests and Rangelands, 157pp.
- Klironomos, J.N., P. Mouroglis, B. Kendrick & P. Widden, 1993. A Comparison of spatial heterogeneity of VAM fungi in two maple-forest soil, *Canadian Journal of Botany*, 71: 1472-1480.
- Klironomos, J., 1995. Arbuscular mycorrhizae of *Acer saccharum* in different soil types, *Canadian Journal of Botany*, 73: 1824-1830.
- Lingfei, L.I., A. Yang & Z. Zhao, 2005. Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China, *Microbiology Ecology*, 54: 367-373.
- Liu, W. & D. Lianfeng, 2008. Interactions between Bt transgenic crops and arbuscular mycorrhizal fungi: A new urgent issue of soil ecology in agroecosystems, *Acta Agricultural Scandinavian section B., Soil and Plant Science*, 58: 187-192.
- Martin, F., S. Perotto & P. Bonfante, 2007. Mycorrhizal fungi: A fungal community at the interface between soil and roots, In R. Pinton, Z. Varanini, and P. Nannipieri (Eds.), *The rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*, Marcel Dekker, New York, 201-236.
- Morton, J.B. & D. Redecker, 2001. Two new families of *Glomales*, *Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae*, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters, *Mycologia*, 93: 181-195.
- Moutoglis, P. & P. Widden, 1996. Vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in sugar maple (*Acer saccharum marsh. L.*) forests, *Mycorrhiza*, 6: 91-97.
- Mulvaney, R.L. & L.T. Kurtz, 1982. A new method for determination of ¹⁵N-labeled nitrous oxide, *Soil Science Society of American Journal*, 46: 1178-1184.
- Olsen, S.R. & L.E. Sommers, 1982. Phosphorus, In: Page. A.L (Ed). *Methods of Soil Analysis. Part2. Chemical and Microbiological properties*, Soil Science Society of America, Madison, 403-430.
- Phillips, J.M. & J.M. Hayman, 1970. Improved procedures for clearing roots by staining parasitic and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection, *British Mycological Society*, 55: 158-160.

Rajni, G. & K.G. Mukerji, 2002. Techniques for the isolation of VAM/AM fungi in soil. In: Mukerji, K.G, C. Manoharachary & B.P. Chaloma, (eds), Techniques in mycorrhizal studies, Kluwer. Academic Publishers, London, 1-6.

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

Schenck, N.C. & Y. Perez, 1988. Manual for identification of VA mycorrhizal fungi, *Synergistic Publications*, 34: 50-64.

Sharda, S.W., B.F. Rodrigues & P.K. Sharma, 2010. Symbiotic interactions between arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and male *papaya plants*: Its status, role and implications, *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(3): 2-6.

Smith, S.E. & F.A. Smith, 1990. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport, *New Phytologist*, 114: 1-38.

Smith, M.R., I. Charvat & R.L. Jacobson, 1998. Arbuscular mycorrhizae promote establishment of prairie species in a tallgrass prairie restoration, *Canadian Journal of Botany*, 76: 1947-1954.

Sutton, J.C. & G.L. Barron, 1972. Population dynamics of *Endogone* spores in soil, *Canadian Journal of Botany*, 50: 1909-1914.

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

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

Yawney, W.J. & R.C. Schultz, 1990. Anatomy of a vesicular–arbuscular endomycorrhizal symbiosis between sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.) and *Glomus etunicatum* Becker and Gerdemann, *New Phytologist*, 114: 47-57.

INVAM, <http://www.invam.Caf.wvu.edu>

Arbuscular mycorrhizal symbiosis of *Acer cinerascens* and effects of season variation on some rhizosphere (Case study: Bazoft, Chaharmahal-o-Bakhtiari)

T. Feizi Kamareh¹, M. Matinizadeh^{*2}, A. Shirvany³, V. Etemad² and M. Khoshnevis⁴

¹M.Sc. Graduate, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

²Assistant Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, I.R. Iran

³Assistant Prof., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

⁴Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, I.R. Iran

(Received: 27 August 2010, Accepted: 9 July 2011)

Abstract

Arbuscular mycorrhizas fungi (AM) are the most important microorganisms of soil having an important role in soil fertility. The symbiosis rate between AM and plants are different based on specific physiological characteristics and morphological root characteristics. Thirty individuals of *Acer cinerascens* grown in natural habitats located at Bazoft, Chaharmahal-o-Bakhtiari, the western forests of Iran, were chosen. Roots were sampled during spring and autumn to find out the interactions between arbuscular mycorrhizal and soil elements. Arbuscular mycorrhizal fungi were isolated and characterized by wet sieve. Then roots were stained and colonization percentage was measured. Four species of *Glomus* and one species of *Acaulospora* were identified. Significant difference was found between arbuscular mycorrhizal colonization percentage and spore frequency in spring and autumn. Significant correlation was observed between colonization percentage and availability of potassium in spring.

Key words: Symbiosis, Arbuscular mycorrhizae fungi, Nutrient soil, *Acer cinerascens*.