Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد سیزدهم، شماره پنجم، آذر – دی ۱۳۸۵
www.magiran.com/jasnr

تأثیر مایه تلقیح، نور و مواد غذایی بر همزیستی یک گونه گلوموس با ریشه سورگوم

*رقیه رازقی‌جدید[۱]، فتح‌ا... فلاحیان[۲] و حمید فهیمی[۳]

[۱]دانشجوی سابق دوره دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و عضو هیات علمی دانشگاه آزاد تنکابن،
[۲]استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، [۳]دانشیار دانشکده علوم دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۱/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸٤/۱۱/۲٤

چکیده

قارچ‌های میکوریز وزیکولار آربوسکولار (VAM) با ریشه گیاهان زراعی همزیستی ایجاد کرده، با بهبود جذب برخی از عناصر غذایی سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند. در این تحقیق، پتانسیل یک گونه قارچ اندومیکوریزی جدا شده از خاک مزرعه بر روند تکوینی اثرات متقابل قارچ و گیاهان عالی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی، در مرحله اول، جداسازی و خالص‌سازی هاگ این قارچ به روش الک کردن سوسپانسیون خاک در آب صورت گرفت. در مرحله دوم، تلقیح و تکثیر قارچ به کمک گیاه ذرت خوشه‌ای به روش کشت گلدانی انجام شد. در مرحله سوم مشخصات مربوط به هاگ، رشد و نمو اندام‌های رویشی قارچ در بافت ریشه مورد مطالعه دقیق میکروسکپی قرار گرفت. در مرحله چهارم، تأثیر تراکم هاگ‌ها، نور و غلظت محلول غذایی بر درصد کلنیزاسیون در دو گیاه ذرت و سورگوم بررسی شد. نتایج نشان دادند که در تکثیر گونه‌های گلوموس استفاده از ریشه‌های آلوده تازه به‌عنوان مایه تلقیح بسیار مؤثرتر از هاگ است. نتایج آماری حاکی از این است که در هر سه آزمایش تأثیر تراکم هاگ‌ها، نور و غلظت محلول غذایی بر میزان کلنیزاسیون براساس آزمون‌های *t-test* و آنالیز واریانس بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P<۰/۰۵$). در مورد نقش تراکم اولیه هاگ‌ها و نور بر میزان تلقیح و درصد کلنیزاسیون نتایج نشان دادند که هر چه تراکم هاگ‌ها و نور بیشتر باشد، میزان همزیستی بیشتر است و هرچه غلظت محلول غذایی بیشتر شود درصد کلنیزاسیون کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: وزیکولار آربوسکولار میکوریزا (VAM)، گلوموس

مقدمه

میکوریز نوعی همزیستی بین برخی قارچ‌ها با ریشه گیاهان می‌باشد که از دو کلمه"mycete" به‌معنای قارچ و "rhizae" به معنای ریشه گرفته شده است. این قارچ‌ها به داخل بافت ریشه میزبان، بخصوص در ناحیه زیر اپیدرم ریشه، نفوذ می‌کنند و با فرستادن اندام مکنده به داخل یا بین سلول‌های میزبان مواد مورد نیاز خود را به‌دست می‌آورند. در مقابل قارچ نیز در جذب فسفر، آب و ... از خاک به گیاه کمک می‌کند (هارلی، ۱۹۹٤). علاوه‌بر آن از لحاظ هورمونی نیز ممکن است بر فرآیندهای رشد و نمو گیاه اثر بگذارند. وابستگی تعدادی از گونه‌های گیاهی به قارچ‌های میکوریزی به حدی زیاد است که این گیاهان بدون همزیستی به خوبی

*- مسئول مکاتبه:lpkazemidr@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

نمی‌توانند رشد کنند (بگیاراج، ۱۹۹۱؛ هارلی، ۱۹۹٤). گیاهان دارای میکوریز در برابر عوامل بیماری‌زای مختلف و هم‌چنین دمای زیاد خاک، مقاومت بیشتری دارند. این امر باعث شده است که رابطه همزیستی بین ریشه گیاهان و قارچ‌های همزیست به‌عنوان یک ضرورت در بسیاری از گیاهان مورد توجه محققین قرار گیرد (شریفی و اولیاء، ۱۳۷۸).

گروه‌های مختلف میکوریز از نظر چگونگی تشکیل، محل نفوذ و رشد ریسه قارچ در ریشه، نوع گیاه میزبان و قارچ متفاوت می‌باشند (ابوت، ۱۹۹۵؛ مورتون، ۱۹۹۹). در گروه اندومیکوریز ریسه‌های قارچ بین و درون سلول‌های ریشه گیاه میزبان نفوذ می‌کنند و در داخل سلول ریشه یک ساختار منشعب بوجود می‌آورند که آربوسکول نامیده می‌شود. در این نوع میکوریز، میسلیوم قارچ به داخل بافت ریشه گیاه میزبان نفوذ کرده و هیف‌های فاقد دیواره عرضی در فضای بین سلولی یا داخل سلول‌ها قرار گرفته و تشکیل اندام‌های قارچی از جمله کویل، وزیکول و آربوسکول را می‌دهند. به نوشته آلن (۱۹۹۵) این گروه از میکوریزها را اخیراً به دلیل این که برخی گونه‌های متعلق به ژیگاسپوراسه فاقد وزیکول هستند AM می‌نامند. همان‌گونه که اشمید (۱۹۹٦) در مقاله خود اشاره داشت عمر آربوسکول بین ۸ تا ۲۰ روز بوده و پس از آن به‌علت افزایش فعالیت کیتینولیتیکی سلول‌های میزبان به‌تدریج تحلیل رفته و ناپدید می‌شود.

آنچه در این مقاله مورد مطالعه قرار گرفته، جداسازی، خالص‌سازی و تکثیر قارچ اندومیکوریز همزیست با گیاه سویا و بررسی تأثیر سه عامل محیطی (نور، تراکم هاگ و غلظت محلول غذایی هوگلند) برروی درصد کلنیزاسیون در گیاهان ذرت و سورگوم است. با توجه به این‌که میکوریز در سویا به‌عنوان عاملی مهم در رشد محسوب می‌شود هدف این است که بتوان با استفاده از این قارچ مصرف کود شیمیایی در کشت سویا را کاهش داد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۰ نمونه از خاک ریزوسفر و هر یک به مقدار ۵۰۰ گرم از مزارع سویا در استان گلستان برداشت شد و برای بررسی وجود میکوریز به آزمایشگاه‌های تحقیقاتی جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل شد. این نمونه‌ها شامل خاک اطراف ریشه و بخش‌هایی از ریشه سویا بودند. قطعاتی یک سانتی‌متری از ریشه‌ها با روش فیلیپس (۱۹۷۰) و با استفاده از رنگ کاتن‌بلو رنگ‌آمیزی شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری برای مشاهده قارچ در ریشه مورد مشاهده قرار گرفتند.

نخست نمونه‌های جمع‌آوری شده از طبیعت از نظر وجود ساختارهای قارچ میکوریزی در ریشه و وجود هاگ در خاک مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی وجود هاگ قارچ‌های اندومیکوریزی درخاک اطراف ریشه و جداسازی آنها از روش غربالگری مرطوب[1] با استفاده از غربال‌های مختلف با قطر منافذ ۳۷ تا ۳۰۰ میکرون استفاده شد و سپس هاگ‌ها در زیر استرئومیکروسکپ با اسکالپل جدا شدند. هاگ‌های مختلف براساس خصوصیات مورفولوژیکی، دیواره و رنگ به‌صورت گروه‌های مختلف جداسازی شدند. در مرحله کشت گلدانی برای همزیست کردن هاگ‌ها و تکثیر قارچ میکوریزی از گیاه سورگوم استفاده شد. ابتدا بذرهای سورگوم در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۵ درصد به مدت ۲۰ دقیقه استریل شده و پس از تشکیل گیاهچه، هر گیاهچه از ناحیه ریشه به مدت نیم ساعت در سوسپانسیون هاگ قرار گرفت تا هاگ‌ها در سطح و لابه‌لای ریشه قرار گیرند. گیاهچه‌های تلقیح شده با هاگ در گلدان‌های محتوی خاک رس و ماسه استریل به نسبت ۲ به ۸ کشت شدند و باقیمانده سوسپانسیون هاگ‌ها در اطراف ریشه اضافه شد. بنابراین در این روش هر کدام از ۵ گیاه درون گلدان به‌طور متوسط با ٦۰–۵۰ هاگ تلقیح شد و برای هرگروه از هاگ‌ها ۲۰ گلدان مورد تلقیح قرار گرفت. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای ۱٦ ساعت روشنایی ۱۲–۱۰ هزار لوکس و ۸ ساعت تاریکی و

1- Wet-sieving

www.SID.ir

Archive of SID

دمای ۲۸–۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و هفته‌ای یک‌بار با ماده غذایی هوگلند و یک‌بار با آب معمولی آبیاری شدند. پس از گذشت ٤ هفته، از ریشه‌های آنها نمونه‌برداری شد و پس از رنگ‌آمیزی به روش فیلیپس (۱۹۷۰) رنگ‌آمیزی شدند تا همزیستی و تشکیل میکوریز بررسی شود (شریفی و رازقی، ۱۳۸۲).

در فواصل زمانی ٤، ٥، ٦، ۷ و ۸ هفته پس از تلقیح از ریشه‌ها نمونه‌برداری و وجود همزیستی به روش اسلاید بررسی شد (اورتاس، ۱۹۹٦). به این ترتیب که به تعداد ۱۰۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های گیاه را به‌طور تصادفی برداشته و تعداد همزیست شده‌ها را در زیر میکروسکپ نوری جدا نموده و با این روش درصد همزیستی تعیین شد.

پس از خالص‌سازی و مشاهده جوانه‌زنی در هاگ‌ها اقدام به تلقیح شد. در این مرحله از خاک گلدان‌هایی که در مرحله قبل با تلقیح هاگ همزیستی برقرار شده بود و محتوی ریسه و ریشه بودند به‌عنوان مایه تلقیح در گلدان‌های جدید استفاده شدند و گلدان‌های جدید که دوباره در آنها کشت شده بود پس از ۳/٥ ماه مورد بررسی قرار گرفتند. مشاهده ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده در این مرحله نشان داد، در صورتی که مجموعه ریشه و ریسه قارچ‌های میکوریزی غیراختصاصی به‌عنوان مایه تلقیح به‌کار رود می‌تواند گیاهان دیگر را نیز به‌خوبی همزیست نماید. در گیاهان جدید نیز همانند مرحله قبل ریسه، وزیکول و آربوسکول در بافت ریشه مشاهده شد.

گلدان‌هایی که در آنها میکوریز تشکیل شده بود برای تکثیر میکوریز و هاگ‌زایی قارچ میکوریز مورد استفاده قرار گرفتند، به‌طوری‌که مجموعه خاک و ریشه به‌عنوان مایه تلقیح در گلدان‌های جدید توزیع شده و مدت ۳/٥ ماه در شرایط گلخانه‌ای فوق باقی ماندند. پس از این مدت با ایجاد تنش کم آبی و کاهش آبیاری، هاگ‌زایی در گلدان‌ها تحریک شد، در نهایت پس از خشک شدن گیاهان اندام هوایی قطع و محتوی گلدان در معرض هوا خشک شد. تشکیل هاگ نیز در گلدان‌ها به روش گردمن و نیکلسن (۱۹٦۳) مورد بررسی و تأیید قرار گرفت.

همچنین تأثیر تراکم هاگ‌ها، نور و غلظت محلول غذایی هوگلند بر درصد کلنیزاسیون بررسی شد. از هر دو گیاه ذرت و سورگوم به تعداد ۲۰ گلدان آماده شد. در آزمایش اول (تأثیر تراکم هاگ‌ها بر میزان کلنیزاسیون) برای هر گیاه دو تیمار ٤۰–۳۰ و ۸۰–٦۰ هاگی وجود داشت و از هر تیمار ۲۰ تکرار. تیمارها عبارت بودند از: ۱ (گلدان‌های ذرت دارای ٤۰–۳۰ هاگ)، ۲ (گلدان‌های ذرت دارای ۸۰–٦۰ هاگ)، ۳ (گلدان‌های سورگوم دارای ٤۰–۳۰ هاگ) و ٤ (گلدان‌های سورگوم دارای ۸۰–٦۰ هاگ). در آزمایش دوم (تأثیر نور بر درصد کلنیزاسیون) برای هر گیاه دو تیمار ٥۰۰۰ لوکس و ۱۰۰۰۰–۸۰۰۰ لوکس در نظر گرفته شد و از هر یک ۲۰ تکرار. تیمارها عبارت بودند از: ۱ (گلدان‌های ذرت با میزان نور ٥۰۰۰ لوکس)، ۲ (گلدان‌های ذرت با میزان نور ۱۰۰۰۰–۸۰۰۰ لوکس)، ۳ (گلدان‌های سورگوم با میزان نور ٥۰۰۰ لوکس) و ٤ (گلدان‌های سورگوم با میزان نور ۱۰۰۰۰–۸۰۰۰ لوکس).

در آزمایش سوم (تأثیر غلظت محلول غذایی هوگلند بر درصد کلنیزاسیون) برای هر گیاه سه تیمار دو برابر غلظت، یک برابر غلظت و یک دوم برابر غلظت در نظر گرفته شد. تیمارها عبارت بودند از: ۱ (گلدان‌های ذرت آبیاری شده با محلول غذایی ۲ برابر غلظت)، ۲ (گلدان‌های ذرت آبیاری شده با محلول غذایی ۱ برابر غلظت)، ۳ (گلدان‌های ذرت آبیاری شده با محلول غذایی $\frac{1}{2}$ برابر غلظت)، ٤ (گلدان‌های سورگوم آبیاری شده با محلول غذایی ۲ برابر غلظت)، ٥ (گلدان‌های سورگوم آبیاری شده با محلول غذایی ۱ برابر غلظت) و ٦ (گلدان‌های سورگوم آبیاری شده با محلول غذایی $\frac{1}{2}$ برابر غلظت).

نتایج و بحث

نتایج طی دو مرحله بررسی شد: نخست بررسی تکوینی همزیستی ریسه قارچ گلوموس با ریشه سورگوم، سپس بررسی اثر عوامل مختلف از جمله تراکم هاگ‌ها، نور و غلظت محلول غذایی هوگلند بر درصد کلنیزاسیون.

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی تکوینی همزیستی ریسه قارچ گلوموس با ریشه سورگوم در مرحله اول نمونه‌های جمع‌آوری شده از طبیعت از نظر وجود ساختارهای قارچ میکوریزی در ریشه و وجود هاگ در خاک مورد بررسی قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی ریشه‌ها نشان داد که ساختارهای میکوریزی در یکی از نمونه‌ها مربوط به منطقه هاشم‌آباد گرگان به‌مراتب بیشتر بود و نشان‌دهنده میزان همزیستی میکوریزایی بالا در خاک این منطقه بود. بررسی خاک‌ها نیز نشان داد که هاگ‌های میکوریز در خاک وجود دارند و این هاگ‌ها از نظر رنگ، اندازه و مورفولوژی متفاوت می‌باشند.

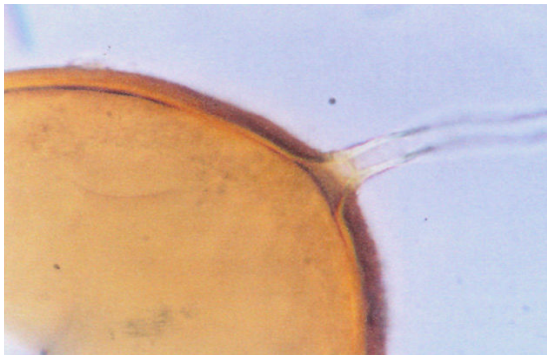
به دنبال تلقیح گیاهان با هاگ‌های جداسازی شده به منظور بررسی ایجاد همزیستی، ریشه گیاهان در طی ۸ هفته رنگ‌آمیزی شدند. نتایج نشان داد هاگ‌های سبز زیتونی (شکل ۱) توانسته‌اند جوانه‌زنی کرده و با ریشه گیاه سورگوم همزیست شوند.

در بررسی‌های میکروسکپی ریشه مشخص شد قارچ میکوریزی مذکور ریسه درون ریشه‌ای، وزیکول و آربوسکول در بافت ریشه تشکیل داده است. بنابراین این قارچ از نوع VAM بوده و در گروه اندومیکوریز قرار می‌گیرد. مشخصات قارچ‌شناسی این ساختارها مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد در این قارچ اندومیکوریزی ریسه‌ها در لابه‌لای سلول‌ها پیش رفته (شکل‌های ۲، ۳، ٤ و ٥) و گاهی به حالت پیچ خورده (شکل ٦) یا با انشعاب دوتایی در می‌آید.

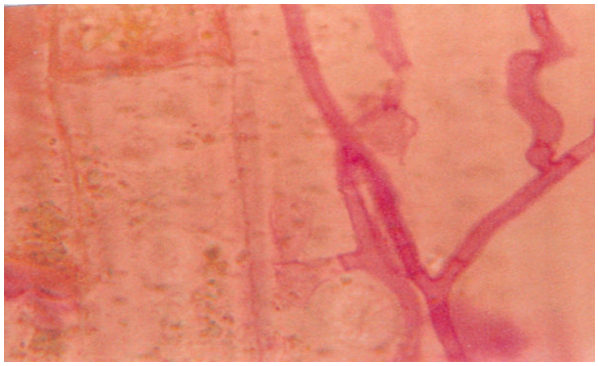
انشعابات کوچک ریسه از دیواره برخی سلول‌های پارانشیم عبور کرده و به غشا پلاسمایی می‌رسد. این انشعابات پس از عبور از دیواره در پشت غشا پلاسمایی انشعابات دوتایی مکرر ایجاد می‌کنند و ساختاری درخت مانند به‌نام آربوسکول را بوجود می‌آورند (شکل ۷). در انشعابات آربوسکول سطح مشترک زیادی بین غشا پلاسمایی سلول گیاهی و دیواره سلول قارچ بوجود می‌آید که محل تبادل مواد غذایی بین سیتوپلاسم سلول گیاهی و قارچ می‌باشد.

بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که قارچ خالص شده در داخل بافت ریشه ساختار دیگری به نام وزیکول تشکیل می‌دهد (شکل ۸) وزیکول‌های مذکور بیشتر کروی یا تخم‌مرغی شکل می‌باشند و در انتهای برخی انشعابات ریسه تشکیل می‌شوند. وزیکول به‌عنوان محلی برای ذخیره موادی از قبیل لیپیدها و فسفات می‌باشد.

پس از اعمال مرحله تنش، بررسی ریشه‌ها و خاک گلدان‌هایی که مرحله کم آبی و تنش را طی کرده بودند نشان داد در تنش خشکی، قارچ همزیست شده وارد مرحله هاگ‌زایی شده و هاگ‌های فراوانی را ایجاد می‌کند تا موجب تکثیر و بقای خود در شرایط نامساعد شود (شکل ۹).



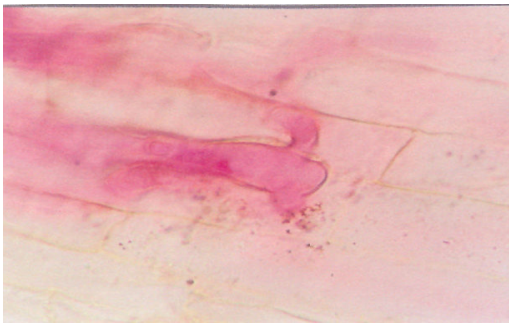
شکل ۱- بررسی لایه‌های تشکیل‌دهنده دیواره هاگ و نحوه اتصال هاگ به ریسه



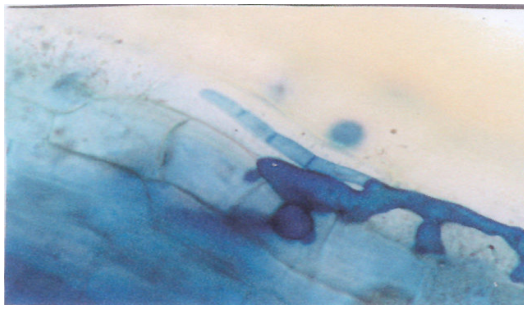
شکل ۲- ریسه خارج ریشه‌ای (بزرگنمایی ۱۰۰)

www.SID.ir

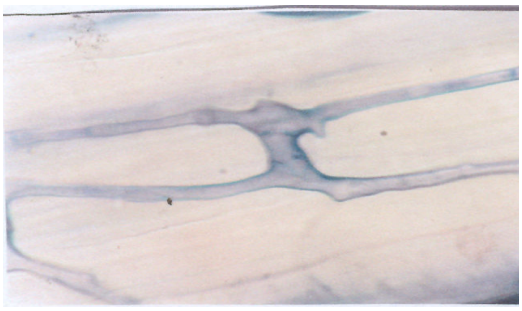
Archive of SID



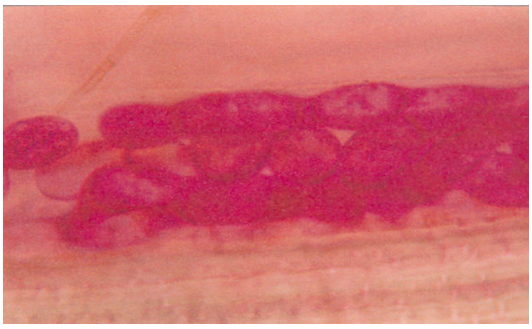
شکل ۳- ورود ریسه به درون سلول ریشه (بزرگنمایی ۱۰۰)



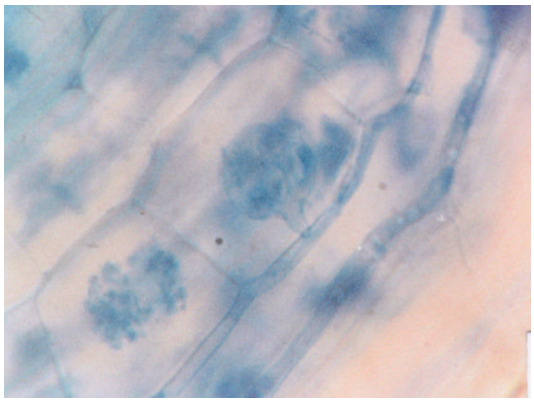
شکل ٤- تشکیل **Appressoria** و ریسه درون ریشه‌ای (بزرگنمایی ۱۰۰)



شکل ۵- شکل ریسه **H** شکل در ریشه (بزرگنمایی ۱۰۰)

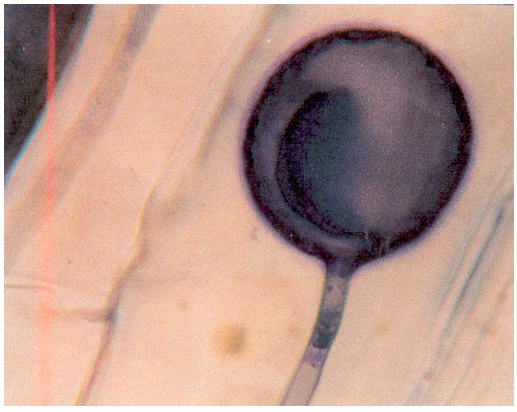


شکل ٦- تشکیل **coil** یا ریسه پیچ‌خورده (بزرگنمایی ۱۰۰)



شکل ۷- تشکیل آربوسکول در ریشه (بزرگنمایی ۱۰۰)

شکل ۸- تشکیل وزیکول در ریشه (بزرگنمایی ۱۰۰)



شکل ۹- تشکیل هاگ گلوموس (بزرگنمایی ۱۰۰)

www.SID.ir

Archive of SID

مشخصات قارچ‌شناسی، دیواره هاگ و چگونگی اتصال هاگ به ریسه نشان می‌دهد قارچ خالص شده مذکور به راسته گلومال، زیر راسته گلومینه، تیره گلوماسه و جنس گلوموس تعلق دارد (شکل ۱).

در تکثیر قارچ‌های اندومیکوریزی به‌کارگیری ریشه‌های آلوده تازه بسیار مؤثرتر از هاگ‌ها است زیرا ممکن است برخی هاگ‌ها فاقد قدرت جوانه‌زنی باشند از طرفی در خالص‌سازی قارچ‌ها بهتر است از هاگ‌ها استفاده شود زیرا امکان جداسازی آنها در زیر استرئومیکروسکوپ وجود دارد.

در مورد علل عدم همزیستی قارچ‌های اندومیکوریزی در محیط کشت MS و پرلیت و نظایر آن‌ها می‌توان عوامل مختلفی را نام برد. در سال ۱۹۹۵ دو دانشمند به نام‌های لیندرمن وپائولیتز در مورد عدم تندش هاگ‌ها، وجود بازدارنده‌هایی را عامل این پدیده می‌دانند. آن‌ها معتقدند که باکتری‌های خاصی از جمله سودوموناس، کورینه باکتریوم و اکتینومیست‌ها می‌توانند این ترکیبات را خنثی کرده و موجبات رویش هاگ‌ها را فراهم آورند.

در نتایج حاصل شده بالا بودن درصد کلنیزاسیون در خاک‌های غیراستریل را می‌توان به نقش این باکتری‌های تحریک‌کننده مربوط دانست. همچنین موادی که قابلیت تبادل یونی بالایی دارند نیز در گرفتن این ترکیبات از هاگ و رفع این بازدارندگی نقش دارند که می‌توان به موادی نظیر ذغال وکائولین اشاره نمود (لیندرمن و پائولیتز، ۱۹۹۵).

هاگ‌های VAM می‌توانند در آب تندش نموده و ایجاد ریسه استریل نمایند و تنها در حضور ریشه گیاه یا ترشحات ریشه‌ای است که رشد آن ادامه می‌یابد. جوانه‌زنی هاگ تحت تاثیر مواد شیمیایی خارج شده از ریشه قرار گرفته و تندش آن در حضور ریشه میزبان و ترشحات ریشه‌ای و یا مواد فرار آزاد شده از آن صورت می‌گیرد.

در این ارتباط دودز و همکارش در ۱۹۹٦ و هاریسون در ۱۹۹۷ اشاره به تشکیل آپرسوریا داشتند که هنوز مشخص نشده آیا حقیقتاً در اثر این برخورد اولیه است که آپرسوریا ایجاد می‌گردد یا اینکه هنوز علت اصلی تشکیل آپرسوریا به اثبات نرسیده است. لازم به‌ذکر است همزیستی گیاهان مورد آزمایش در تحقیق اخیر با قارچ گلوموس از تیپ آروم بوده که با نتایج گیووانتی و همکاران در سال ۲۰۰۰ همخوانی دارد.

دو دانشمند به نام‌های بکارد در ۱۹۹۲ و هاریسون در ۱۹۹۷ اعلام نمودند که گروهی از فلاوونوئیدها و مواد فنلی در اثر بر هم کنش گیاه و میکروب از ریشه گیاه آزاد شده و به‌صورت سیگنال‌های شیمیایی برروی هاگ اثر گذاشته و باعث تندش آن به‌صورت ریسه می‌گردند. در همین مورد شراینر و کوید در سال ۱۹۹۳ اظهار داشتند که تراوشات ریشه‌ای گیاه غیرمیزبان، با دارا بودن ترکیبات با آرایش شیمیایی خاص و بازدارنده نظیر مشتقات گلوکوزینولات‌ها رشد قارچ را تحریک نمی‌کنند. این مواد بخصوص از ریشه‌های براسیکا قابل استخراج است (بارکر، ۱۹۹۸).

هم‌چنین استون و همکاران (۱۹۹۰) اشاره به این داشتند که آلودگی در سطح دانه رست‌ها می‌تواند باعث افزایش درصد همزیستی گیاهان شود. به‌همین دلیل وقتی گیاهچه‌ها از مخزن خارج شدند، آنها را در پتری‌دیش محتوی سوسپانسیون هاگی قرار داده و به‌مدت نیم ساعت در سوسپانسیون به آرامی تکان داده تا بدین‌ترتیب تعدادی هاگ به سطح ریشه‌ها و کل دانه رست بچسبد. با این عمل درصد همزیستی بالا می‌رود.

در مورد گلوموس موسه مشاهده شد که تنش سرما طول دوره خواب را به حداقل می‌رساند. در این مورد الکاچتویل و همکاران (۱۹۹٦) اعلام کردند که تنش سرما باعث افزایش غلظت ترکیبات پلی‌آمینی از جمله اسپرمیدین می‌شود که موجب رفع این دوره خواب شده و هاگ آماده رویش می‌گردد (مرسلی، ۱۳۸۰). در مورد گلوموس اتونیکاتوم دیده شده وقتی هاگ‌های آن به مدت ۱ هفته در سرمای ٤-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، بر میزان کلنیزاسیون آن تأثیر خاصی نخواهد داشت.

بررسی اثر برخی عوامل محیطی بر درصد کلنیزاسیون قارچ گلوموس

نتایج حاصل از تأثیر تراکم هاگ‌ها: براساس آزمون *(t- test)t* بین تاثیر تراکم هاگ‌ها بر میزان کلنیزاسیون در

www.SID.ir

Archive of SID

گلدان‌های ۴۰-۳۰ هاگی ذرت (۴/۷۱ ± ۲۵/۴۸) با گلدان‌های ۸۰-۶۰ هاگی ذرت (۲/۷۲ ± ۵۹/۴۸) اختلاف معنی‌دار آماری (در سطح ۹۵ درصد) برقرار می‌باشد. همچنین بر مبنای آزمون t انجام گرفته بین تاثیر تراکم هاگ‌ها بر میزان کلنیزاسیون در گلدان‌های ۴۰-۳۰ هاگی سورگوم (۴/۶۲ ± ۳۱/۰۴) با گلدان‌های ۸۰-۶۰ هاگی سورگوم (۶/۴۸ ± ۵۰/۲۴) اختلاف معنی‌دار آماری (در سطح ۹۵ درصد) وجود دارد (p-value=۰/۰۰۱).

براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه بین این چهار تیمار (گلدان‌های دارای ۴۰-۳۰ هاگ ذرت، ۸۰-۶۰ هاگ ذرت، ۴۰-۳۰ هاگ سورگوم و ۸۰-۶۰ هاگ سورگوم) اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد (p< ۰/۰۵).

در مقایسه درون گروهی براساس آزمون Tukey HSD، تیمار اول (۴/۷۱ ± ۲۵/۴۸) با تیمار سوم (۴/۶۲ ± ۳۱/۰۴) دارای اختلاف معنی‌دار آماری نیست (p-value=۰/۲۹۹) ولی در بقیه موارد اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌گردد. با توجه به t-test و آنالیز واریانس و مقایسه تیمارها، محاسبات آماری نشان می‌دهد که بهترین اثر را تیمار شماره ۲ یعنی گلدان‌های ذرت دارای ۸۰-۶۰ هاگ نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از تأثیر نور: براساس آزمون t انجام گرفته (p<۰/۰۵)، بین تأثیر نور ۵۰۰۰ لوکس بر درصد کلنیزاسیون (۲/۳۷ ± ۳۰/۴) با میزان نور ۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ لوکس (۷/۶۶ ± ۶۰/۸۶) در گیاه ذرت اختلاف معنی‌دار آماری دیده می‌شود. همچنین براساس آزمون t، بین تأثیر میزان نور ۵۰۰۰ لوکس بر درصد کلنیزاسیون (۲/۴۸ ± ۳۱/۹) با میزان نور ۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ لوکس (۴/۳۲ ± ۶۲/۲) در گیاه سورگوم اختلاف معنی‌دار آماری (در سطح ۹۵ درصد) مشاهده شد.

بر مبنای آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه بین ۴ تیمار نور (۵۰۰۰ لوکس ذرت، ۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ لوکس ذرت، ۵۰۰۰ لوکس سورگوم و ۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ لوکس سورگوم) اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد (p<۰/۰۵). در بررسی درون گروهی براساس آزمون Tukey HSD بین تیمار ۱ (۲/۳۷ ± ۳۰/۴) و تیمار ۳ (۲/۴۸ ± ۳۱/۹) با p-value=۰/۹۵۷ و نیز بین تیمار ۲ (۷/۶۵ ± ۶۰/۸۶) و تیمار ۴ (۴/۳۲ ± ۶۲/۲۰) با p-value =۰/۹۶۹، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید ولی در باقی موارد اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد. طبق محاسبات آماری و آنالیز واریانس در مقایسه بین ۴ تیمار، تیمار سورگوم با شدت نور ۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ لوکس بهتر از سایر تیمارها بوده است.

نتایج حاصل از تأثیر غلظت محلول غذایی هوگلند: براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، بین غلظت‌های ۲ برابر (۰/۸۸ ± ۲۸/۵۴)، ۱ برابر (۳/۳۵ ± ۴۴/۵۴) و $\frac{1}{2}$ برابر (۱/۱۷ ± ۶۲/۰۲) مواد غذایی در گیاه ذرت اختلاف معنی‌دار آماری (در سطح ۹۵ درصد) برقرار است که غلظت $\frac{1}{2}$ برابر در گیاه ذرت بهتر از سایر تیمارها بوده است. هم‌چنین براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه بین غلظت‌های ۲ برابر (۱/۰۲ ± ۲۲/۱)، ۱ برابر (۲/۳۳ ± ۴۳/۳) و $\frac{1}{2}$ برابر (۱/۹۳ ± ۵۹) مواد غذایی در گیاه سورگوم اختلاف معنی‌دار آماری (در سطح ۹۵ درصد) وجود دارد. در سورگوم هم تیمار $\frac{1}{2}$ برابر اثر بهتری نسبت به سایر تیمارها داشته است. براساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (p<۰/۰۵)، بین غلظت یک برابر ماده غذایی در ذرت با غلظت یک برابر سورگوم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشده (p-value=۰/۹۱۷) و نیز بین غلظت $\frac{1}{2}$ برابر در ذرت با $\frac{1}{2}$ برابر در سورگوم اختلاف بی‌معنی است (p-value=۰/۱۹۱). در بقیه موارد مابین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد. نتیجه‌گیری کلی که می‌توان کرد این است که در مقایسه بین ۶ تیمار در دو گیاه ذرت و سورگوم، نتایج آماری نشان می‌دهد بهترین تیمار مربوط به تیمار $\frac{1}{2}$ برابر در ذرت می‌باشد و پس از آن تیمار $\frac{1}{2}$ برابر سورگوم بهتر از بقیه است.

در مورد نقش نور نتایج نشان می‌دهند که هر چه میزان و مدت تابش نور بیشتر باشد، میزان تلقیح، درصد کلنیزاسیون و هاگ‌زایی افزایش می‌یابد و نتایج به‌دست آمده در این آزمایش

www.SID.ir

Archive of SID

با یافته‌های قبلی مطابقت دارد. طبق نظر پیرسون (۱۹۹۳) حدود ۲۰ درصد از ترکیبات فتوسنتزی گیاه مورد استفاده ریشه‌های میکوریزی قرار می‌گیرد. در نورهای زیاد، شدت فتوسنتز و میزان ترکیبات فتوسنتزی افزایش یافته و طبعاً سهم ریشه از این مواد بیشتر می‌شود که این امر به‌نوبه خود بر کیفیت و کمیت مواد مترشحه از ریشه که به‌عنوان عامل محرک تندش و رشد قارچ میکوریزی عمل می‌کنند تأثیرگذار است (مرسلی، ۱۳۸۰).

در مورد نقش تراکم اولیه هاگ‌ها بر میزان تلقیح و درصد کلنیزاسیون نتایج نشان می‌دهد که هرچه تراکم هاگ‌ها بیشتر باشد به‌دلیل افزایش احتمال تماس بین دو سمبیونت سرعت و میزان تلقیح افزایش خواهد یافت که با یافته‌های محققین قبلی از جمله توریسی (۱۹۹۱) مطابقت دارد. اپتیمم تراکم جهت تلقی قارچ‌های اندومیکوریزی در منابع مختلف بین یک تا پنج پروپاگول در هر گرم خاک عنوان شده است (مورتون، ۱۹۹۰).

همان‌طور که قبلاً هم اشاره شد، میزان مواد غذایی خاک تأثیر قابل توجهی بر درصد کلنیزاسیون دارد. در آزمایش‌های انجام گرفته مشاهده شد که هرچه غلظت محلول غذایی بیشتر شود, درصد کلنیزاسیون کاهش می‌یابد بخصوص افزایش فسفات محلول غذایی به‌عنوان عامل بازدارنده همزیستی این قارچ‌ها با ریشه گیاه عمل می‌کند و اکثریت محققین برای تولید مایه تلقیح، استفاده از محلول‌های رقیق غذایی و بدون فسفات را پیشنهاد می‌کنند زیرا افزایش غلظت فسفر باعث تغییر کمی و کیفی ترشحات ریشه‌ای شده و تأثیر منفی بر میزان همزیستی دارد (تامسون، ۱۹۸٦).

سپاسگزاری

بدینوسیله از مسئولین محترم حوزه معاونت پژوهشی دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی واحد تهران که با فراهم نمودن امکانات مالی و نیز تجهیزات مورد نیاز سهم عمده‌ای در اجرای این تحقیق داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد. از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران نیز به خاطر مشارکت در تامین بخشی از امکانات سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از مسئول محترم مرکز دفع آفات و بیماری‌های گیاهی به جهت شناسایی اسپور قارچ مذکور کمال تشکر و امتنان را دارم.

منابع

۱.رازقی جدید، ر. ۱۳۸۲. بررسی تکوینی همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه گیاه عالی؛ رساله دکتری (Ph.D). دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۵۵ صفحه.

۲.شریفی، م. و اولیاء، پ. ۱۳۷۸. بررسی نقش و اهمیت میکوریزا در جذب و تثبیت فسفات و امکان بیوتکنولوژی میکوریزا در جذب فسفات توسط گیاهان. طرح مطالعاتی جهاد دانشگاهی واحد تهران. ۱٤۲ صفحه.

۳.شریفی، م. و رازقی جدید، ر. ۱۳۸۲. خالص‌سازی یک سویه قارچ اندومیکوریزی همزیست با سویا از تیره گلوماسه و معرفی خصوصیات قارچ شناختی آن؛ اولین همایش بیولوژی و بیوتکنولوژی دانشجویان سراسر کشور– اصفهان. ۵ صفحه.

٤.محمودی زرندی، م. ۱۳۸۰. بررسی همزیستی اندومیکوریز در پسته و نقش اندومیکوریز در مقاومت گیاه نسبت به خشکی رساله دکتری (Ph.D). دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. صفحه ۷۵–۷۰.

۵.مرسلی، م. ۱۳۸۰. بررسی همزیستی میکوریزی در منطقه ابهر و تأثیر اندومیکوریز در مقاومت به خشکی لوبیا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم دانشگاه تهران. صفحه ۷٤–٦۹.

6.Abbot, L.K. 1995. Managing soils to inhance mycorrhizal benefits in mediterranean agriculture. Critical Review Biotechnology, 15(3/4): 213-228

7.Allen, F.M. 1995. The ecology of arlbuscular mycorrhizal: A look back into the 20th century and a peek into the 21st. Mycol Res. 100(7). 769-782

8.Bagyaraj, D.J. 1991. Ecology of Vesicular-Arbuscular mycorrhizae; In: Arora, D.K.; rai, b.; Mukerji, K.G.; Handbook of applied mycology 1: soil and plants; Marchel Dekker, INC.; 3-34

9.Barker, S.J., Tagu, D., and Delp, G. 1998. Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbiosis. Plant physiol 116: 1201-1207

www.SID.ir

Archive of SID

10.Gerdemann, J.W., and Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans.Br. Mycol. Soc .46, 235-244
11.Giovannetti, M., Bedini, S., and Maremmani, A. 2000. Paris-type mycorrhizas in Smilax aspera L.growing in a Mediterranean scherophyllous wook. Mycorrhiza 10:9-13
12.Gupta, R.K. 1991. Drought response in fungi and mycorrhizal plant; In: Arora, D.k., Raj Mukerji, K.G., and Handbook of applied mycology 1: Soil and Plants; Marcel Dekker, INC.; 55-76
13.Harley, J.L. 1994. Introduction: The state of the art; In: Norris, J.R., Read, D.J., and Varma, A.K. Techniques for mycorrhizal research. Academic press; 1-23
14.Linderman, R., and Paulitz, J. 1995. Mycorrhizal interaction with soil organisms. Applied Mycology. 9: 77-129
15.Morton, J.B., and Benny, G.L. 1990. Revised classification at arbuscular mycorrhizal fungi a new order, Glomales, two new suborder families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, within emendation of Glomaceae. Mycotaxon, VII. 413-421
16.Morton, J.B., Franke, M., and Bentivenge, S.P. 1999. Developmental foundations for morphological diversity among endomycorrhizal fungi in Glomales (Zygomycetes). In: Varma, A., and Hock, B. Mycorrhiza. 617-631
17.Ortas, I. 1996. The influence of use of different rates of mycorrhizal inoculum on root infection, plant growth, and phosphorus uptake. Commun. Soil. Sci. Plant. Anal. 27: 2935-2946
18.Phillips, J.M., and Hayman, D.S. 1970. Improvement procedures for clearing roots and staining parasitic and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. mycol. Soc 55: 158-160
19.Schmid, L., and Obervinkler, S. 1996. Light and electron microscopy of and distinctive VAM in mature sporophytes of Ophioglossum reticulatum, Mycol. Res. 100(7). 843-849
20.Thomson, J.P. 1986. Soil culture of vesicular arbuscular mycorrhizae of cereals: Effects of nutrient concentration and nitrogen source. Can.J.Bot 64. 10: 2282-2294.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 13(5), Nov-Dec 2006
www.magiran.com/jasnr

The effect of inoculum, light and nutrition matter on one species *Glomus* symbiosis with *Sorghum vulgare* root

R. Razeghi jadid[1], F.A. Falahian[2] and H. Fahimi[3]
[1]Former Ph.D. student of Islamic Azad University at Tehran Science and Research center & the member of scientific committee Islamic Azad University of Tonekabon, [2]Prof., of Islamic Azad University at Tehran Science and Research Center, [3]Prof., of Tehran university science faculty

Abstract

Vesicular Arbuscular mycorrhizae fungi created a symbiosis with the root of agricultural plants, with improvement in absorbing some of the food elements will be a cause increase in plant growth. In this research, one species potential of endomycorrhizae fungi separated from a farm's soil were evaluated upon ontogeny process of counter effects on fungi and higher plants. In this scheme, in the first step, the fungi's spore separation and purification have been taken place with wet sieving. In the second step, inoculation and reproduction of fungi will take place with *Sorghum vulgare* plant helping and pot culture method. In the third step specifications regarding the spore, growth and development of fungi vegetative organs in root tissue, have been studied upon a careful microscopic survey. At fourth steps, the effect of spore concentration, light and nutrition solution concentration, have been studied on both plants maize and sorghum. The results have shown that in reproduction *Glomus* species, making use of new polluted roots as an inoculating matter is much more effective than spore. Statistical results show that in all three tests the effect of spore concentration, light and concentration of nutrition solution on the rate of colonization, based on t-test exams and analysis of Variance, between treatments there are a statistical meaning differential (P<0.05). About the role of original spore concentration and light, on the rate of inoculation and colonization percentage, the results show that increasing of spore concentration and light will increase rate of symbiosis and also increase of concentration of nutritional solution will decrease percentage of colonization.

Keywords*:* Vesicular Arbuscular Mycorrhizae (VAM); *Glomus*

www.SID.ir