Archive of SID

علـــوم محـــیـــطی 10 ، زمستـان 1384
ENVIRONMENTAL SCIENCES 10 , Winter 2006
83-88

شناسایی قارچهای آربوسکولار ـ مایکوریزا و تعیین درصد همزیستی در ذخیره گاه بیوسفر خارتوران

فرح کریمی
دکترای فیزیولوژی گیاهی، استادیار پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاددانشگاهی، دانشگاه شهیدبهشتی
سیما زنگنه
کارشناس ارشد علوم گیاهی، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی
مرتضی یوسف زادی
دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاددانشگاهی، دانشگاه شهیدبهشتی
حسن زارع مایوان
دکترای علوم گیاهی، استادیار دانشکده علوم ، دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

همزیستی با قارچ‌های میکوریزی آرباسکولار وزیکولار باعث بهبود رشد و نمو در گیاهان به‌وسیله افزایش جذب عناصر، بهبود بخشیدن رابطه آبی گیاهان و حفاظت از گیاهان در مقابل بیماری‌ها می‌شود. در این مطالعه هشت ایستگاه براساس تنوع گونه‌های گیاهی و ارتفاع در بخش غربی منطقه حفاظت شده خارتوران بین نقاط جغرافیایی N ° 57 ° 35 تا ' 53 ° 35 و E ° 59 ° 55 تا ' 58 ° 55 انتخاب گردید. در هر ایستگاه درجه اهمیت گونه‌های گیاهی غالب و درصد همزیستی با میکوریز محاسبه گردید. همچنین با جداسازی اسپورهای قارچ‌هاری میکوریزی در ریزوسفر این هشت ایستگاه 12 گونه قارچ آربوسکولار- وزیکولار شناسایی گردید که به غیر از یک گونه بقیه متعلق به جنس *Glomus* هستند.

کلیدواژه‌ها: آربوسکولار ـ میکوریزا ـ خارتوران ـ *Glomus*.

Recoynition of arbuscular - mycorriza fungi (AMF) and root colonization peroentage in Kharturan biospher reserve

Farah Karimi, Ph. D.
Assisstant Professor, Research Institute of Applied Sciences, Shahid Beheshti University
Somayeh Zangeneh, M. Sc.
Department Of Botany, Plant Pests & Diseases Research Institute
Morteza Yousefzadi
Ph. D. Student in Plant Physiology , Research Institute of Applied Sciences, Shahid Beheshti University
Hasan Zarre Mayvan, Ph. D.
Assisstant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Tarbiat Modares University

Abstract
Vesicolar arbuscular symbiosis improves plant growth and development by optimizing uptake of elements, adjusting plant water relations and protecting plant against pathogens. In this study, eight stations were selected in western part of the area, between 35º 53' to 35º 57' N and 55º 58' to 58º 59' E, according to plant diversity and altitude. Importance value was calculated for dominant plant in every station and root colonization percentage were calculated. Like wise, AMF sopres from rhizosphere eigth stations were extracte and recognition 12 species arbuscular-mycorrhizal which all except one belong to Genus *Glomus*.

Key words: Arbuscular – Mycorrhizal , Kharturan, Glomus.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

قارچ‌های میکوریزی وزیکولا ـ آربوسکولار با اغلب گیاهان ارتباط همزیستی برقرار می‌کنند. برقراری این ارتباط با افزایش رشد گیاه همراه است. این افزایش رشد به بهبود جذب فسفر و سایر عناصر معدنی کم تحرک مانند روی و مس نسبت داده شده است(Hayman, 1983). بالا رفتن راندمان جذب عناصر غذایی به دلیل رشد هیف‌ها در اطراف ریشه می‌باشد. از دیگر اثرات مطلوب کلونیزاسیون میکوریزی بالا رفتن مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماریزا، تنش خشکی و تنش شوری می‌باشد(Davis *et al.*, 1992; Heald *et al.*, 1989). قارچ‌های آربوسکولار ـ میکوریزا، به دلیل اثرات بسیار مفیدی که در رشد و نمو گیاهان و افزایش مقاومت آن ما به شرایط نامساعد دارند مورد توجه به بسیاری از محققان می‌باشند. جایگاه این گروه در رده بندی قارچ‌ها پس از مطالعات مولکولی تغییر کرد و در شاخه جدیدی به نام *Glomeromycota* قرار گرفت. از سال 1842 که اولین قارچ میکوریزایی و ارتباط همزیستی آن‌ها را با گیاهان تشخیص داده شد، تاکنون بیش از 200 گونه از دنیا و بیش از 50 گونه از ایران تشخیص داده شده است (زنگنه و *همکاران*، 1384).

ذخیره‌گاه‌های زیست‌کره مطلوب‌ترین شکل حفاظت از تنوع زیستی در واحدهای اکولوژیکی نمونه و حفظ جمعیت‌های گونه‌های در معرض خطر انقراض یا گروه‌های از گونه‌های وابسته به یکدیگر از نظر اکولوژیک می‌باشند. هر ذخیره گاه زیست‌کره زیستگاه شمار زیادی از گونه‌های گیاهی و جانوری از جوامع طبیعی را که معرف نواحی طبیعی هستند تحت حمایت دارد. این گونه‌ها منابع ژنتیکی هستند که نیازهای آتی ما را برآورده می‌کنند. ذخیره‌گاه زیست‌کره توران به وسعت حدود 1/8 میلیون هکتار در بخش شمالی دشت کویر در فاصله طول جغرافیایی ^{o} 57 ـ 55 و عرض جغرافیایی ^{o}36 ـ 34 واقع است. خاک‌های منطقه دارای ماده آلی کم با PH کمی اسیدی تا بسیار قلیایی و تجمع آهک در پروفیل است. توسعه و تکامل این خاک‌ها کم و متوسط است. متوسط بارندگی سالانه 130 میلی‌متر و متوسط دمای روزانه 17/7 سانتی‌گراد است(زارع مایوان و *همکاران*، 1383).

با توجه به این مسئله که در مناطق خشک و نیمه خشکی (مانند ذخیره‌گاه زیست‌کره توران) محدودیت اصلی رشد گیاه رطوبت و عناصر غذایی به ویژه فسفر است و قارچ‌های میکوریزی وزیکولار ـ آربوسکولار می‌توانند کمک به رشد و جذب فسفر و نهایتاً کمک به بقاء گیاهان کنند، در این پژوهش به بررسی شناسایی و معرفی گونه‌های میکوریزی همزیست با گیاهان غالب منطقه و تعیین درصد همزیستی آن‌ها با ریشه گیاهان در غرب ذخیره گاه بیوسفر توران پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

انتخاب ایستگاه نمونه‌برداری

پس از مراجعه به ایستگاه باران سنجی دلبر واقع در منطقه حفاظت شده خارتوران و بررسی تیپ‌های رویشی مناطق اطراف ایستگاه نمونه‌برداری از نواحی پست حوالی رودخانه کالشور به سمت ارتفاعات تیرکوه با مشخصات زیر انتخاب گردید(جدول 1).

بررسی پوشش گیاهی ایستگاه‌ها

در هر ایستگاه تعداد 3 کوادرات نیمه سیستماتیک ـ تصادفی به ابعاد 10 × 10 ($100\ m^2$) در سه رأس یک مثلث قائم‌الزاویه متساوی الساقین به طول ساق 100 متر مورد بررسی قرار گرفت.

پوشش گیاهی ایستگاه‌ها با استفاده از روش Muller - Dombois & Elenbery (1974) بررسی شد. تراکم نسبی (RD) سطح پوشش نسبی (RC) و در نهایت درجه اهمیت (IV) برای هر یک از گونه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 1 - مشخصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری

ایستگاه	ارتفاع (متر)	موقعیت جغرافیایی
ایستگاه 1	806	N : 35° و 53′ E : 56° و 18′
ایستگاه 2	910	N : 35° و 56′ E : 56° و 13′
ایستگاه 3	1072	N : 35° و 57′ E : 56° و 7′
ایستگاه 4	1213	N : 35° و 57′ E : 56° و 3′
ایستگاه 5	1439	N : 35° و 56′ E : 55° و 59′
ایستگاه 6	945	N : 35° و 48′ E : 56° و 57′
ایستگاه 7	1054	N : 35° و 42′ E : 56° و 31′
ایستگاه 8	1077	N : 35° و 40′ E : 56° و 38′

$$Rci = \frac{Ci}{\sum C}$$ (سطح پوشش نسبی یک گونه)

$$Rfi = \frac{fi}{\sum f}$$ (فرکانس یا بسامد نسبی یک گونه)

$$RDi = \frac{ni}{\sum n}$$ (دانسیته یا تراکم نسبی یک گونه)

$$IV = RDi + Rfi + Rci$$

که در آنها:

ci = تاج پوشش یک گونه، ΣC = مجموع تاج پوشش گونه‌های موجود در پلات‌ها، fi = فرکانس یا بسامد یک گونه در پلات‌ها، Σf = مجموع فرکانس یا بسامد گونه‌های موجود در پلات‌ها، Di = دانسیته یا تراکم یک گونه در پلات‌ها، ni = تعداد پایه‌های یک گونه در پلات‌ها، Σn = مجموع تعداد گونه‌های موجود در پلات‌ها می‌باشند.

نمونه‌برداری از خاک و گیاهان غالب منطقه

نمونه‌های خاک از عمق صفر تا 30 سانتی‌متری ریزوسفر هر گیاه در فصل بهار جمع آوری شد. نمونه‌های خاک به همراه ریشه‌های گیاهان پس از کدگذاری در شرایط نزدیک به 4 درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه نمونه‌های خاک را در دمای محیط به مدت 48 ساعت خشک کرده و سپس با الک دو میلی‌متری خاک‌ها را الک کرده، نمونه‌های خاک مربوط به 3 پایه از گیاهان غالب در هر پلات را با هم مخلوط کرده و سپس مورد بررسی‌هایی به منظور تعیین درصد همزیستی و شمارش تعداد اسپورهای میکوریزی قرار گرفت.

جداسازی اسپورهای قارچ‌ها از خاک

برای جداسازی اسپورهای موجود در هر نمونه خاک از روش الک مرطوب و سانتریفوژ ساکارزی با شیب 60 درصد 900 دور به مدت 2 دقیقه استفاده شد. برای شمارش اسپورها بخش محلول خاک سانتریفوژ شده را از کاغذ صافی میلی پور مدرج گذرانده و تعداد اسپورها در یک گرم خاک هر پلات به‌دست آمد (Dalpe, 1993).

شناسایی اسپورهای میکوریزی

اسپورهای جداسازی شده با استفاده از استریومیکروسکوپ براساس ویژگی‌های مورفولوژیکی نظیر شکل، رنگ و اندازه به دسته‌های مشخص تقسیم شدند. اسپورهای مربوط به هر گروه برروی لام‌هایی که در یک طرف آن یک قطره پلی ونیل الکل ـ لاکتیک اسید ـ گلسیرین (PVLG) و در طرف دیگر آن یک قطره مخلوط ملزر + PVLG قرار داده شده بود، چسبانده شدند. سپس رنگ اسپورها با استفاده از جدول رنگ موجود در

www.SID.ir

Archive of SID

سایت اینترنتی INVAM مشخص شد و واکنش اسپورها در معرف ملزر نیز در شناسایی گونه‌ها مورد توجه قرار گرفت. در نهایت با توجه به مشخصات ثبت شده هر اسپور و با استفاده از کلیدهای شناسایی و سایت INVAM نام علمی هر گونه مشخص شد.

تعیین درصد همزیستی

از میان ریشه‌های هر نمونه گیاهی ریشه‌های نازک‌تر از میلی‌متر قطر مورد برش‌های طولی دستی قرار گرفتند. پس برای رنگ آمیزی از رنگ لاکتوفنول کانن بلو که رنگ کننده ارباسکول و وزیکول و سایر اندام‌های قارچی است و همگی را به رنگ آبی در می‌آورد استفاده شد. نمونه‌های رنگ آمیزی شده، توسط میکروسکوپ نوری الیمپوس مورد مشاهده و بررسی قرار گرفت و عکسبرداری از آلودگی به قارچ‌های میکوریزایی انجام شد.

نتیجه و بحث

شناسایی گونه هاگ‌های میکوریزی

گونه‌های میکوریزی شناسایی شده از ایستگاه‌های نمونه‌برداری همگی به جز یک گونه از جنس *Glomus* می‌باشند. جنس *Glomus* از مشهورترین قارچ‌های آربوسکولار ـ میکوریز می‌باشند. در این جنس بیش از 50 گونه وجود دارد که هاگ‌های با اشکال نامنظم با قطر 400 ـ 20 µm دارند. این هاگ‌ها دارای دیواره ضخیم بوده و به رنگ‌های شفاف، زرد، قهوه‌ای و سیاه دیده می‌شوند. هاگ‌ها به یک هیف منفرد متصل می‌باشند و در خاک اطراف ریشه گیاهان در قسمت سطحی خاک و یا گاهی در ریشه‌های گیاهان بوجود می‌آیند (Beyene & Richen, 1996). لازم به ذکر است که در شرایط نمونه‌برداری از طبیعت شناسایی دقیق گونه هاگ‌های میکوریزی کار بسیار دشواری است. زیرا در این شرایط هاگ یک گونه ممکن است در مراحل مختلف تشکیل تا بلوغ یافت شود و با افزایش سن، بعضی مشخصات لازم برای شناسایی را از دست بدهد. بنابراین برای شناسایی چنین نمونه‌هایی باید بارها هاگ از خاک جدا شود تا نمونه‌های سالم و دست نخورده به‌دست آید و مورد شناسایی قرار گیرد. لیست گونه‌های میکوریزی شناسایی شده از 8 ایستگاه از غرب منطقه حفاظت شده خارتوران در جدول شماره (2) ارائه شده است. تصاویر اسپورهای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در انتهای مقاله ارائه شده است.

جدول 2 – قارچ‌های میکوریز آربوسکولار شناسایی شده از غرب منطقه حفاظت شده خارتوران

نام گونه	ایستگاههایی که هاگ مربوطه از خاک آنها جدا شده است
G. intraradices	1، 2، 4، 5، 7
G. rubiforme	1، 3
G. gerdemanii	2، 5
G. faciculatum	1، 3، 5
G. geosporum	2
G. occultum	2
G. diaphanum	4
G. etunicatum	4
G. constrictum	5
G.macrocarpum	1، 2، 4، 7، 8
G. microaggregatum	1، 7
Entrophospora infrequens	5، 7

تعیین درصد همزیستی میکوریزی

بررسی‌های میکروسکوپی به منظور یافتن آثار قابل اطمینانی از همزیستی میکوریزی در گونه‌های شاخص ایستگاه‌های مورد بررسی صورت گرفته است. در این بررسی‌ها بعضی از گونه‌ها از جمله *Artemisia sieberi*

www.SID.ir

Archive of SID

درصد بالایی از همزیستی را در هر یک از ایستگاه‌هایی که وجود داشتند نشان داده و برخی از آن‌ها نظیر هادوفیت‌ها مورد بررسی هیچ اثری از همزیستی میکوریزی نشان ندادند. درصد همزیستی گونه‌های شاخص در ایستگاه‌های مورد بررسی در جدول شماره (3) ارائه شده است.

حدود 90 درصد گیاهان آوندی به‌طور طبیعی با قارچ‌های میکوریز رابطه همزیستی مفید دارند. به طوری که در 1000 جنس از گیاهان که به حدود 200 خانواده گیاهی تعلق دارند میکوریز مشاهده شده است. در این میان در برخی خانواده‌ها مثل *Brassicaceae*، *Chenopodiaceae*، *Cyperaceae* به مقدار ضعیف همزیستی با قارچ‌های میکوریزی دیده می‌شود (Bagyaraj, 1991; Killham, 1994). نتایج بررسی‌های صورت گرفته برروی برش‌های طولی پوست ریشه گیاهان غالب حاضر در ایستگاه‌های مورد مطالعه و بررسی درجه همزیستی ریشه این گیاهان با قارچ‌های میکوریز تأیید کننده مطلب بالاست. از 6 گونه حاضر در ایستگاه‌های مورد مطالعه که مطلق به خانواده *Chenopodiaceae* بودند هیچ‌کدام همزیستی با قارچ‌های میکوریز نشان نداند.

جدول 3 - درصد همزیستی گونه‌های شاخص در ایستگاه‌های با قارچ‌های وزیکولار آربوسکولار

گونه	خانواده	ایستگاه	درجه اهمیت (IV)	درصد همزیستی
Artemisia sieberi	Asteraceae	2	0/89	82
Artemisia sieberi	Asteraceae	3	1/18	84
Artemisia sieberi	Asteraceae	4	1/49	77
Artemisia sieberi	Asteraceae	5	2/03	87
Artemisia sieberi	Asteraceae	6	1/21	81
Artemisia sieberi	Asteraceae	7	1/47	85
Artemisia sieberi	Asteraceae	8	1/89	79
Ephedra strobilacea	Ephedraceae	3	0/81	80
Ephedra strobilacea	Ephedraceae	4	0/83	70
Artaphaxis spinosa	Polygonaceae	4	0/30	60
Amygdalus lyeioides	Rosaceae	5	0/69	55
Zygophyllum atriplicodes	Zygophyllaceae	2	1/34	28
Zygophyllum atriplicodes	Zygophyllaceae	3	0/66	33
Zygophyllum atriplicodes	Zygophyllaceae	4	0/15	40
Zygophyllum atriplicodes	Zygophyllaceae	6	1/07	39
Zygophyllum atriplicodes	Zygophyllaceae	7	1/55	45
Zygophyllum atriplicodes	Zygophyllaceae	8	39/1	30
Tamarix hispida	Tamaricaceae	1	1/15	0
Tamarix hispida	Tamaricaceae	6	0/74	0
Petrosimonia glauca	Chenopodiaceae	1	0/74	0
Petrosimonia glauca	Chenopodiaceae	7	1/25	0
Petrosimonia glauca	Chenopodiaceae	8	0/98	0
Salsola incanescens	Chenopodiaceae	1	0/48	0
Salsola incanescens	Chenopodiaceae	8	0/62	0
Salsola turcomunica	Chenopodiaceae	1	0/37	0
Seidlitzia rosmarixus	Chenopodiaceae	1	0/78	0
Seidlitzia rosmarixus	Chenopodiaceae	7	0/26	0
Halocemum strobilaceum	Chenopodiaceae	1	0/31	0
Haloxylon amodendron	Chenopodiaceae	2	1/12	0
Haloxylon amodendron	Chenopodiaceae	6	0/72	0
Haloxylon amodendron	Chenopodiaceae	7	2/64	0

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

Bagyarij, D. J. (1991). *Ecology of Vesicular-Arbuscular mycorrhizae*. pp. 3-34. in: Handbook of applied mycology. Vol. I. *Dekker*. London.

Beyene, S. and B. Richen (1996). Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on dry matter yield, as well as P and K concentrations in maize at increasing levels supply. *Journal of Applied Botany*. 70: 194-198.

Dalpe,Y. (1993). Vesicular – arbuscular mycorrhiza. pp. 287 – 301. In: M.R. Carter (ed). Soil sampling and methods of analysis. *Lewis, Boca Raton*.

Davies, F.T., J. Potter, and R.G. Linderman (1992). Mycorrhizal and repeated drought exposure affect drought resistance and exradical hyphae devolpment of Plpper plants independent of plant size and nutrient content. *J. plant. Physiol*., 139: 289 – 294.

Hayman, D.S. (1983). The physiology of vesicular – arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot*., 61: 944 – 963.

Heald, C.M., B.D. Brnton and R.M. Daris (1989). Influence of *Glomus intraradrces* and soil phosphorus on meloidgune in cognita infecting cueumis. *Melo. J.Nematol*., 21 (1): 69- 73.

Killham, K. (1994). *Soil ecology*. Cambridge University Press. pp. 66. London.

Muller Dombius, D. H. and Ellenberg (1974). *Aims and methods of evgetation ecology*. John wiley & Sons.

Zangeneh, S., A. B. Shirvani, Y.M. Alian, M. Najfnina, F. Karampur, and H. Ghaledezdani (2005). Introduction of some new arbuscular – mycorrhizal fungi (AFM) from citrus rhizosphere of Iran. *Rostaniha*., 6: 77 – 89.

Zarre M., H. Ebrahimzadeh and F. Karimi (2004). The study of occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi (AFM) in rhizosphere of *Artemisia sieberi* from Kharturan – Semnan province, in relation to physical and chemical properties of soil and neighboring plants. *Iranian Journal of Biology*. 17 (1): 70 – 79.

www.SID.ir