



تأثیر گونه‌های *Streptomyces* بر تندش اسپور و رشد هیف قارچ میکوریز آربوسکولار

زهرا پورمیرزائی¹، ناصرعلی اصغرزاد²، علیرضا دهناد³، نصرت الله نجفی⁴

1- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیولوژی و بیوتکنولوژی علوم خاک دانشگاه تبریز

2- استاد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

3- پژوهشکده بیوتکنولوژی سازمان جهاد کشاورزی تبریز

4- استاد یار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

z.pormirzae87@yahoo.com

چکیده

در یک آزمایش درون شیشه ای اثرکشت توأم سه گونه *S. sp* و *S. albo griseus*، *Streptomyces. griseus* با اسپوره‌های قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus intraradices* بر تندش اسپور و رشد هیف این قارچ مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تکثیر این قارچ به روش درون شیشه ای، اسپوره‌های حاصل در شرایط کاملاً استریل جداسازی شده و ضد عفونی گردید، سپس بر روی آب آگار 1/5 درصد (w/v) به تنهایی به عنوان تیمار شاهد و در کنار میکروکلنی های سه گونه باکتری معرفی شده به عنوان تیمارهای باکتری + اسپور قارچ قرار گرفتند. اثرات تحریکی هر سه گونه *Streptomyces* بر تندش و رشد هیف قارچ میکوریز کاملاً مشخص گردید. در این میان *S. sp* بیشترین تأثیر را در رشد هیف قارچی نشان داد و *S. griseus* تأثیر معنی دار در افزایش رشد هیف ها نشان نداد. همچنین تأثیر هر سه باکتری در افزایش درصد تندش اسپوره‌های قارچی یکسان بوده و نسبت به شاهد معنی دار بودند.

کلمات کلیدی: *Streptomyces*، باکتری های محرک رشد قارچ، قارچ میکوریز آربوسکولار

مقدمه

یکی از ارکان مهم در نیل به کشاورزی پایدار، بکارگیری روش‌های بیولوژیک در تولید محصولات کشاورزی است. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF) از دیرباز بعنوان همزیست ریشه گیاهان در بهبود رشد آنها در شرایط فقر غذایی و تنش‌های محیطی، شناخته شده است. اما ماهیت همزیست اجباری قارچ‌های AMF با ریشه گیاهان مانع مطالعات دقیق فیزیولوژیکی و ژنتیکی این ارگانیسم‌ها در شرایط آزمایشگاه می‌شود. بنابراین، برای بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی بر شاخص‌های رشدی گیاه و همچنین تکثیر قارچ‌های AMF از اسپوره‌های تندش یافته این قارچ‌ها برای تلقیح در ریشه گیاهان میزبان استفاده می‌شود (5). هر چند تندش اسپوره‌های قارچ‌های AMF در شرایط آزمایشگاهی و همچنین شرایط طبیعی خاک فرآیندی غیرقابل پیش‌بینی، آهسته و گاه غیرممکن است (2). بنابراین با افزایش مقدار تندش اسپوره‌های قارچ‌های AMF و تولید هیف‌های بیشتر می‌توان پتانسیل زادمایه‌های این قارچ‌ها را افزایش داد و در نتیجه عملکرد گیاهان میکوریزی را بهبود بخشید. برای این منظور به یک عامل محرک جهت تحریک تندش اسپورها و رشد هیف‌ها نیاز است و در این راستا آزمایش حاضر برای بررسی اثر گونه‌های *Streptomyces* و یا متابولیت‌های حاصل از آنها بر تندش اسپور و رشد هیف قارچ *Glomus intraradices* انجام گرفت.



مواد و روشها

مرحله اول) مطابق شکل 1 قارچ *Glomus intraradices* به روش درون شیشه ای در کنار ریشه های تراریخته هویج بر روی محیط کشت بافت ریشه (MSR) به مدت سه ماه کشت داده شد تا هیف های قارچ رشد کرده و اسپورها تولید شوند (1).

مرحله دوم) سه گونه *Streptomyces* به مدت سه الی پنج روز بر روی محیط کشت starch casein agar به صورت نقطه گذاری کشت داده شدند تا میکروکلنی های آنها تشکیل شوند (4).

مرحله سوم) با رعایت شرایط استریل اسپورها را از محیط MSR جدا کرده و در محلول استرپتومایسین 0/02 درصد (w/v) و جنتامایسین 0/01 درصد (w/v) به مدت 30 دقیقه ضدعفونی کرده و سپس با آب مقطر استریل شستشو داده و در نهایت به مدت یک شبانه روز در آب مقطر استریل در یخچال نگهداری شد (1).

مرحله چهارم) مطابق شکل 2 پتری های حاوی آب آگار 1/5 درصد (w/v) را به صورت فرضی به دو نیم دایره تقسیم کرده در یک نیم دایره 25 میکروکلنی استرپتومایسس و در دیگری 10 الی 20 اسپور قارچ میکوریزی قرار داده شد. سپس پتری ها در دمای 28 درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفته و بطور روزانه درصد تندش اسپورها و طول هیف ها زیر بینوکلر بررسی و یادداشت شد (5).
آزمایش شامل 4 تیمار، شامل 1 تیمار شاهد بدون باکتری و 3 تیمار باکتری + اسپور قارچ در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) انجام گرفت. تجزیه آماری داده ها شامل تجزیه واریانس، آزمون نرمال بودن توزیع داده ها و مقایسه میانگین ها با نرم افزار MSTATC انجام شد.

نتایج و بحث

مطابق جدول 1، نتایج بدست آمده از آزمون تأثیر گونه های *Streptomyces* در تندش اسپورهای قارچ *Glomus intraradices* نشان داد که هر سه گونه *Streptomyces* مورد آزمایش در سطح احتمال 1 درصد باعث افزایش معنی دار درصد تندش اسپورهای این قارچ گردید ($p < 0,01$) و نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها حاکی از تأثیر برابر هر سه باکتری در تندش اسپورها بود (جدول 3) همچنین مطالعه تأثیر گونه های *Streptomyces* در رشد هیف ها نشان دهنده افزایش معنی دار ($p < 0,01$) طول هیف های قارچی در تیمارهای همراه باکتری نسبت به شاهد بود (جدول 2) و نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها بیانگر این است که تلقیح توأم *S. griseus* با اسپور قارچ اثر معنی دار در افزایش طول هیف ها ندارد ولی دو گونه دیگر باعث افزایش معنی دار در طول هیف ها شده است که در این میان *S. sp.* بیشترین تأثیر را در افزایش طول هیف ها نشان داد (جدول 3). به نظر می رسد تأثیر مثبت استرپتومایسس ها بر درصد تندش اسپورها و افزایش رشد هیف های قارچی نشان دهنده تولید برخی متابولیت های گازی و محلول ناشناخته ای توسط این باکتری ها است که منجر به تحریک تندش و رشد هیف ها می شوند. شناسایی این متابولیت ها و سازوکار آنها مستلزم بررسی های بیشتری است. احتمالاً سنتز هورمون های محرک رشد مثل ایندول استیک اسید (IAA)، جیبرلین ها و سیتوکینین توسط این باکتری ها دلیل دیگری بر این اثر تحریکی باشد (3).



به هر حال نتیجه حاصل از این آزمایش راه را برای تکثیر قارچ های میکوریزی و افزایش پتانسیل زادماپه های قارچی هموار می سازد.

جدول 1- تجزیه واریانس درصد تندش اسپورهای قارچ

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییر
20/632 **	3266/ 667	9800/000	3	تیمار
	158/ 333	1266/ 667	8	خطای آزمایشی
		11066/ 667	11	کل

C.V=19.87%

جدول 2- تجزیه واریانس رشد طولی هیف های قارچ

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییر
176 /395 **	3563 /667	10691/ 000	3	تیمار
	20/203	161 / 622	8	خطای آزمایشی
		10852/622	11	کل

C.V= 14.00%

جدول 3- اثر سه گونه *Streptomyces* بر درصد تندش اسپورها و رشد طولی هیف های قارچ

تیمارها	درصد تندش اسپورها	رشد طولی هیف ها (mm/spore)
شاهد (بدون باکتری)	16/ 66 B	0/516 C
<i>S.griseus</i> + قارچ	63/ 33 A	7/318 C
<i>S.albo griseus</i> + اسپور	86/ 66A	46/ 901 B
<i>S.sp</i> + قارچ	86/ 66 A	73/ 729 A



شکل ۲



شکل ۱

منابع

- 1) Cranenbrouck, S., L. Voets, C. Bivort, L. Raurent, D.G. Strullu, and S. Declerck. 2005. Methodologies for in vitro cultivation of arbuscular mycorrhizal fungi with root organs. In: Declerck, S., D. G. Strullu, and A. Fortin.(eds). In Vitro Culture of Mycorrhizas. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 341- 372. Part VIIVolume 4
- 2) Daniels, B. A., and D. M. Duff. 1978. Variation in germination and spore morphology among four isolates of *Glomus mosseae*. Mycologia. 70: 1261- 1267.
- 3) Karasawa, T., Y. Kasahara, and M. Takebe. 2001. Variable response of growth and arbuscular mycorrhizal colonization of maize plants to preceding crops in various types of soils. Biol Fertil Soils. 33: 286- 293.
- 4) Shirling, E. B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. Int. J. Syst Bacteriol. 16: 313- 400.
- 5) Tylka, G. L., R. S. Hussey, and R. W. Roncadori. 1991. Axenic germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: Effects of selected *Streptomyces* species. Phytopathology. 81: 751- 754.