شانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

دانشگاه زنجان، ۵ تا ۷ شهریور ۱۳۹۸

محور مقاله: بیولوژی خاک و کودهای زیستی

مطالعه اسپور قارچ‌های اندومیکوریز همزیست با چند گونه گیاه غیر زراعی دایمی و علفی

فاطمه افتخاری*[۱]، مهدی سرچشمه پور[۲]، سید منصور میرتاج الدینی[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

[۲] استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

[۳] استادیار گروه علوم زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده

امروزه تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده مخرب است که تولید محصولات کشاورزی را در سراسر دنیا تحت تاثیر قرار داده است. قارچ‌های میکوریز از طریق مکانیسم‌های متعددی می‌توانند اثرات سوء تنش خشکی را تعدیل کرده و باعث افزایش تحمل گیاه به خشکی و بهبود عملکرد آن شوند. پژوهش حاضر با هدف مطالعه وضعیت میکوریزی مهم‌ترین گیاهان غیرزراعی و دایمی در استان کرمان انجام شده است. ابتدا از ریزوسفر سه گروه گیاهان علفی ریزوم‌دار،گیاهان علفی بدون‌ریزوم و گیاهان دایمی که فراوانی بیشتری در سطح شهرستان‌های استان کرمان داشتند، نمونه‌برداری و به آزمایشگاه منتقل و در یخچال نگهداری شدند. همزمان نمونه گیاه نیز تهیه و از نظر گیاهشناسی نیز مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها از نظر درصد کلنیزاسیون و تعداد اسپور مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس و میانگین‌ها مورد مقایسه آماری قرار گرفت. نتایج نشان داد که تعداد اسپور گیاهان تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارد و بیشترین میانگین تعداد اسپور به‌ترتیب مربوط به گیاهان علفی ریزوم‌دار و سپس دایمی و گیاهان علفی بدون ریزوم می‌باشد.

کلمات کلیدی: قارچ میکوریز، مناطق خشک، کرمان

مقدمه

بخش عمده‌ای از کشور ایران در مناطق خشک و نیمه خشک قرار گرفته و متوسط بارندگی سالانه در بیشتر مناطق پایین‌تر از نیاز گیاهان زراعی می‌باشد. محدودیت اصلی رشد گیاه در مناطق خشک و نیمه‌خشک، کمبود رطوبت و عناصر غذایی به ویژه فسفر است و قارچ‌های میکوریز می‌توانند به افزایش جذب آب و عناصر غذایی (خصوصاً فسفر) و نهایتاً به بهبود رشد و بقاء گیاهان کمک کنند (Smith and Read, 2008). اگرچه قارچ‌های میکوریز-آربوسکولار قادر به ایجاد همزیستی در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی میزبان هستند، اثر این رابطه با توجه به قارچ میکوریزی و گیاه میزبان متفاوت است. گونه‌های گیاهی از نظر میزان وابستگی و آلودگی میکوریزی متفاوت هستند (Ronsheim and Anderson, 2001). فراوانی همزیستی اندومیکوریز به عوامل مختلفی همانند عوامل خاکی، وضعیت رشدی گیاه، عوامل محیطی از جمله دما و فصل بستگی دارد. قارچ‌های میکوریز ضمن ورود به ریشه گیاه، هیف‌های خود را در خاک اطراف ریشه گسترش می‌دهند و ضمن انتقال آب و عناصر معدنی به گیاه، در مقابل از گیاه کربن دریافت می‌کنند (Kabir et al., 1997). تراکم اسپور و غنای قارچ با تبدیل زمین‌های طبیعی به کشاورزی کاهش می‌یابد که از عمده‌ترین دلایل آن استفاده از کودهای شیمیایی است، میزان اسپور در خاک‌های بدون خاکورزی بیشتر از خاک-های تحت خاکورزی است. Oehl و همکاران (۲۰۱۷) با مطالعه تنوع و بیوگرافی قارچ‌های میکوریز در خاک‌های کشاورزی، دریافتند که تنوع قارچ-های میکوریز به شدت تحت تاثیر آب و هوا، شدت استفاده از زمین و پارامترهای خاک است. در این مطالعه تنوع قارچ میکوریز به دلیل استفاده از زمین‌های کشاورزی به خصوص در مناطق معتدل و دیگر مناطق آب و هوایی کاهش یافت و مشخص شد که تنوع گونه‌ها به پارامترهای خاک وابسته است. در این پژوهش بیشترین تنوع متعلق به راسته *Glomerales* بود و تعداد اسپورها در چمنزارها بیشتر از مزرعه بود و همبستگی مثبتی بین pH خاک و فراوانی اسپور و همچنین بین ارتفاع از سطح دریا و شیب‌های مختلف وجود داشت. در تحقیقی که Abdelhalim و همکاران در سال ۲۰۱۳ ترکیب گونه‌ها و تنوع قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را در ۱۳ محصول مورد بررسی قرار دارند، بین تراکم اسپور قارچ میکوریز در خاک و میزان کلنیزاسیون ریشه همبستگی وجود نداشت و در مجموع ۱۷۴۵ اسپور شناسایی شد که مربوط به ۴۲ گونه و ۸ خانواده و ۱۲ جنس بودند و بیشترین آن‌ها مربوط به خانواده *Glomeraceae* بودند. بالاترین تراکم اسپور در سورگوم، پیاز و موز و کمترین در یونجه ثبت شد و راسته *Gigasporales* یافت نشد که می‌تواند به دلیل اختلال خاک در ارتباط با شیوه‌های کشت (شخم یا باروری بلند مدت) باشد. گونه *Glomus* در میان گونه‌های دیگر در مناطق گرمسیری از فراوانی بیشتری برخوردار بود. با توجه به تنوع گونه‌های گیاهی در استان کرمان و شرایط

* ایمیل نویسنده مسئول: f.eftekhari9272@gmail.com

خشک و نیمه‌خشک حاکم بر اکثر مناطق، مطالعه وضعیت همزیستی گیاهان با میکوریزا در اکوسیستم‌های طبیعی در نقاط مختلف استان کرمان دارای اهمیت قابل توجهی است. در این پژوهش وضعیت همزیستی میکوریزایی گیاهان غیرزراعی غالب مناطق بافت، بم، رفسنجان و زرند (چهار جهت مختلف استان) از نظر تعداد اسپور قارچ‌های میکوریزی و در موارد ممکن، درصد کلنیزاسیون ریشه گیاهان مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: ابتدا تعداد ۵ گیاه دایمی و ۶ گیاه علفی استان کرمان را که از توزیع و پراکندگی کافی برخوردار بودند، انتخاب و سپس نمونه‌برداری مرکب در فصل رشد فعال آن‌ها از ریزوسفر گیاه انجام شد. نمونه‌برداری از نقاط (جهات) مختلف استان (به عنوان تکرار) به نحوی بود که هر گیاه حداقل دارای پنج نمونه متفاوت باشد. همزمان از اندام‌های هوایی گیاهان مورد نظر نیز برای شناسایی جنس و گونه، نمونه‌بردرای شد. نمونه‌های مورد مطالعه در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل و در شرایط مناسب نگهداری شدند.

شمارش اسپورهای قارچ‌های میکوریز-آربوسکولار:

در این مرحله نمونه‌ها از نظر وضعیت کلنیزاسیون و تعداد اسپور قارچ مورد بررسی اولیه قرار گرفته و در نهایت تعداد اسپور در ۱۰۰ گرم خاک تعیین شد. در این روش ابتدا اسپور قارچ‌های میکوریز به روش غربال مرطوب از خاک اطراف ریشه جدا و با میکروسکوپ تشریحی دوچشمی شمارش شد. بدین منظور از هر نمونه خاک یک نمونه مرکب ۱۰۰ گرمی جدا و در یک مخلوط کن ریخته شد و ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و مخلوط به صورت سوسپانسیون درآمد. پس از یک دقیقه هم‌زدن با هم‌زن برقی، از الک‌های۴۰۰، ۱۲۰، ۳۵ مش عبور داده شد و محتویات الک‌های ۴۰۰، ۱۲۰ مش جمع‌آوری شد و به طور مساوی در دو لوله سانتریفیوژ داخل محلول ساکارز ۲/۵ مولار شناور شدند. نمونه‌ها در ۲۷۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی که حاوی اسپور بود، روی الک ۴۰۰ ریخته شد و داخل یک پتری‌دیش جمع‌آوری و با میکروسکوپ تشریحی دوچشمی شمارش گردید و میانگین اسپورهای مربوط بدست آمد(Jansa, 2002). داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم افزار SAS تجزیه واریانس شدند و میانگین‌ها به روش دانکن مورد مقایسه آماری قرار گرفت و نمودارها با نرم افزار Excle و Past رسم گردید. نمودار درختی گروه‌های گیاهی نیز با استفاده از نرم افزار Past (روش Ward) رسم گردید.

مطالعه درصد همزیستی میکوریز ریشه‌ها:

در این مرحله نمونه‌ها از نظر درصد کلنیزاسیون میکوریزی مورد بررسی اولیه قرار گرفتند. بدین منظور ابتدا ریشه گیاهان را در قطعات ۱سانتیمتری بریده و بر اساس(Koske and Gemma, 1989) رنگ‌آمیزی شدند. بررسی وجود و عدم وجود همزیستی میکوریزی در هر قطعه ریشه توسط میکروسکوپ نوری صورت می‌گیرد و درصد آن از طریق فرمول زیر بدست می‌آید.

$$\frac{\text{تعداد نمونه حاوی میکوریز}}{\text{تعداد کل نمونه}} * ۱۰۰$$

تهیه اسلاید و عکسبرداری

تمامی اسپورهایی که در نمونه‌ها مشاهد شد با پنس یا سمپلر جداسازی شدند و روی اسلایدهای شیشه‌ای در دو محلول ملزر و pvlg قرار داده شدند. از هر اسلاید توسط میکروسکوپ عکسبرداری مدل Leica icc50 عکسبرداری انجام شد تا توسط افراد متخصص مورد شناسایی نسبی قرار گیرند.

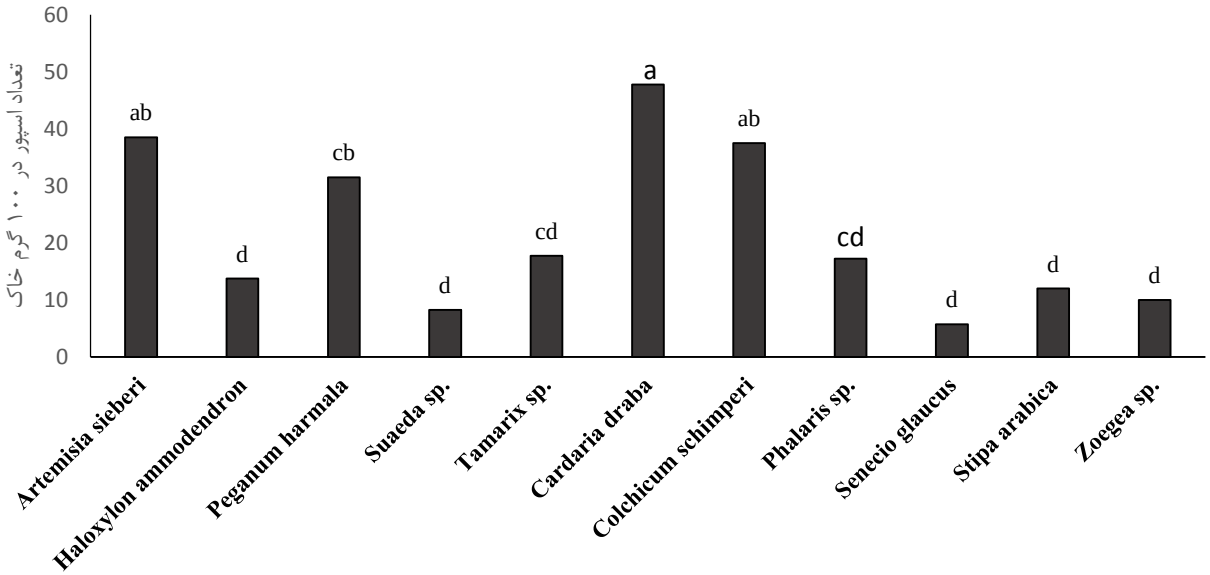
نتایج و بحث

به منظور اطمینان از یکپارچه بودن گیاهان انتخابی، گیاهان از لحاظ گیاه‌شناسی مورد شناسایی قرار گرفتند و نام علمی و فارسی آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. در تمام نمونه‌های جمع‌آوری شده از ریزوسفر گونه‌های مختلف گیاهان دایمی، گیاهان علفی ریزوم‌دار، گیاهان علفی بدون ریزوم، اسپور یافت شد. از آن‌جایی که برای تعیین درصد کلنیزاسیون به ریشه‌های مویین نیاز است، لذا از تعداد کمی از گیاهان که دارای ریشه‌های مویین بودند نمونه‌برداری شد و پس از رنگ آمیزی مشخص شد که گیاه *Senecio glaucus* بیشترین درصد همزیستی را به میزان ۵۵/۵۳ دارد در ضمن این گیاه کمترین میزان اسپور را با میانگین ۵/۷۵ داشت و بنابراین در این مطالعه درصد کلنیزاسیون ارتباط مستقیمی با تعداد اسپور نداشت (Al-Momany and A1-Raddad, 1991) بعد از آن گیاه *Artemisia sieberi* با درصد همزیستی ۵۳/۵۷٪ و میانگین تعداد اسپور ۳۸/۵ و گیاه *Phalaris sp.* با درصد همزیستی ۵۰/۵٪ و میانگین تعداد اسپور ۱۷/۲۵ و گیاه *Tamarix sp.* با درصد همزیستی ۳۹/۲٪ و میانگین تعداد اسپور ۱۷/۷۵ در رده‌های بعدی قرار گرفتند.

جدول ۱- نام علمی و فارسی گیاهان مورد مطالعه

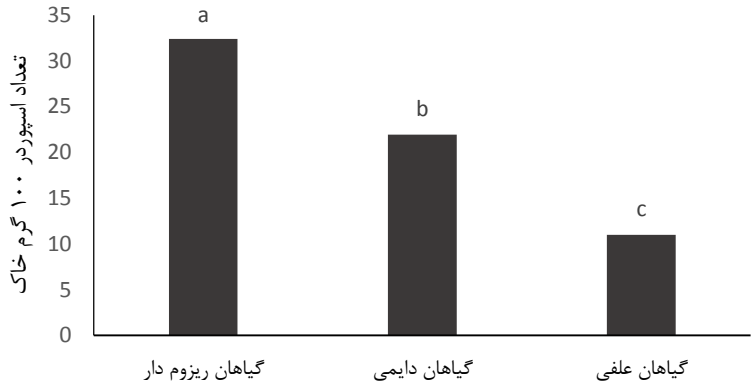
	گیاهان علفی		گیاهان دایمی	
	نام علمی	نام فارسی	نام علمی	نام فارسی
۱	*Cardaria draba*	ترتیزک باغی، موکو (ریزوم دار)	*Artemisia sieberi*	درمنه دشتی
۲	*Colchicum schimperi*	گل حسرت (پیازی)	*Haloxylon ammodendron*	تاغ
۳	*Phalaris sp.*	نوعی از گندمیان	*Peganum harmala*	اسپند
٤	*Senecio glaucus*	پیرگیاه	*Suaeda sp.*	سودا
٥	*Stipa arabica.*	استیپا (ریزوم دار)	*Tamarix sp.*	گز
٦	*Zoegea sp.*	---		

نتایج این آزمایش نشان داد که بین اسپورهای گیاهان مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود دارد. از بین ۱۱ گیاه مورد مطالعه، گیاه *cardaria draba* بیشترین و گیاه *senecio glaucus* کمترین میزان اسپور را داشت (شکل ۱). دلیل فراوانی اسپور در گیاهان علفی احتمالاً به این دلیل است که گیاهان یکساله سریع وارد فاز زایشی می‌شوند و بذر تولید می‌کنند و بیومس گیاه افزایش پیدا می‌کند و رشد هیف-های میکوریز بیشتر شده و اسپور بیشتری تولید می‌کنند(قصریانی و همکاران، ۱۳۸۴). در بین گیاهان دایمی *Artemisia sieberi* بیشترین میزان را دارد که با نتایج قصریانی و همکاران (۱۳۸۴) همخوانی دارد.



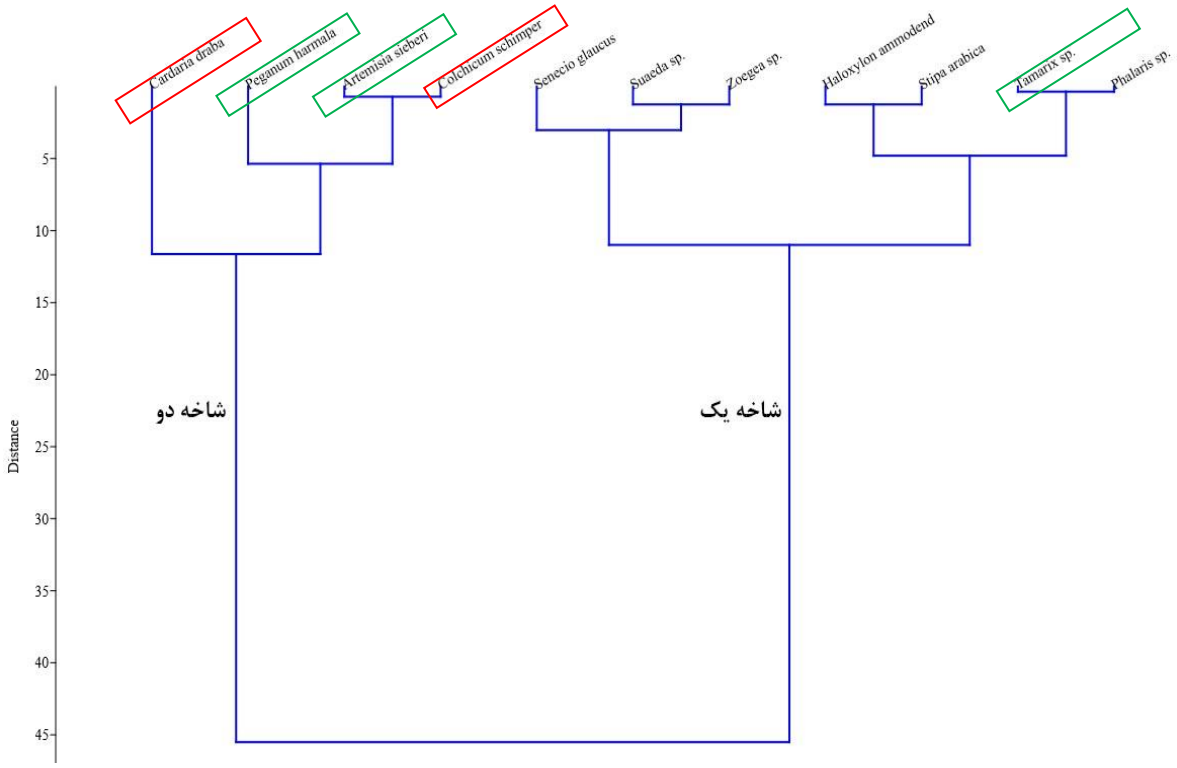
شکل ۱. نمودار فراوانی تعداد اسپور گیاهان دایمی و گیاهان علفی

در بین سه گروه گیاهان علفی ریزوم‌دار، گیاهان دایمی و گیاهان علفی بدون ریزوم، گیاهان علفی ریزوم‌دار تعداد اسپور بالاتری را دارا بودند و با سایر گیاهان اختلاف معنی داری را نشان داد (شکل۲). فراوانی اسپور به عوامل مختلفی مانند فصل رشد، نوع گیاه، عوامل محیطی و خاکی مختلف بستگی دارد. نوع گیاه میزبان و مدت زمان همزیستی از مهم‌ترین عوامل موثر بر میزان کلنیزاسیون قارچی و تولید اسپور می‌باشند (Chaurasia and Khare, 2006). افزایش میزان اسپور در گیاهان دایمی نسبت به علفی می‌تواند به دلیل سیستم ریشه‌ای قوی و با دوام بیشتر باشد. گزارش‌ها نشان می‌دهد که کلنیزاسیون و تعداد اسپور با زمان و با افزایش مراحل رشد گیاه افزایش می‌یابد (Johri and Methew, 1989).



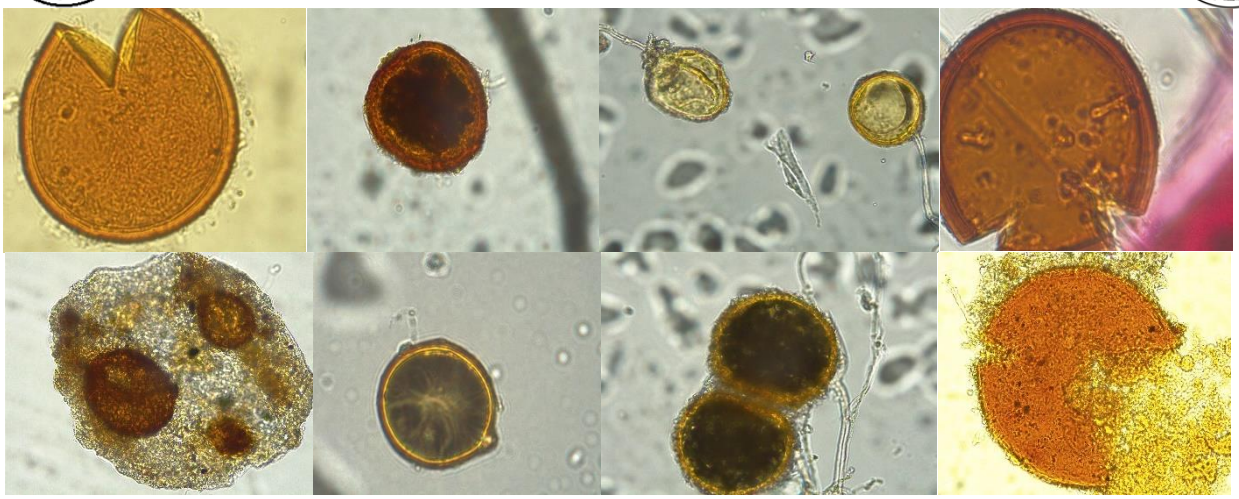
شکل ۲. نمودار فراوانی اسپور سه گروه گیاه

بررسی و رسم نمودار درختی تحلیل خوشه‌ای تعداد اسپور در گونه‌های مختلف نشان داد که گیاهان مورد مطالعه در دو شاخه اصلی قرار می-گیرند(شکل ۳). نکته جالب در این دسته‌بندی گیاهان ریزوم‌دار بودند، زیرا از سه گیاه ریزوم‌دار دو گیاه *Cardaria draba* و *Colchicum schimperi* در کنار *Artemisia sieberi* و *Peganum harmala* و در یک شاخه قرار گرفتند (شاخه ۲ شکل ۳).



شکل ۳. نمودار درختی تحلیل خوشه‌ای بر اساس شباهت تعداد اسپورهای قارچ میکوریز در گونه‌های مختلف گیاهان با روش Ward

اسپورهای مشاهده شده دارای تنوع گوناگونی از لحاظ شکل، رنگ، اندازه داشتند. اسپورهایی به رنگ سفید شیشه‌ای، زرد کمرنگ، نارنجی، سفید، قهوه‌ای متمایل به قرمز، سیاه دیده شد که اکثر اسپورهای مشاهده شده به رنگ نارنجی و قهوه‌ای بودند (شکل ۴).



شکل ۴. تصویر تنوع اسپورهای جدا شده از گیاهان مختلف به منظور شناسایی جدایه‌ها

نتیجه گیری

در این تحقیق اختلاف معنی داری بین تعداد اسپور گیاهان مورد مطالعه در استان کرمان وجود داشت و تعداد اسپور در گیاهان علفی ریزوم دار، گیاهان دائمی و علفی بدون ریزوم به ترتیب بیشتر بود. از بین ۶۴ نمونه از ۴ منطقه در استان، گیاه *Caradaria draba* بیشترین میانگین تعداد اسپور به میزان ۴۷/۷۵ با درصد همزیستی ۵۵/۵۳ و گیاه *Seneico glaucus* با میانگین تعداد اسپور ۵/۷۵ و درصد همزیستی ۵۴/۵٪ کمترین میزان تعداد اسپور را دارا بودند.

منابع

قصریانی, ف., زارع‌مایوان, ح. چائی‌چی، م.۱۳۸۶. پراکنش پوشش گیاهان میکوریزی در ارتباط با برخی از ویژگی های خاک در پارک ملی کویر. مجله محیط شناسی, ۳۳ (۴۴)، ۱۱۶-۱۰۵.

Abdelhalim, T.S., Finckh, M.R., Babiker, A.G. and Oehl, F. 2014. Species composition and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in White Nile state, Central Sudan. Archives of Agronomy and Soil Science, 60, 377-391.

Koske, R.E. and Gemma, J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. Mycological research, 92, 486-488.

Oehl, F., Laczko, E., Oberholzer, H.R., Jansa, J. and Egli, S. 2017. Diversity and biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. Biology and Fertility of Soils, 53, 777-797.

Ronsheim, M.L. and Anderson, S.E. 2001. Population-level specificity in the plant-mycorrhizae association alters intraspecific interactions among neighboring plants. Oecologia, 128, 77-84.

Kabir, Z., O'halloran, I.P., Fyles, J.W. and Hamel, C. 1997. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: hyphal density and mycorrhizal root colonization. Plant and Soil, 192(2), 285-293.

Smith, S.E. and Read, D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis (Third Edition). London: Academic Press.

Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I.R. and Frossard, E. 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. Mycorrhiza, 12, 225-234.

Chaurasia, B. and Khare, P. 2006. Hordeum vulgare: a suitable host for mass production of arbuscular mycorrhizal fungi from natural soil. Applied ecology and environmental research, 4, 45-53.

Johri, B. and Methew, J. 1989. Strategies for mass cultivation of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. Plant microbe interactions. Narendra Publication House, Delhi, 293-303.

Al-Momany, A. and A1-Raddad. A. 1991. Response of bean, broadbean and chickpea plants to inoculation with Glomus species. Scientia horticulturae, 46, 195-200.

Topic for submission: **Soil Biology and Biofertilizers**

Study of Endomycorrhizal Fungi Spores Associated with Some Species of Permanent and Seasonal Herbaceous Noncrop Plants

Fatemeh Eftekhari1, Mehdi Sarcheshmehpour2, Seyed Mansour Mirtadzadini3

1,2 Faculty of Agriculture, Department of Soil Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3 Faculty of Biology, Department of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Abstract

Drought stress is one of the most important destructive abiotic stress that has affected crop production in all the world. Mycorrhizal fungi (AMF) employ various mechanisms to alleviate the adverse effects of drought stress on plants. AMF increase plant resistance to stress condition as a consequence improve plant yield. The current study aimed to investigate AMF status in noncrop and permanent plants. At first, soil and root were collected from the rhizosphere of three gropes of plants include seasonal herbaceous plants with the rhizome, the seasonal herbaceous plants without the rhizome and permanent plants from Kerman province. After that samples were transported to the laboratory and kept in the refrigerator and plant samples were identified. Root colonization and soil spore number were determined in the samples. The experiment result was analyzed as a completely random design and the means were statistically compared. The result showed that plant samples were significantly different in the number of spores. The highest mean of spore number was found in the seasonal herbaceous plants with the rhizome, permanent plants, and the seasonal herbaceous plants without the rhizome respectively.

Keywords**:** Mycorrhizal fungi, dryland, Kerman.