تأثیر نوع گیاه میزبان و انواع بستر کشت بر میزان کلنیزاسیون ریشه و جمعیت اسپور قارچ میکوریز آربوسکولار

هاجر محمودی [۱]، ناصرعلی اصغرزاد [۲]، محمدرضا ساریخانی [۳] و نصرت‌الله نجفی [۴]
۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه تبریز، ۲- استاد گروه علوم خاک، دانشگاه تبریز، ۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه تبریز، ۴- دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه تبریز

چکیده
میزان کلنیزاسیون ریشه و جمعیت اسپور شاخص‌هایی ار پتانسیل همزیستی میکوریزی هستند. در این پژوهش، تأثیر دو گیاه شبدر (*Trifolium repens* L.) و سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) و هفت نوع بستر کشت بر میزان استقرار همزیستی میکوریزی در ریشه گیاهان و جمعیت اسپور در بسترهای مورد استفاده با گونه قارچی *Glomus versiforme* در سه تکرار بررسی شد. میزان کلنیزاسیون ریشه به روش MIM[۷۵] و تعداد اسپور به روش الک مرطوب شمارش شد. درصد کلنیزاسیون در گیاه شبدر در کل بسترهای مورد استفاده به جز کمپوست با ورمیکولایت و خاک لوم‌شنی با پرلیت که تفاوت غیرمعنی‌داری با هم داشتند، به‌طور معنی‌داری از گیاه سورگوم بیشتر شد. در بسترهای استفاده شده در دو گیاه فقط در بستر خاک لوم شنی با پرلیت جمعیت اسپور به‌طور معنی‌دار در گیاه سورگوم بیشتر از گیاه شبدر بود. سایر بسترهای استفاده شده در دو گیاه با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند.

واژه‌های کلیدی: کلنیزاسیون ریشه، اسپور، زادمایه

مقدمه
در بین فناوری‌هایی که برای تولید زادمایه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار وجود دارد روش گلدانی ساده، ارزان و طبیعی بوده و قابلیت اجرایی بالایی دارد (ساریخانی و ابراهیمی، ۱۳۸۹). اما زادمایه خاکی به دلیل وزن طبیعی آن مشکلات حمل و نقلی ایجاد می‌کند؛ بنابراین، دستکاری بستر و محیط برای تولید گلدانی زادمایه قارچی AM[۷۶] با آلودگی کم به پاتوژن‌ها و قارچ‌های بومی و انتقال آسان مورد توجه است (چلاپن و همکاران، ۲۰۰۲).
گیاهان میزبان برای تولید زادمایه باید با شرایط غالب رشد سازگار بوده و و با قارچ‌های AM سریع کلنیزه شود، توانایی تولید مقدار ریشه فراوان در زمان کوتاه را داشته و گیاه میزبان باید تا حد ممکن با گونه‌های گیاهی که زادمایه تولید شده است متفاوت باشد تا گسترش بیماری ها و آفات به گیاه هدف به حداقل برسد (هبت و اسریو، ۲۰۰۱).
در سطح جهانی تحقیقاتی زیادی در این زمینه صورت گرفته است کوپوسامی و کیوموتا (۲۰۱۲) نتیجه گرفتند که افزودن ۱۰ درصد خاک به ورمی‌کولیت استریل برای تولید قارچ AM مناسب‌تر از ورمیکولیت خالی می‌باشد. دودز و همکاران (۲۰۰۶) در یک تحقیق مزرعه‌ای از نسبت‌های حجمی نسبت‌های حجمی ۱:۴، ۱:۹ و ۱:۹۹ ورمیکولیت به کمپوست و نسبت‌های حجمی ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۷ ورمیکولیت به خاک استفاده شد و بیشترین تعداد پروپاگول قارچ‌های AM و کلنیزاسیون ریشه‌های باهایاگراس را در نسبت ۱:۴ ورمیکولیت به کمپوست گزارش کردند. در سطح کشور تا کنون تحقیقات اندکی در این زمینه صورت گرفته است. بنابراین با توجه به اهمیت موضوع، این پژوهش بر آن است تا با ارزیابی تأثیر انواع بسترها در هفت نوع و دو نوع گیاه میزبان شامل گیاه شبدر و سورگوم بر میزان کلنیزاسیون و جمعیت اسپور اقدام به تولید زادمایه با کمترین هزینه نماید.

مواد و روش‌ها
در این آزمایش هفت نوع بستر کشت به صورت مخلوط حجمی با نسبت ۱ به ۴ و تیمار شاهد استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱- بسترهای مورد استفاده و نسبت اختلاط آن‌ها

ردیف	علامت اختصاری بسترها	بسترهای مورد استفاده	نسبت حجمی
۱	C	خاک شن لومی	-

[۷۵] Magnified intersections method
[۷۶] Arbuscular mycorrhiza

۲	COP	کمپوست به پرلیت	۱ به ۴
۳	COVL	کمپوست به ورمیکولیت	۱ به ۴
۴	VMP	ورمی‌کمپوست به پرلیت	۱ به ۴
۵	VMVL	ورمی‌کمپوست به ورمیکولیت	۱ به ۴
۶	SP	خاک لوم شنی به پرلیت	۱ به ۴
۷	SVL	خاک لوم شنی به ورمی‌کولیت	۱ به ۴
C: خاک شن‌لومی، CO: کمپوست، VM: ورمی‌کمپوست، S: خاک لوم‌شنی، VL: ورمیکولیت، P: پرلیت			

دو نوع خاک مورد استفاده در این آزمایش از ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان دانشگاه تبریز از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متر نمونه‌برداری شد. برخی ویژگی‌های بسترهای مورد استفاده در آزمایش پس از عبور از الک ۲ میلیمتر اندازه‌گیری شدند (جدول ۲).

جدول ۲-برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بسترهای مورد استفاده

نوع بستر مورد استفاده	بافت خاک	pH	F.C%	EC_e (dS/m)	OC%	P (mg/kg) K (mg/kg)	
C (شاهد)	شن لومی	۸۱/۷	۱۲	۴/۱	۲۲۱/۰	۴/۴	۱۸۳
COP	-	۶۸/۷	۵۲	۶۴/۳	۳۲/۱	۱۰۲	۱۲۹۵
COVL	-	۵۱/۷	۸۳	۶۴/۳	۴۴/۱	۱۰۴	۱۰۶۵
VMP	-	۳۶/۹	۱۳۸	۲۳/۲	۴۸/۱	۱۳۰	۳۱۷
VMVL	-	۷۹/۷	۱۲۱	۹۵/۱	۵۶/۱	۱۴۱	۳۹۷
SP	-	۹۴/۸	۵۷	۲۴/۰	۱۳۶/۰	۶/۷	۱۰۷
SVL	-	۴۵/۸	۷۲	۲۲/۰	۱۹۵/۰	۹/۴	۹۷
C: خاک شن‌لومی، CO: کمپوست، VM: ورمی‌کمپوست، S: خاک لوم‌شنی، VL: ورمیکولیت، P: پرلیت							

زادمایه قارچ مورد نظر از زادمایه خاکی قارچ میکوریز آربوسکولار گونه Glomus versiforme (ایزوله دشت تبریز) تهیه شد. پس از آماده‌سازی و استریل بسترها ۷۰ گرم از زادمایه قارچی به صورت یک لایه نازک در عمق ۴-۳ سانتیمتری سطح بستر کشت به هرگلدان اضافه شد. و رطوبت گلدان‌ها به ۸/۰-۸۵/۰ FC رسانده شد. از بذور شبدر (Trifolium repens L.) و سورگوم (Sorghum bicolor L.) با درصد جوانه‌زنی بالا استفاده شد. گیاهان به مدت سه ماه رشد کردند.

برای تعیین پتانسیل زادمایه، بخشی از ریشه‌های ریز و ظریف پس از شستشوی کامل با آب در الکل اتیلیک ۵۰ درصد تثبیت و به روش کورمانیک و مک گراو (۱۹۸۲) رنگ‌آمیزی شدند و جهت تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه از روش MIM (روش تقاطع‌های بزرگ‌نمائی شده) استفاده شد. بدین ترتیب که محل تقاطع لنز خط‌کش‌دار با ریشه که حاوی اندامک‌های میکوریزی (هیف، آربوسکول و وزیکول) بودند به صورت درصدی از کل تقاطع‌های شمارش شده گزارش شد (اولسون و همکاران، ۲۰۱۰).

شمارش اسپور در سه تکرار برای هر تیمار صورت گرفت، استخراج اسپور به روش الک مرطوب (گردمن و نیکولسون، ۱۹۶۳) انجام شد و محلول حاصل از صافی کاغذی رد شده و زیر بینوکلر شمارش شد (گائور و آدلیا، ۱۹۹۴). آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای مورد استفاده در آزمایش شامل هفت نوع بستر و دو نوع گیاه شبدر (C۳) و سورگوم (C۴) بودند.

نتایج و بحث

درصد کلنیزاسیون ریشه

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که میزان کلنیزاسیون کل گیاه شبدر (۹۶/۵۲ درصد) نسبت به گیاه سورگوم (۶۲/۲۹ درصد) بیشتر بود (جدول ۳). دلیل آن به ترکیب ترشحات ریشه گیاهان لگوم نسبت داده می‌شود (کارنهو و همکاران، ۲۰۰۲). بیشترین میزان کلنیزاسیون کل صرف‌نظر از نوع گیاه در بستر C و COP مشاهده شد که به ترتیب ۸۳/۶۹ و ۷۳/۵۹ درصد بود. کمترین میزان کلنیزاسیون مربوط به بستر VMP (۸۳/۱۵) و VMVL (۱۸/۲۳) درصد بود. دلیل آن را می‌توان به غلظت بالای فسفر در ورمی‌کمپوست نسبت داد. سطوح بالای فسفر کلنیزاسیون قارچ‌های AM را محدود می‌کند (اسمیت و زید، ۲۰۰۸) برای اثر برهمکنش گیاه و بستر درصد کلنیزاسیون در گیاه شبدر در کل بسترهای مورد استفاده به جز COVL و SP (تفاوت غیرمعنی‌دار) به طور معنی‌داری از گیاه سورگوم بیشتر شد. با توجه به نتایج مذکور در این پژوهش گیاه شبدر و بسترهای C و COP میزان کلنیزاسیون بالایی را به خود اختصاص دادند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر گیاه و بستر و برهمکنش گیاه و بستر بر درصد کلنیزاسیون

عامل	اثر اصلی	درصد کلنیزاسیون	عامل	برهمکنش	درصد کلنیزاسیون
				C	a۳۳/۷۷
	شبدر	a ۹۶/۵۲		COP	a۰۷/۸۸
				COVL	b۱۳ /۵۶
نوع گیاه				VMP	de۲۷/۲۷
			شبدر	VMVL	d ۰۷/۳۲
	سورگوم	b۶۲/۲۹		SP	bc ۲/۵۳
				SVL	cd ۶۳/۳۶
	C	ab۷۳/۵۹	گیاه × بستر	C	bcd ۱۳/۴۲
	COP	a ۸۸/۶۹		COP	bc ۷/۵۱
	COVL	c ۷۵/۴۹		COVL	
	VMP	e ۸۳/۱۵		bcd ۳۷/۴۳	
نوع بستر	VMVL	de ۱۸/۲۳	سورگوم	VMP	f ۴/۴
	SP	bc ۷۲/۴۶		VMVL	ef ۳/۱۴
	SVL	d ۹۲/۲۳		SP	bcd ۲۳/۴۰
				SVL	ef ۲/۱۱

C: خاک شن‌لومی، CO: کمپوست، VM: ورمی‌کمپوست، S: خاک لوم‌شنی، VL: ورمیکولیت، P: پرلیت. در هر ستون و در هر عامل، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جمعیت اسپور در بستر

نتایج مقایسه میانگین نشان داد جمعیت اسپور در گیاه شبدر و گیاه سورگوم. بدون در نظر گرفتن نوع بستر تفاوت معنی‌داری نداشت. آدلیا و گائور (۲۰۰۲) گزارش کردند که در دوره‌هایی از تکثیر قارچ‌های AM بیشترین تعداد اسپور در گیاه سورگوم مشاهده

شد و بعد از آن به ترتیب یونجه، ذرت، شبدر و جو اسپورهای کمتری تولید کردند. در تحقیق دیگری تعداد اسپور بادام‌زمینی بیشتر از ذرت و آن بیش از سورگوم گزارش شد (کارنهو و همکاران، ۲۰۰۲). عاملهای محدودکننده فتوسنتز مانند شدت نور و از بین رفتن برگها ممکن است اسپورزایی را تحت تأثیر قرار دهند (بتلنفالوی و پاکوسیزکی، ۱۹۸۳). برای اثر بستر بیشترین جمعیت اسپور در بستر COVL مشاهده شد. . نوید و همکاران (۱۹۹۶) افزایش جمعیت اسپور را با افزایش کمپوست زباله نشان دادند. کمترین جمعیت اسپور در بستر VMP و VMVL مشاهده شد که احتمالاً به میزان بالای فسفر در ورمی‌کمپوست مربوط می‌شود (جدول ۴). سطوح بالای فسفر اسپورزایی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (گزی و همکاران، ۱۹۹۲). در بسترهای استفاده شده در دو گیاه فقط در بستر SP جمعیت اسپور به‌طور معنی‌داری در گیاه سورگوم بیشتر از گیاه شبدر بود و سایر بسترهای استفاده شده در دو گیاه با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر گیاه و بستر و برهمکنش گیاه و بستر بر جمعیت اسپور بر ۱۰ گرم بستر

عامل	اثر اصلی	جمعیت اسپور	عامل	برهمکنش	جمعیت اسپور
نوع گیاه	شبدر	a ۶/۶۸	شبدر	C	de۶۷/۶۹
				COP	bc۶۷/۹۶
				COVL	a۷/۱۱۶
				VMP	g۳۱
				VMVL	fg ۶۷/۳۸
	سورگوم	a۳/۷۲		SP	fg ۳۳/۴۱
				SVL	cd ۳۳/۸۶
نوع بستر	C	C۶۷/۶۸	گیاه × بستر	C	
				de ۶۷/۶۷	
	COP	b ۱۷/۸۸		COP	cd ۶۷/۷۹
	COVL	a ۲/۱۱۲		COVL	ab ۷/۱۰۷
	VMP	d ۵/۳۴	سورگوم	VMP	fg ۳۸
	VMVL	d ۱۷/۴۶		VMVL	ef ۶۷/۵۳
	SP	c ۱۷/۶۰		SP	cd ۷۹
	SVL	b ۵/۸۳		SVL	cd ۶۷/۸۰

C: خاک شن‌لومی، CO: کمپوست، VM: ورمی‌کمپوست، S: خاک لوم‌شنی، VL: ورمیکولیت، P: پرلیت. در هر ستون و در هر عامل، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

منابع

ساریخانی، م.ر.، و ابراهیمی، م. ۱۳۸۹. کودهای زیستی فسفاته (باکتری‌های حل‌کننده فسفات – قارچ‌های میکوریز). اولین کنگره چالش‌های کود در ایران، نیم‌قرن مصرف کود. ۱۰ الی ۱۲ اسفند، تهران، ایران، صفحه ۱ -۱۵.

Bethlenfalvay, G.J and Pacovsky, R.S. ۱۹۸۳. Light effects in mycorrhizal soybeans. Plant Physiology. ۷۳: ۹۶۹-۹۷۲.

Carrenho, R., Trufem, S.F.B. and Bononi, V.L.R., ۲۰۰۲. Effects of using different host plants on the detected biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi from an agroecosystem. Brazilian Journal of Botany. Vol. ۲۵.

Chellappan, P., Christy, S.A.A. and Mahadevan, A., ۲۰۰۲. Multiplication of arbuscular mycorrhizal fungi on roots. In: K.G. Mukerji, C. Manoharachary and B.P. Chamola (eds). Techniques in Mycorrhizal Studies. Springer Netherlands. pp. ۲۸۵-۲۹۷.

Douds Jr, D.D., Nagahashi, G., Pfeffer, P.E., Reider, C., and Kayser, W.M., ۲۰۰۶. On-farm production of AM fungus inoculum in mixtures of compost and vermiculite. Bioresource Technology. ۹۷ : ۸۰۹-۸۱۸.
Gaur, A., and Adholeya, A., ۱۹۹۴. Estimation of AMF spores in soil : a modified method. Mycorrhiza News ۶ : ۱۰-۱۱.
Gazey, C., Abbott, L.K., Robson, A.D., ۱۹۹۲. The rate of development of mycorrhizas affects the onset of sporulation and production of external hyphae by ۲ species of Acaulospora. Myc Res ۹۶ :۶۴۳-۶۵۰.
Gerdemann JW, Nicolson TH (۱۹۶۳) Spores of mycorrhizal Endogone species extracted by wet sieving and decanting. Trans Brit Mycol Soc ۴۶ :۲۳۵-۲۴۴.
Habte, M., and Osorio, N.W., ۲۰۰۱ : Arbuscular mycorrhizas : Producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum. Cooperative Extension work, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa.
Kormanic, P.P., and Graw, M., ۱۹۸۲. Quantification of va mycorrhizae in plant roots. pp. ۳۷-۴۵. In : N.C. Schenck (Ed.). Methods and Principles of Mycorrhizal Research. American Phytopathological Society.
Kuppusamy, S. and Kumutha, K. ۲۰۱۲, Standardization of the spore density of AM fungal inoculum for effective colonization. International Journal of Agriculture Sciences. ۴ : ۱۷۶-۱۸۱.
Noyd, R.K., Pfleger, F.L. and Norland, M.R. ۱۹۹۶. Field responses to added organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi, and fertilizer in reclamation of taconite iron ore tailing. Plant Soil. ۱۷۹ :۸۹-۹۷.
Olsson, P.A., Rahm, J., and Aliasgharzad, N., ۲۰۱۰. Carbon dynamics in mycorrhizal symbioses is linked to carbon costs and phosphorus benefits. Fems Microbiology Ecology. ۷۲ (۱) : ۱۲۵-۳۱.
Smith, S. E. and Read, D. ۲۰۰۸. Micorrhizal symbiosis. Academic press.

Abstract

The root colonization intensity and spore populations are major indicators of mycorrhizal inoculum potential. In this study, the impact of host plant type (Trifolium repens L. and Sorghum bicolor L.) and seven types of pot media was investigated on the establishment of mycorrhizal symbiosis and spore production by Glomus versiforme fungus. Root colonization percentage and spore number were counted using MIM method and sucrose gradient, respectively. Root colonization percent of clover in all used media were more than sorghum plant except in compost+vermiculite and sandy loam soil+perlite (SP) that had not significant diference. Spore number in SP medium was significantly higher in clover than sorghum plant. In this respect, other media used were not significantly different.

Keywords : Root colonization, Spore, Inoculum