

نامه علمی

ارزش قارچ‌های میکوریزی همزیست برای گونه‌های مختلف گیاهی؛ مطالعه موردی: گونه داغداغان (*Celtis caucasica* L.)

محمد متین‌زاده^{۱*}، مصطفی خوشنویس^۲، طاهره علی‌زاده^۳، الهام نوری^۳ و شهاب بختیاری^۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۶

چکیده

در میان همزیستی‌های مهم، همزیستی میکوریزی می‌تواند به استقرار گیاه از طریق افزایش سطح ریزوسفر، جذب آب و عناصر غذایی مهمی مانند فسفر، پتاسیم و نیتروژن کمک کند و سبب افزایش تنوع زیستی، جمعیت میکروبی خاک، مقاومت گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا و تنش‌ها شود. هدف از انجام این پژوهش ارزیابی تأثیر همزیستی میکوریزی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica* L.) بود. از ریشه و خاک ریزوسفر پنج پایه داغداغان در رویشگاه طبیعی چهارطاق کیار در چهارمحال و بختیاری نمونه‌برداری شد. پس از ارزیابی همزیستی، قارچ‌های آریسکولار با استفاده از ذرت تکثیر و سپس بذرهای داغداغان با آنها تلقیح شد. ارزیابی‌ها نشان داد که همزیستی با کلنیزاسیون ۸۰ درصد برقرار شد و در نتیجه میانگین ارتفاع ساقه و سطح برگ نهال‌های میکوریزی بیش از سه برابر و طول ریشه بیش از یک و نیم برابر نهال‌های شاهد بود. بنابراین همزیستی قارچ‌های میکوریز آریسکولار موجب رشد بهتر نهال‌های میکوریزی شده بود.

واژه‌های کلیدی: داغداغان، کلنیزاسیون، ویژگی‌های رویشی، همزیستی.

The value of symbiosis mycorrhizal fungi for different plant species; Case study: *Celtis caucasica* L.

M. Matinizadeh^{1*}, M. Khoshnevis², T. Alizadeh³, E. Nouri³ and Sh. Bakhtiari⁴

Abstract

Among important symbioses, mycorrhizal symbiosis helps the establishment of plant by increasing the rhizosphere distribution, and absorption of water and important soil nutrients such as N, P, and K, leading to increased biodiversity, soil microbial population, and plant resistance against some pathogens and different stresses. This research was aimed to study the influence of symbiosis on morphological characteristics of *Celtis caucasica*. The study was performed in a natural habitat at Chahartagh, Chaharmahal va Bakhtiari province. The rhizosphere soil and root of five individuals of *C. caucasica* were sampled. After assessing the symbiosis, arbuscular mycorrhizal fungi were amplified by *Zea mayz*. Afterwards, the seeds of *C. caucasica* were inoculated by fungi. Assessments showed that symbiosis was created with 80% colonization. Therefore, the stem height, leaf area and root length in mycorrhizal seedlings were more than 3, 3, and 1.5 times as compared with control seedlings. Therefore, the symbiosis of arbuscular mycorrhizal fungi caused the better growth of mycorrhizal seedlings.

Keywords: *Celtis caucasica*, colonization, symbiosis, growth characteristics.

*۱- نویسنده مسئول، دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

پست الکترونیک: matini@rifr-ac.ir

۲- مربی پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- کارشناس پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- کارشناس، سازمان جنگلها، مراتع و آبخیزداری کشور، تهران، ایران

1*- Corresponding author, Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: matini@rifr-ac.ir

2-Senior Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

3- Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

4- Executive Expert, Forests, Range, and Watershed Management Organization, Tehran, Iran

است که زیاد بودن درصد کلنیزاسیون میکوریزی در ریشه باعث افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های محیطی در مناطق خشک می‌شود. در پژوهش دیگری مشخص شد که تولید نهال‌های میکوریزی موجب افزایش رشد، قطر و ارتفاع ساقه، سطح برگ، فتوسنتز، حجم ریشه و جذب فسفر، کلسیم و منیزیم شده است (Birhane et al., 2015). در پژوهش پیش‌رو ابتدا چگونگی تکثیر قارچ‌های میکوریزی داغداغان (*Celtis caucasica* L.) با استفاده از گیاه تله بررسی شد. پس از تکثیر قارچ‌ها، برای رسیدن به هدف اصلی پژوهش، تلقیح روی گونه داغداغان و تولید نهال‌های میکوریزی در گلخانه اقدام شد تا تأثیر همزیستی بر برخی صفات رویشی داغداغان ارزیابی شود.

● اقدامات و یافته‌ها

برای این پژوهش، رویشگاهی در کنار روستای چهارطاق از شهرستان کیار در چهارمحال و بختیاری انتخاب شد. این رویشگاه دارای عرض جغرافیایی $29^{\circ} 49' 31''$ شمالی و طول جغرافیایی $51^{\circ} 33' 50''$ شرقی بوده و ارتفاع آن از سطح دریا ۲۴۰۰ متر است. میانگین بارندگی سالانه منطقه ۵۳۰ میلی‌متر بوده و بیش از ۳۰ سال از قرق آن توسط اداره منابع طبیعی استان می‌گذرد. نمونه‌برداری از خاک و ریشه پنج پایه داغداغان که دارای خصوصیات مورفولوژیک یکسانی بودند، انجام شد. به‌منظور جداسازی اسپورهای خاک نمونه‌های خاک از عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری هر درخت و همچنین برای بررسی درصد کلنیزاسیون میکوریزی، ریشه‌های موین (با قطر حدود یک میلی‌متر) جمع‌آوری شد. نمونه‌های ریشه با روش Phillips و Hayman (۱۹۷۰) رنگ‌آمیزی شدند و درصد آلودگی ریشه با استفاده از روش تقاطع شبکه (Brundrett et al., 1996) و به کمک رابطه ۱ محاسبه شد. رابطه ۱ عبارت است از:

$100 \times (\text{کل قطعات مشاهده شده}) / (\text{تعداد قطعات میکوریزی}) = \text{درصد کلنیزاسیون}$
 در این تحقیق از روش کشت تله‌ای (Trap culture) و گیاه ذرت (*Zea mays*) که مناسب‌ترین روش برای تولید و تکثیر انبوه گیاهان تله است، استفاده شد (Fan et al., 2008). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای میکوریزی با مایه تلقیح کشت تله ذرت و غیرمیکوریزی (شاهد) با ۳۰ تکرار در گلدان‌های پلاستیکی سه کیلویی کاشته شد. در پایان دوره رویشی در گلخانه سطح برگ با دستگاه سطح برگ‌سنج (Leaf area meter)، ارتفاع ساقه و طول ریشه در تیمارهای میکوریزی و شاهد سنجیده شد.

ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده داغداغان، اندام‌های قارچ (هیف، وزیکول و آربسکول) و نیز کلنیزاسیون ۸۰ درصدی را در عرصه طبیعی نشان دادند (جدول ۱). پس از تلقیح نیز

یکی از مهمترین روابط همزیستی موجود در عالم حیات، همزیستی میکوریزی است که در آن، ریشه گیاه با قارچ به‌صورت یک واحد زنده فعالیت کرده و از یکدیگر سود می‌برند. براساس مطالعات فسیل‌شناسی، همزیستی میکوریزی از ۴۵۰ میلیون سال پیش یعنی دوران اردوئین وجود داشته است (Redecker et al., 2000). امروزه دو نوع میکوریز اکتومیکوریز و میکوریز آربسکولار بیش از بقیه شناخته و تحقیق شده‌اند (Quilambo, 2003).

قارچ‌های میکوریز آربسکولار (AMF) از رایج‌ترین روابط همزیستی هستند که با بیشتر از ۹۰ درصد گیاهان آوندی رابطه همزیستی برقرار می‌کنند (Brundrett, 2002). میکوریز آربسکولار حالتی از همزیستی است که در آن قارچ وارد فضای داخل سلولی و سلول‌های پوست ریشه می‌شود. تشخیص این نوع میکوریزها با چشم امکان‌پذیر نبوده و نیاز به رنگ‌آمیزی ریشه‌ها و مشاهده میکروسکوپی آنهاست. قارچ‌های میکوریزی پس از همزیست شدن قادرند با توسعه هیف‌های میکروبی خود در فضاهایی که ریشه‌های موین قدرت نفوذ ندارند (گاهی تا ۸۰ متر در یک سانتی‌متر مکعب خاک)، سطح پنجه‌زنی نهال را افزایش دهند. آنها همچنین می‌توانند قدرت جذب آب، کربوهیدرات‌ها و عناصر غذایی به‌خصوص فسفر را با گسترش میسلیم‌های خود و نفوذ در بافت کورتکس میزبان افزایش دهند و سبب افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی شوند. ثابت شده است که گیاهان می‌توانند تا ۱۰۰ درصد فسفر مورد نیاز خود را از طریق مسیر میکوریزی دریافت کنند (Smith et al., 2004) و ۴ تا ۲۰ درصد از کربن گیاهان می‌تواند به قارچ‌ها منتقل شود (Cvagrano et al., 2008). نیتروژن یکی دیگر از مواد غذایی اصلی برای رشد گیاهان به‌شمار می‌رود که هیف‌های قارچ‌های میکوریز آربسکولار قادر به جذب آن در فرم‌های آمونیوم و نترات است. بعضی تحقیقات نشان داده است که ۳۰ تا ۴۲ درصد نیتروژن کل گیاه می‌تواند توسط قارچ‌های میکوریز آربسکولار جذب شود (Govindarajulu et al., 2005).

کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریز آربسکولار عموماً سبب کاهش حساسیت به بیماری‌های ایجاد شده توسط عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌شود (انوار سیدی‌کویی، ۱۳۹۱) و با تولید موادی مثل آنتی‌بیوتیک‌ها رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را کم می‌کنند. همچنین این قارچ‌ها در رقابت با پاتوژن‌های گیاهی برای دریافت ترشحات ریشه و همچنین تسخیر سریع‌تر مکان‌های فیزیکی برای نفوذ به ریشه و همچنین تغییر ترکیب شیمیایی ترشحات ریشه، رشد عوامل بیماری‌زا را کم می‌کنند (Caron, 1989). همچنین نتایج تحقیقات Barea و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده



قارچ توانسته بود همزیستی را با ریشه این گونه برقرار کند (شکل ۱).

• اندازه‌گیری متغیرهای رویشی در تیمارهای میکوریزی و شاهد

اثر تلقیح قارچ میکوریزی بر سه ویژگی ارتفاع ساقه، طول ریشه و سطح برگ معنی‌دار بود (شکل ۲). میانگین ارتفاع ساقه ۶۲/۴ سانتی‌متر و بیش از سه برابر در مقایسه با شاهد (۱۸/۲ سانتی‌متر) بود (شکل ۳). میانگین طول ریشه در نهال‌های تلقیح شده و شاهد به ترتیب ۵۰/۷ و ۳۲/۶ سانتی‌متر بود (شکل ۳). میانگین سطح برگ در نهال‌های تلقیح‌شده ۱۴/۹ و در نهال‌های شاهد ۴/۸ سانتی‌متر مربع بود (شکل ۴).

• نتیجه‌گیری نهایی و پیشنهادها

مطالعات انجام‌شده تاکنون به‌خوبی اثر مثبت قارچ‌های همزیست را بر جذب مواد غذایی و رطوبت خاک برای رشد و بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نهال‌ها نشان داده‌اند (Amaya-Caripo et al., 2009). یافته‌های این پژوهش نشان داد که داغداغان از همزیستی خوبی در شرایط طبیعی و رویشگاه خود برخوردار بود (جدول ۱) و هیف، وزیکول و آریسکول به‌خوبی در ریشه مشاهده شدند. هیف مسئول جذب مواد غذایی به‌ویژه فسفر و آریسکول ساختار کلیدی همزیستی قارچ‌های میکوریزی آریسکولار و مسئول تبادل مواد غذایی از قارچ به گیاه در بازگشت کربوهیدرات میزبان است. وزیکول هم یک اندام ذخیره‌ای و مرحله آخر رشد قارچ‌های AM در ریشه میزبان محسوب می‌شود (Khade et al., 2010). در گام بعدی و پس از انجام آزمون‌های مختلف روی ذرت، تکثیر قارچ‌های آریسکولار به‌صورت موفقیت‌آمیز انجام شد. نتایج نشان داد که تلقیح میکوریزی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش ارتفاع ساقه و طول ریشه شده است که با یافته‌های

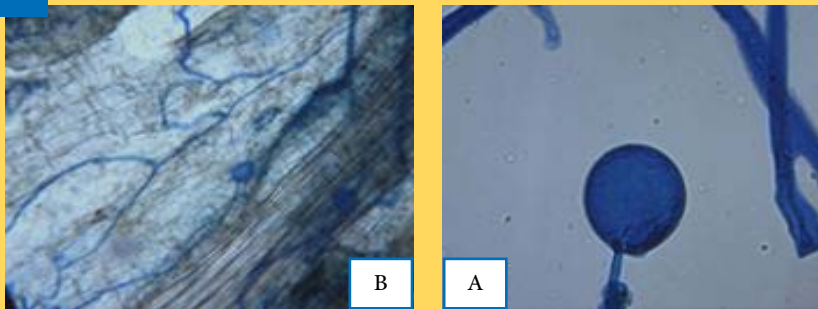
پیشین (Wu et al., 2012) مطابقت دارد. استفاده از قارچ‌های همزیست به رشد بهتر نهال‌های میکوریزی کمک کرد. همچنین تفاوت‌های چشمگیری در رشد ارتفاعی، طول ریشه و سطح برگ نهال‌های همزیست‌شده با قارچ‌های آریسکولار در مقایسه با نهال‌های شاهد مشاهده شد. براساس یافته‌ها (Amaya-Caripo et al., 2009) استفاده از قارچ‌های میکوریزی باعث افزایش سطح برگ و میزان فتوسنتز آن می‌شود. برخی از محققان اذعان دارند گیاهانی که همزیستی بیشتری با قارچ‌های

میکوریز برقرار می‌کنند، از رشد بهتری نیز برخوردارند (Camargo-Ricalde et al., 2010). زیرا قارچ‌ها قادرند از طریق تحریک ریشه‌زایی و تغییر در مورفولوژی ریشه گیاه میزبان و همچنین افزایش سطح جذب از طریق هیف‌های خود، آب و عناصر غذایی بیشتری جذب کرده و باعث بهبود رشد گیاه میزبان شوند.

همان‌گونه که در این پژوهش نشان داده شد، قارچ‌های میکوریزی آریسکولار سهم مهمی در بهبود شرایط رشد گیاه ایفا می‌کنند. این موجودات

جدول ۱- مشخصات همزیستی و فراوانی اسپور خاک اطراف ریشه گونه داغداغان در رویشگاه طبیعی

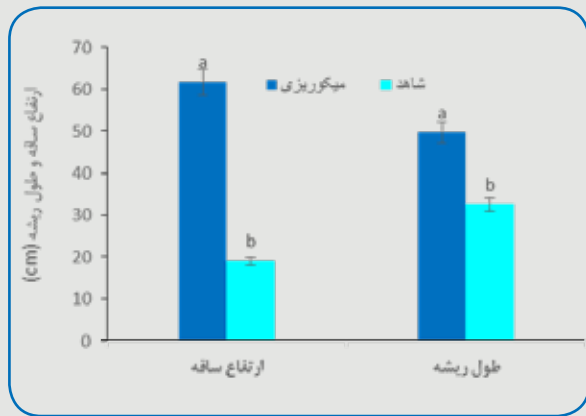
گونه	فراوانی اسپور در گرم خاک	درصد کلنیزاسیون
<i>Celtis caucasica</i>	۲۰	۸۰



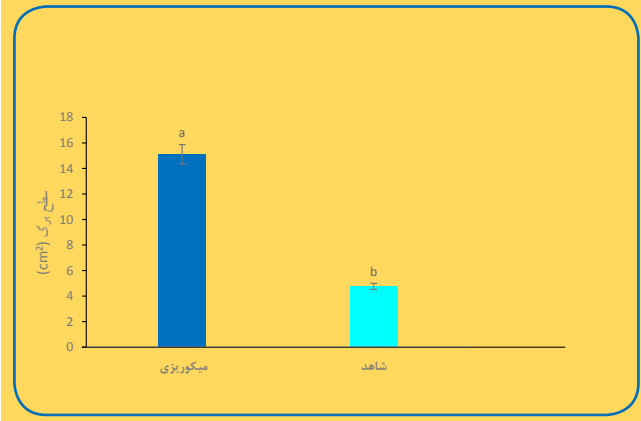
شکل ۱- اندام‌های قارچ آریسکولار درون ریشه نهال میکوریزی داغداغان



شکل ۲- مقایسه رشد نهال‌های میکوریزی در مقایسه با نهال‌های شاهد داغداغان



شکل ۴- میانگین ارتفاع ساقه و طول ریشه (سانتی متر مربع)



شکل ۳- میانگین سطح برگ (سانتی متر مربع)

Tehuacan-Cuicatlan Valley, Mexico. *Trees*, 24: 67-78.

Caron, M., Fortin, J.A., Richard, C., 1986. Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradices* on *Fusarium* crown and foot rot of tomatoes. *Phytopathology*, 76: 942-946.

Fan, Y.Q., Luan, Y.S., An, L.J. and Yu, K., 2008. Arbuscular mycorrhizae formed by *Penicillium pinophilum* improve the growth, nutrient uptake and photosynthesis of strawberry with two inoculum-types. *Biotechnology Letters*. 2008: 30(8):1489-1494.

Govindarajulu, M., Pfeffer, P.E., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D.D., Allen, J.W., Bucking, H., Lammers, P.J. and Shachar-Hill, Y., 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in root-free soil. *Applied Environmental Microbiology*, 65: 1428-1434.

Khade, S.W., Rodrigues, B.F. and Sharma, P.K., 2010. Symbiotic interactions between arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and male papaya plants: Its status, role and implications. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 893-902.

Peterson, R.L., Massicotte, H.B., Melville, L.H., 2004. *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. Ottawa, ON, Canada: NRC Research Press.

Philips, J.M. and Hayman J.M., 1970. Improved procedures for clearing roots by staining parasitic and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *British Mycological Society*, 55: 158-160.

Quailambo, O.G., 2003. The vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal of Biotechnology*, 12: 539-546.

Redecker, D., 2000. Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots: *Mycorrhiza*, 10: 73-80.

Smith, S.E., Smith, F.A. and Jakobsen, I., 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlation with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist*, 162: 511-524.

Wu, Q.S. and Zou, Y.N., 2010. Citrus mycorrhizal responses to abiotic stresses and polyamines. *Advances in Plant Physiology*, 12: 31-56.

ارزشمند که از ابتدای آفرینش همراه گیاهان هستند، در بسیاری از ویژگی‌ها می‌توانند به گیاه کمک کرده و سبب زنده‌مانی و استقرار آنها در عرصه‌های تخریب یافته شوند؛ از این رو باید در برنامه‌های احیای منابع طبیعی مورد توجه قرار گیرند.

منابع

انوار سیدی‌کوبی، ز.، ترجمه علیخانی، ح. و قورچانی، م.، ۱۳۹۱. میکوریزی: کشاورزی و جنگلکاری پایدار (ترجمه)، جهاد دانشگاهی واحد تهران.

Amaya-Carpio, L., Fox Davies, F.T. and He, C.T., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic fertilizer influence photosynthesis, root phosphate activity, nutrition and growth of *Ipomea carnea* sp. *fiatula*. *Photosynthetica*, 47(1): 1-10.

Barea, J.M., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sánchez-Castro, I., Navarro-Fernández, C., López-García, A., Estrada, B., Azcon, R., Ferrol, N. and Azcón-Aguilar, C., 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *Journal of Arid Environments*, 75: 1292-1301.

Birhane, E., Kuyper, T. W., Sterck, F. J., Gebrehiwot, K. and Bongers, F., 2015. Arbuscular mycorrhiza and water and nutrient supply differently impact seedling performance of dry woodland species with different acquisition strategies. *Plant Ecology & Diversity*, 8(3):1-13.

Brundrett M.C., Bougher N., Grove T. and Malajczuk N., 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Monograph 32, Australian Center for International Agricultural Research, Canberra, Australia, 374p.

Brundrett, M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *Tansley Review No. 134*, *New Phytologist*, 154: 275-304.

Camargo-Ricalde, S.L., Montano, N.M., Reyes-Jaramillo, I., Jimenez-Gonzalez, C. and Dhillon, S.S., 2010. Effect of mycorrhizae on seedlings of six endemic Mimosa L. species (Leguminosae-Mimosoideae) from the semi-arid