



علوم محیطی 10، زمستان 1384
ENVIRONMENTAL SCIENCES 10, Winter 2006
83-88

شناسایی قارچهای آربوسکولار - 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

Recognition of arbuscular - mycorrhiza fungi (AMF) and root colonization percentage in Kharturan biospher reserve

Farah Karimi, Ph. D.

Assistant 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.

Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Tarbiat Modares University

Abstract

Vesicular 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 35° 53' to 35° 57' N and 55° 58' to 58° 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 spores from rhizosphere eight stations were extracted and recognition 12 species arbuscular-mycorrhizal which all except one belong to Genus *Glomus*.

Key words: Arbuscular - Mycorrhizal, Kharturan, *Glomus*.

چکیده

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

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

مقدمه

قارچ‌های میکوریزی وزیکولا - 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 - میکوریزا، به دلیل اثرات بسیار مفیدی که در رشد و نمو گیاهان و افزایش مقاومت آن‌ها 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).

ذخیره گاه‌های زیست کره 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 اکولوژیکی می‌باشند. هر ذخیره گاه زیست کره 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. ذخیره گاه زیست کره توران به وسعت حدود 1/8 میلیون هکتار در بخش شمالی دشت کویر در فاصله طول جغرافیایی ° 57 - 55 و عرض جغرافیایی ° 36 - 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 ذخیره گاه زیست کره توران) محدودیت اصلی رشد گیاه رطوبت و عناصر غذایی به ویژه فسفر است و قارچ‌های میکوریزی وزیکولار - آربوسکولار می‌توانند کمک به رشد و جذب فسفر و نهایتاً کمک به بقای 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 نمونه برداری

پس از مراجعه به ایستگاه باران سنجی دلبر واقع در منطقه حفاظت شده خارتوران و بررسی تپ‌های رویشی مناطق اطراف ایستگاه نمونه برداری 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 - تصادفی به ابعاد 10 × 10 (100 m²) 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.

جدول 1 - مشخصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری

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

گونه در پلات‌ها، $\sum n_i =$ 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 میکروبی 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 به دست آمد (Dalpe, 1993).

شناسایی اسپورهای میکروبی

اسپورهای جداسازی شده با استفاده از استرئومیکروسکوپ براساس ویژگی‌های مورفولوژیکی نظیر شکل، رنگ و اندازه به دسته‌های مشخص تقسیم شدند. اسپورهای مربوط به هر گروه بر روی لام‌هایی که در یک طرف آن یک قطره پلی ونیل الکل - لاکتیک اسید - گلیرین (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

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

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

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

$$IV = RDi + Rfi + Rci$$

که در آنها:

ci = تاج پوشش یک گونه، $\sum C$ = مجموع تاج

پوشش گونه‌های موجود در پلات‌ها، fi = فرکانس یا

بسامد یک گونه در پلات‌ها، $\sum f$ = مجموع فرکانس یا

بسامد گونه‌های موجود در پلات‌ها، Di = دانسیته یا

تراکم یک گونه در پلات‌ها، ni = تعداد پایه‌های یک

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 میکوریزیایی 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 - میکوریز می‌باشند. در این جنس بیش از 50 گونه وجود دارد که هاگ‌های با اشکال نامنظم با قطر $20 - 400 \mu\text{m}$ 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 به دست 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
<i>G. intraradices</i>	1, 2, 4, 5, 7
<i>G. rubiforme</i>	1, 3
<i>G. gerdemanii</i>	2, 5
<i>G. faciculatum</i>	1, 3, 5
<i>G. geosporum</i>	2
<i>G. occultum</i>	2
<i>G. diaphanum</i>	4
<i>G. etunicatum</i>	4
<i>G. constrictum</i>	5
<i>G. macrocarpum</i>	1, 2, 4, 7, 8
<i>G. microaggregatum</i>	7, 1
<i>Entrophospora infrequens</i>	7, 5

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*

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 بر روی 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 مطلقاً به خانواده *Chenopodiaceae* بودند هیچ کدام همزیستی با قارچ‌های میکوریز نشان ندادند.

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

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

- Bagyarj, 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 extraradical hyphae development of Pimper 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 intraradices* 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.

