فصلنامه علوم محیطی، دوره بیست و یکم، شماره ۳، پائیز ۱۴۰۲

۴۸-۳۱

مقاله پژوهشی

مطالعه تنوع و کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریز آربوسکولار منطقه حفاظت‌شده کلاه‌قاضی، استان اصفهان

نفیسه سادات موسوی[۱]، ابراهیم صداقتی[۱*]، پژمان خدایگان[۱]، حسین علایی[۱] و نرگس حاتمی[۲]

[۱] گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده.کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

[۲] موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۲۶

موسوی، ن.س.، ا. صداقتی، پ. خدایگان، ح. علایی و ن. حاتمی. ۱۴۰۲. مطالعه تنوع و کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریز آربوسکولار منطقه حفاظت‌شده کلاه‌قاضی، استان اصفهان. فصلنامه علوم محیطی. ۲۱(۳): ۳۱-۴۸.

سابقه و هدف: قارچ‌های میکوریز آربوسکولار یکی از مهم‌ترین ریز جانداران مفید خاکزی هستند که قادر به برقراری رابطه هم‌زیستی همیاری با ریشه بیش از ۸۰ درصد گونه‌های گیاهی آوندی می‌باشند. این قارچ‌ها سبب بهبود جذب مواد معدنی (به‌ویژه فسفر) و آب شده و تحمل گیاه میزبان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی مختلف مانند عوامل بیماری‌زا، شوری، خشکی و آلودگی فلزات سنگین را افزایش می‌دهند. از این رو، نقش مهمی در استقرار و تشکیل جوامع گیاهی در بوم‌نظام‌های مختلف دارند. مطالعه حاضر با هدف شناسایی گونه‌های میکوریز آربوسکولار همزیست با ریشه گیاهان مختلف براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، مقایسه جمعیت اسپوری و تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه در پناهگاه حیات‌وحش کلاه‌قاضی استان اصفهان انجام گردید.

مواد و روش‌ها: ابتدا گونه‌های گیاهی غالب میزبان قارچ‌های میکوریز آربوسکولار شناسایی و از بین آن‌ها، ۱۲ گیاه انتخاب شد. نمونه‌برداری از عمق ۵ تا ۳۰ سانتی‌متری ناحیه فریشه هر گیاه صورت گرفت و نمونه‌های ریشه و خاک جمع‌آوری شدند. رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با استفاده از محلول لاکتوگلیسرول بلو انجام و درصد کلونیزاسیون میکوریزی تعیین گردید. اسپورهای میکوریز آربوسکولار از هر نمونه خاک (۵۰۰-۳۰۰ گرم) با استفاده از روش‌های سری الک مرطوب و سانتریفیوژ در محلول شکر جداسازی شدند. همچنین، شمارش اسپور در یک گرم خاک با سه تکرار انجام گردید. سپس، اسپورهای جداسازی شده براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی مانند رنگ، شکل، اندازه، ساختار دیواره، هیف اتصال و غیره شناسایی شدند.

نتایج و بحث: بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد تمام ریشه‌های گیاهی نمونه‌برداری شده توسط قارچ‌های میکوریز آربوسکولار کلونیزه شده

* Corresponding Author: Email Address. sedaghati@vru.ac.ir

http://dx.doi.org/10.48308/envs.2023.1182

http://dorl.net/dor/20.1001.1.17351324.1402.21.3.2.2

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

بودند. درصد کلونیزاسیون میکوریزی بین گونه‌های گیاهی از ۹ تا ۹۲ درصد متغیر بود و بیشترین و کمترین آن به ترتیب در گیاه آویشن و قدومه مشاهده شد. بیش‌ترین تعداد اسپور در فاریشه گیاه آویشن و کم‌ترین آن مربوط به ازمک بود. همچنین، تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که در اکثر گیاهان بین درصد کلونیزاسیون میکوریزی و تعداد اسپور همبستگی مثبت وجود داشت. براساس بررسی‌های ریخت‌شناسی، ۱۲ گونه میکوریز آربوسکولار متعلق به هشت جنس *Claroidoglomus* (*C. etunicatum* و *C. luteum*)، *Funneliformis* (*F. caesaris* و *F. geosporum*)، *Glomus* (*G. ambisporum*)، *Rhizophagus* (*Rh. aggregatum* و *Rh. fasciculatus*)، *Septoglomus* (*Se. africanum*، *Se. constrictum* و *Se. deserticola*)، *Entrophospora* (*E. infrequens*)، *Gigaspora* (*Gi. gigantea*) و *Scutellospora* (*Scutellospora* sp.) شناسایی شدند. گونه *Se. africanum* برای فلور قارچی ایران جدید می‌باشد و سایر گونه‌های شناسایی شده پیش از این از مناطق و محصولات مختلف گزارش شده‌اند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، شناسایی و تکثیر این گروه قارچی برای بهره‌برداری از پتانسیل آن‌ها در برنامه‌های احیای مناطق خشک، به‌خصوص مناطق حفاظت‌شده، ضروری می‌باشد. با این حال، بررسی‌های بیشتر برای شناسایی دقیق‌تر گونه‌های میکوریز آربوسکولار مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: جمعیت اسپوری، شناسایی ریخت‌شناسی، میکوریز آربوسکولار، همزیستی.

مقدمه

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ازجمله میکروارگانیسم‌های مفید ریزوسفری می‌باشند، همزیستی میکوریزایی یکی از رایج‌ترین و مهمترین رابطه همزیستی بین برخی قارچ‌ها با ریشه گیاهان می‌باشد (Ganugi *et al.*, 2019). این گروه قارچی جز جدایی‌ناپذیر و تاثیرگذار در اکوسیستم‌ها هستند که فقدان آن‌ها، توانایی استقرار گیاه در طبیعت را به‌شدت کاهش می‌دهد (Willis *et al.*, 2013). در بین انواع مختلف قارچ‌های میکوریز، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار [1] مهم‌ترین عوامل همزیست اجباری ریشه گیاهان به‌شمار می‌آیند که با بیش از ۸۰ درصد گونه‌های گیاهی رابطه همزیستی برقرار می‌کنند (Smith and Smith, 2011). این قارچ‌ها کربن و لیپید مورد نیاز خود را از گیاه میزبان دریافت کرده و در مقابل، موجب افزایش دسترسی گیاه میزبان به آب و عناصر غذایی بی‌تحرک و کم تحرک مانند فسفر، نیتروژن، مس، روی، منگنز، آهن و غیره می‌شود. از سوی دیگر، ریشه‌های میکوریزایی نسبت به ریشه‌های غیرمیکوریز دارای سطح جذب بیشتری بوده و به حجم بیشتری از خاک دسترسی دارند (Zou *et al.*, 2021). بنابراین، گیاهان میکوریزایی به‌دلیل جذب بیشتر عناصر غذایی و آب، دارای رشد و عملکرد بهتر هستند و مقاومت و تحمل بیشتری در برابر انواع تنش‌های زیستی (مانند عوامل بیماری‌زا) و غیر زیستی (مانند کمبود یا مسمومیت مواد غذایی، خشکی، شوری و عناصر سنگین) دارند (Keymer *et al.*, 2017; Begum *et al.*, 2019). همچنین، با توجه به این‌که این گروه قارچی توانایی استفاده از ۴ تا ۲۰ درصد از کربن تثبیت شده توسط گیاهان را دارند، مهم‌ترین تنظیم کننده‌های جریان کربن از گیاهان به خاک، محسوب می‌شوند (Bago *et al.*, 2002).

استفاده از کودهای زیستی مبتنی بر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار یکی از امیدوارکننده‌ترین گزینه‌ها برای توسعه سیستم‌های کشاورزی با صرفه‌جویی در منابع و مصرف ترکیبات شیمیایی و احیاء مراتع طبیعی می‌باشد (Kobae, 2019). از طرفی، همزیستی میکوریزایی با گیاهان موجب افزایش سرعت توالی در طبیعت شده و ابزار مفید و کارآمدی برای احیای اکوسیستم‌های خشک و نیمه‌خشک می‌باشد (Barea *et al.*, 2011).

درک ما از تنوع گونه‌های مختلف این گروه قارچی تا حد زیادی به روش‌های مورد استفاده برای بررسی این گروه قارچی دارد. از طرف دیگر، تنوع قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار بسیار متفاوت بوده و توزیع آن‌ها تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله خاک، گیاه میزبان، شرایط محیطی و روش‌های کشاورزی می‌باشد (Turrini *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2021). قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار

تولیدمثل جنسی ندارند و یا شناخته شده نیست. بنابراین، شناسایی ریخت‌شناسی این قارچها براساس اندام‌هایی که به روش غیرجنسی به‌وجود می‌آیند، صورت می‌گیرد. تاکنون بیش از ۳۴۰ گونه از قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار با استفاده از ریخت‌شناسی اسپورهایشان شناسایی شده‌اند (Tedersoo *et al*., 2018). شناسایی این گروه از قارچها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی نیازمند داشتن اطلاعات و تجربه زیادی است (Clapp *et al*., 2001). در صورت عدم حضور اسپور، وجود یا نبود اندام‌های قارچی درون ریشه‌ای مانند آربوسکول و وزیکل و ویژگی‌های ساختمانی آن‌ها، بهترین ابزار برای شناسایی این گروه قارچی تا سطح جنس و خانواده می‌باشند (Souza, 2015). پژوهش‌های زیادی در زمینه شناسایی و تنوع قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار در مناطق و شرایط محیطی مختلف و روی گونه‌های مختلف گیاهی در ایران و جهان انجام شده است (Sturmer and Morton, 1997; Feizi Kamareh *et al*., 2011; Sabet Jahromi *et al*., 2012; Karaarslan *et al*., 2015; Mirzaei and Moradi, 2017; Mirzaei *et al*., 2018; Hatami *et al*., 2020). بررسی هم‌زیستی میکوریزایی از این جهت حائز اهمیت است که تاثیر بسیار زیادی در ایجاد، نگهداری، پایداری و توسعه جوامع گیاهی در مناطق مختلف، به‌خصوص در مناطق با تنش‌های گوناگون فیزیکی و اکولوژیکی دارد (Quilambo, 2003; Oruru and Njeru, 2016).

پناهگاه حیات‌وحش کلاه قاضی به مساحت ۴۷۲۶۲ هکتار در جنوب شرقی شهر اصفهان واقع‌شده است. این منطقه به‌دلیل دارا بودن تنوع بوم‌شناختی، حفاظت از تنوع زیستی و منابع ژنتیکی، بقای تعادل طبیعی، کاهش ناهنجاری‌های حاصل از فعالیت صنایع و عوارض جمعیتی، برخورداری از چشم‌اندازهای زیبای نواحی کوهستانی و تپه‌ماهوری، وجود انواع گیاهان و گونه‌های متعدد حیات‌وحش جانوری و همچنین استفاده‌های علمی، پژوهشی، اقتصادی و گردشگری دارای ارزش وجودی پارک ملی است. انواع مختلفی از گیاهان بوته‌ای ازجمله درمنه[2]، گل‌گندم[3]، شقایق وحشی[4]، آویشن[5]، لاله وحشی[6]، اسپند[7] خارشتر[8]و درختان و درختچه‌ها مانند تنگرس[9]، بادام‌کوهی[10] انجیر[11]و بنه[12]در این پارک می‌رویند. همچنین تعدادی از گیاهان دارویی ازجمله چوبک[13] , قدومه[۱۴]، همیشه‌بهار[۱۵]، ریواس[۱۶]و غیره در این پارک وجود دارند. درمنه دشتی [۱۷]و آنقوزه[۱۸]از گونه‌های در حال انقراض در این منطقه می‌باشند(khajeddin, 2000).

مناطق حفاظت‌شده ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی بسیار با ارزش از گونه‌های گیاهی و جانوری در هر کشور می‌باشند و تنها پشتوانه‌های اساسی برای احیاء مجدد طبیعت خواهند بود. درحالی‌که امروزه کاربری‌های نامناسب زیستگاه‌ها و عرصه‌های طبیعی کشور، قابلیت اراضی را به‌طور جدی به مخاطره انداخته و سرعت تخریب آن‌ها را افزایش داده است (Khanpour Ardestani *et al*., 2008). بررسی‌های دو قرن اخیر نشان داده است هم‌زیستی میکوریزی نقش بسیار زیادی در ایجاد، نگه‌داری، پایداری و توسعه جوامع گیاهی، به‌خصوص در مناطقی با فشارهای گوناگون فیزیکی و اکولوژیکی، ایفا می‌کنند. گام اول در استفاده از این قارچ‌ها، شناسایی گونه‌های قارچی و آگاهی از تنوع و فراوانی آن‌ها در زیستگاه مورد نظر می‌باشد. این در حالی است که اطلاعات اندکی در رابطه با تنوع زیستی و نحوه تعامل این قارچ‌ها با گیاهان مناطق حفاظت شده وجود دارد. ازاین‌رو، پژوهش حاضر با هدف شناسایی گونه‌های میکوریز آربوسکولار همزیست با ریشه گیاهان مختلف براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، مقایسه جمعیت اسپوری و تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه در پناهگاه حیات‌وحش کلاه‌قاضی استان اصفهان انجام گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در بررسی حاضر، نمونه‌برداری در فصل بهار از منطقه حفاظت‌شده کلاه قاضی واقع در استان اصفهان صورت

گرفت. بدین منظور، ابتدا گیاهان غالب این منطقه شناسایی شده و از بین آن‌ها، ۱۲ گونه گیاهیغالب منطقه شامل اسپند [۷]، کنگر وحشی [۱۹]، شنگ [۲۰]، جوموشی [۲۱]، بابونه زرد [۲۲]، خاکشیر [۲۳]، ارزن دم‌روباهی [۲۴]، ازمک [۲۵]، قدومه [۱۴]، ریواس [۱۶]، گل‌گندم [۳] و آویشن[۵] انتخاب گردید. برای هر گونه گیاهی، پنج بوته به‌طور تصادفی انتخاب و از عمق پنج تا۳۰ سانتی‌متری ناحیه فراریشه، حدود یک کیلوگرم خاک و ریشه‌های مویین و نازک جمع‌آوری شد. سپس، پنج نمونه خاک باهم مخلوط شده و یک نمونه نهایی و مرکب به وزن تقریبی دو کیلوگرم تهیه گردید. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده به مدت دو هفته در برابر جریان هوا قرار گرفتند تا خشک شوند. پس از این مدت، نمونه‌های خاک تا زمان جداسازی اسپور در یخچال و دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند (Blaszkowski, 1993).

رنگ‌آمیزی ریشه‌ها و تعیین درصد کلونیزاسیون میکوریزی

به‌منظور اثبات رابطه هم‌زیستی میکوریز آربوسکولار با ریشه گونه گیاهی منتخب، رنگ‌آمیزی ریشه‌ها به روش Philips و Hyman (۱۹۷۰) انجام شد. جهت تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه، ۳۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده هر نمونه، به‌صورت تصادفی انتخاب گردید. سپس، اسلاید میکروسکوپی از قطعات ریشه در محلول لاکتوفنل تهیه و با میکروسکوپ نوری ارزیابی و بررسی شد. درصد کلونیزاسیون با برآورد طولی از ریشه که به ساختمان‌های قارچی (وزیکل، آربوسکول و هیف) آلوده بودند، محاسبه گردید (Biermann and Linderman, 1981).

جداسازی اسپورها از خاک و شمارش تعداد اسپور

اسپورهای قارچ میکوریز آربوسکولار از نمونه‌های خاک تهیه شده، با استفاده از روش‌های سری الک مرطوب (Gerdemann and Nicolson, 1963) وسانتریفیوژ در محلول ساکارز (Jenkins, 1964) جداسازی شدند. به‌منظور تعیین تراکم و جمعیت اسپوری این گروه قارچی در یک گرم خاک، اسپورها بعد از جداسازی، به روی کاغذ صافی مدرج منتقل شده و زیر استریومیکروسکوپ (Nikon SMZ 1000) با سه تکرار شمارش شدند (Klironomos *et al*., 1993).

تهیه اسلاید میکروسکوپی دائمی از اسپورها

برای تهیه اسلاید میکروسکوپی از اسپورهای قارچی، مخلوط محلول حجمی PVLG (Polyvinyl-Lacto-Glycerol) و معرف ملزر به نسبت یک به یک مورد استفاده قرار گرفت (Hall, 1984). بدین منظور، دو قطره از محلول فوق روی لام گذاشته و سپس اسپورها با کمک سوزن یا لوپ برداشته و به قطره منتقل شدند و در نهایت، روی آن‌ها لامل گذاشته شد. اسلایدها به مدت یک شبانه‌روز در آون با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا حباب‌های هوا به‌خوبی خارج و اسپورها تثبیت شوند. در روز بعد، برای تثبیت بهتر و جلوگیری از خراب شدن اسلایدها، دور لامل‌ها با لاک ناخن پوشانده شد.

شناسایی ریخت‌شناسی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

شناسایی ریخت‌شناسی گونه‌های این گروه قارچی با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به عدسی‌های شئی نومارسکی کالیبره شده (Nikon ECLIPSE 80i) و با بررسی ویژگی‌هایی زیر صورت گرفت: ۱- رنگ اسپور و رنگ لایه‌های دیواره اسپور ۲- شکل اسپور ۳- دیواره اسپور، تعداد و ضخامت لایه‌های آن ۴- نحوه اتصال هیف به اسپور ۵- شکل و نحوه اتصال هیف به اسپور ۶- باز یا بسته بودن روزنه هیف در محل اتصال به اسپور و نحوه انسداد در صورت بسته بودن ۷- نحوه اتصال و پیوستگی دیواره‌های هیف و اسپور ۸- تشکیل یا عدم تشکیل اسپور در ریشه ۹- وجود یا عدم وجود لایه‌های قابل ارتجاع تندشی ۱۰- مشخصات اسپوروکارپ و پریدیوم در صورت وجود و ۱۱- نحوه آرایش اسپورها در اسپورکارپ. برای شناسایی اسپورها، از تارنماهای اینترنتی معتبر و

اختصاصی پژوهش‌های میکوریزی مانند http://www.invam.wvu.edu و http://www.zor.zut.edu.pl و مقالات کلیدی (Schussler and Walker, 2010; Oehl *et al*., 2011; Karaarslan *et al*., 2015) استفاده شد. نام آرایه‌های بررسی‌شده، مترادف‌ها و مؤلفین براساس سایت Indexfungorum آورده شده است.

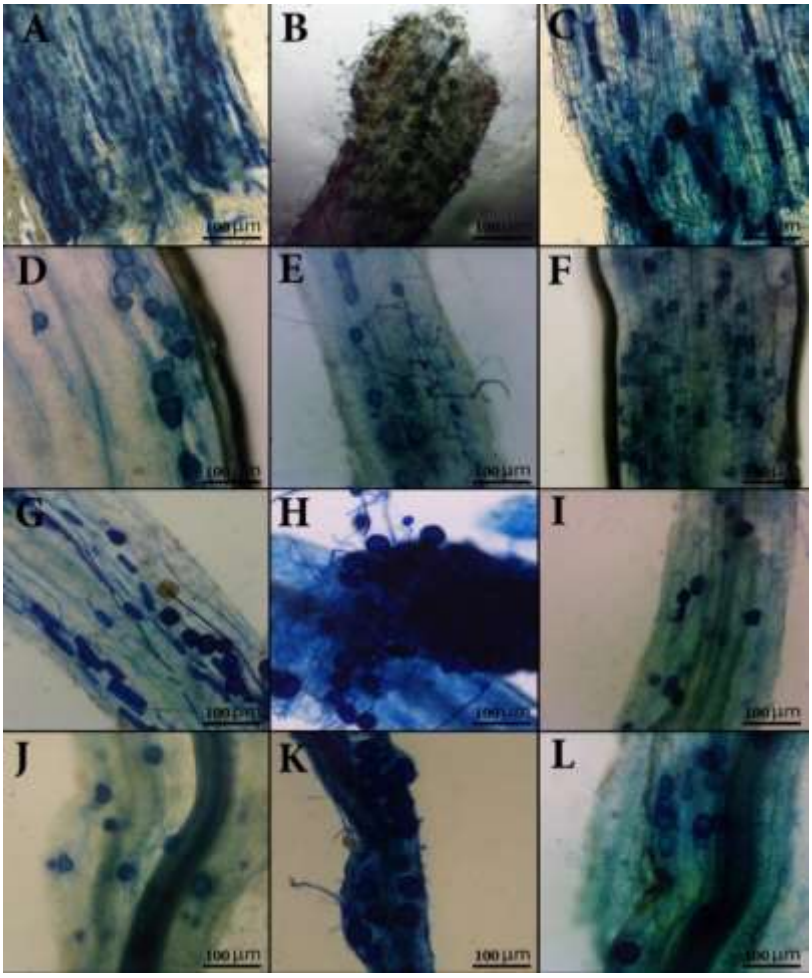
تجزیه و تحلیل آماری

برای مقایسه تعداد اسپور و درصد کلونیزاسیون ریشه بین گونه‌های گیاهی مورد بررسی، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و به روش One-way ANNOVA محاسبه گردید.

نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون ریشه و تعداد اسپور در خاک

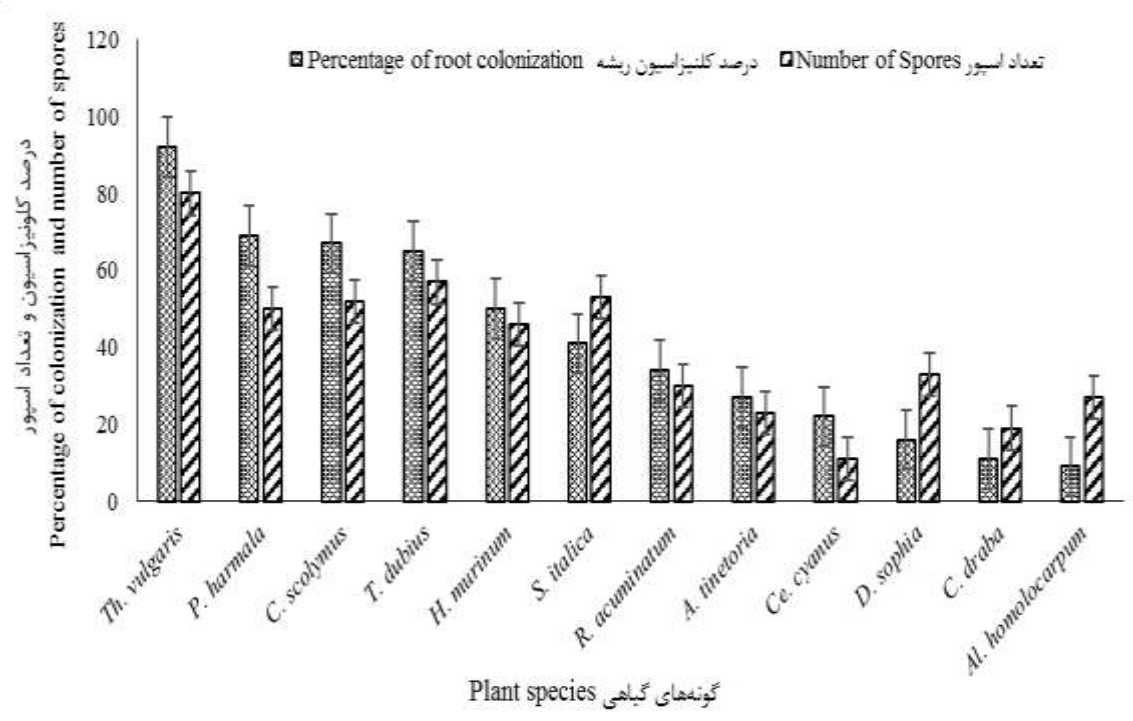
پس از بررسی ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده گیاهان منتخب، حضور اندام‌های قارچی شامل هیف، وزیکل و آربوسکول در داخل و بین سلول‌های کورتکس ریشه (شکل ۱) و همچنین وجود اسپورهای این گروه قارچی در ناحیه فراریشه، نشان دهنده برقراری رابطه هم‌زیستی بین تمام گونه‌های گیاهی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بود.



شکل ۱- اندام‌های قارچی میکوریزا آربوسکولار در سطح و داخل ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده گیاهان؛ A: خاکشیر، B: اسپند، C: کنگر وحشی، D: ازمک، E: گل گندم، F: آویشن، G: جوموشی، H: بابونه زرد، I: شنگ، J: قدومه، K: ارزن دم روباهی، L: ریواس

Fig. 1- Structures of arbuscular mycorrhizal fungi on the surface and inside the stained roots of plants; A: *Descurainia sophia*, B: *Peganum harmala*, C: *Cynara scolymus*, D: *Cardaria draba*, E: *Centaurea cyanus*, F: *Thymus vulgaris*, G: *Hordeum murinum*, H: *Anthemis tinetoria*, I: *Tragopogon dubius*, J: *Alyssum homolocarpum*, K: *Setaria italica*, L: *Rheum acuminatum*

در مطالعه انجام‌شده، درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاهان آویشن، اسپند، کنگر وحشی، شنگ، جوموشی، ارزن دم-روباهی، ریواس، بابونه زرد، گل گندم، خاکشیر، ازمک و قدومه به ترتیب ۹۲، ۶۹، ۶۷، ۶۵، ۵۰، ۴۱، ۳۴، ۲۷، ۲۲، ۱۶، ۱۱ و ۹ درصد به‌دست آمد. در این میان، کمترین درصد کلونیزاسیون میکوریزی مربوط به گیاه قدومه بود که با گیاهان ازمک خاکشیر و گل گندم تفاوت معنی‌داری نداشت و بیشترین درصد کلونیزایسون میکوریزی مربوط به گیاه گیاه آویشن بود. میانگین تعداد اسپور در هر گرم خاک نیز به ترتیب در گیاهان نامبرده ۸۰، ۵۰، ۵۲، ۵۷، ۴۶، ۱۷، ۳۰، ۱۹، ۱۱، ۲۹، ۶ و ۱۷ برآورد گردید. در گیاهان بررسی شده، بیشترین تعداد اسپور مربوط به آویشن و کمترین آن مربوط به گل گندم و ازمک بود. همچنین، همبستگی بین درصد کلونیزاسیون میکوریزی و تعداد اسپور در هر گرم خاک برای هر گونه گیاهی به‌طور مجزا مورد بررسی قرار گرفت که در اکثر گیاهان، به جز قدومه و خاکشیر، بین درصد کلونیزاسیون و فراوانی اسپور ارتباط مثبت مشاهده گردید (شکل ۲).

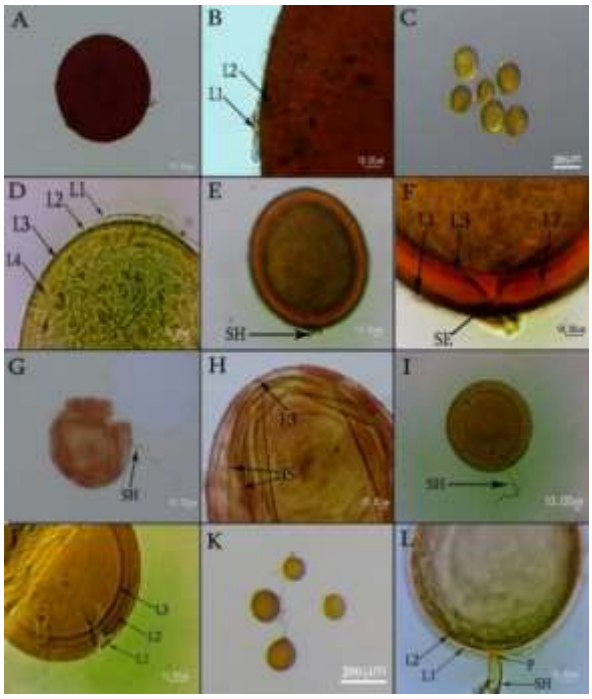


شکل ۲- مقایسه درصد کلونیزاسیون میکوریزی و تعداد اسپور در هر گرم خاک بین گونه‌های گیاهی منتخب میله‌های روی هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند

Fig. 2- Comparison of mycorrhizal colonization percentage and number of spores per gram of soil between selected plant species. Bar show the Standard Error

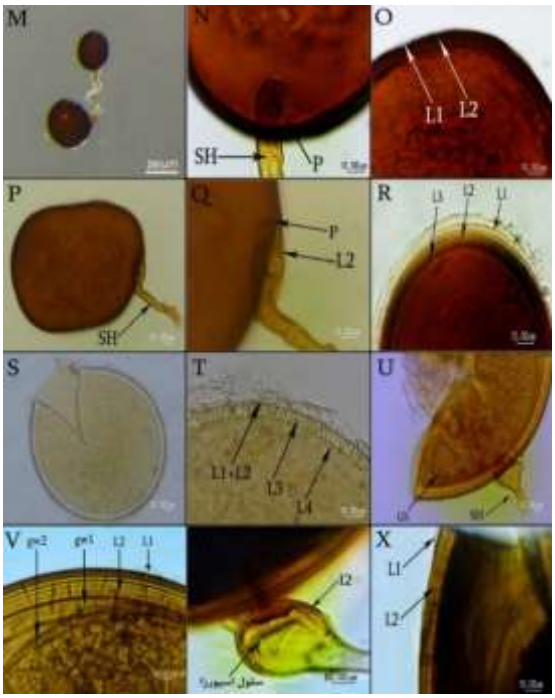
گونه‌های همزیست شناسایی شده به روش ریخت‌شناسی

در این پژوهش، به‌طورکلی، ۱۲ گونه متعلق به هشت جنس : *Claroideoglomus* Walker، *Entrophospora R.N. Ames & R.W. Schneid. emend. Oehl & Sieverd* Funneliformis C. Walker & Schüßler، *Glomus Tul. & C. Tul.* Rhizophagus C. Walker & A. Schüßler، *Septoglomus Sieverd., G.A. Sliva* *Scutellospora C. Walker & F.E. Sanders & Oehl* و *Gigaspora* Gerd. & Trappe emend. C. Walker & F.E. Sanders و چهار خانواده Claroideoglomeraceae، *Entrophospora*ceae Glomeraceae و Gigasporaceae شناسایی گردید (شکل‌های ۳ و ۴).



شکل ۳- گونه‌های میکوریز آربوسکولار شناسایی شده از ناحیه فرایشه گیاهان منتخب؛ A و B: *Claroideoglomus etunicatum*، C و D: *C. luteum*، E و F: *Funneliformis geosporum*، G و H: *Rhizophagus aggregatum*، I و J: *R. fasciculatus*، K و L: *Septoglomus africanum*

Fig. 3- Identified arbuscular mycorrhizal species from the rhizosphere of selected plants; A and B: *Claroideoglomus etunicatum*, C and D: *C. luteum*, E and F: *Funneliformis geosporum*, G and H: *Rhizophagus aggregatum*, I and J: *R. fasciculatus*, K and L: *Septoglomus africanum*



شکل ۴- گونه‌های میکوریز آربوسکولار شناسایی شده از ناحیه فرایشه گیاهان منتخب؛ M، N و O: *Se. constrictum*، P و Q: *Se. deserticola*، R: *Glomus ambisporum*، S و T: *Entrophospora infrequens*، U و V: *Scutelospora* sp.، W و X: *Gigaspora gigantea*

Fig. 4- Identified arbuscular mycorrhizal species from the rhizosphere of selected plants; M, N and O: *Se. constrictum*, P and Q: *Se. deserticola*, R: *Glomus ambisporum*, S and T: *Entrophospora infrequens*, U and V: *Scutelospora* sp., W and X: *Gigaspora gigantea*

گونه *Septoglomus africanum* برای فلور قارچی ایران جدید می‌باشد. سایر گونه‌های شناسایی شده پیش از این از مناطق و محصولات مختلف ایران از جمله پسته (Aminizadeh *et al*., 2016; Yazdanpanah *et al*., 2017)، مرکبات (Zangeneh *et al*., 2005; Aminiannasab *et al*., 2021)، گیاهان دارویی (Hatami Sadravi, 2006; Rezaee Danesh, *et al*., 2020)، غلات (Sadravi, 2012) و غیره گزارش شده‌اند. در ادامه، *Se. africanum* توصیف و ویژگی‌های ریخت‌شناسی سایر گونه‌ها در جدول ۱ به‌صورت خلاصه بیان خواهند شد.

جدول ۱- ویژگی‌های ریخت‌شناسی گونه‌های میکوریز آربوسکولار شناسایی شده از فراریشه گیاهان منتخب

Table 1. Morphological characteristics of identified arbuscular mycorrhiza species from the rhizosphere of selected plants

جنس Genera	گونه Species	ویژگی‌های ریخت‌شناسی Morphological characteristics
Claroideoglomus	*C. etunicatum*	اسپور زرد آجری، کروی، دیواره اسپور دو لایه‌ای (لایه اول موسیلاژی و لایه دوم ورقه‌ای)، هیف اتصال استوانه‌ای تا نیمه قیفی و دو لایه‌ای
	C. luteum	اسپور زرد کم‌رنگ تا زرد تیره، نیمه کروی تا کروی، چهار لایه (لایه اول موسیلاژی، لایه دوم نیمه‌ارتجاعی، لایه سوم ارتجاعی و ورقه‌ای، لایه چهارم ارتجاعی و نازک)
Funneliformis	*F. geosporum*	اسپور زرد مایل به قهوه‌ای، کروی، دیواره اسپور سه لایه‌ای (لایه اول موسیلاژی، لایه دوم ورقه‌ای و لایه سوم تیغه‌ای)، هیف اتصال استوانه‌ای تا قیفی شکل و دو لایه‌ای
	F. caesaris	اسپور نارنجی تیره یا قهوه‌ای، کروی تا نیمه‌کروی، دیواره اسپور پنج لایه (لایه اول نیمه‌پایدار، لایه دوم ای)، هیف اتصال ای، لایه پنجم نیمه‌ارتجاعی و ورقه‌ورقه‌ای، لایه سوم ورقه‌ای ظریف، لایه چهارم ورقه استوانه‌ای تا خمیده، چهار لایه‌ای (لایه‌های اول تا چهارم دیواره اسپور)
Glomus	*G. ambisporum*	وجود دو نوع اسپور (نوع اول قهوه‌ای درون اسپوروکارپ یا به طور منفرد در اطراف ریشه و نوع دوم تیره رنگ درون اسپوروکارپ یا به طور منفرد داخل ریشه)، دیواره اسپور سه لایه‌ای (لایه اول ناپایدار، لایه دوم ورقه‌ای و لایه سوم نیمه‌ارتجاعی)، هیف اتصال مستقیم و دو لایه‌ای
Rhizophagus	*Rh. aggregatus*	اسپوروکارپ سست و فاقد پریدیوم، اسپور زرد مایل به قهوه‌ای روشن، کروی تا نیمه کروی، دیواره اسپور سه لایه‌ای (لایه اول موسیلاژی، لایه دوم نیمه‌ارتجاعی و لایه سوم ورقه‌ای)، هیف اتصال استوانه‌ای تا قیفی شکل و سه لایه‌ای
	Rh. fasciculatus	اسپور زرد مایل به قهوه‌ای، کروی تا نیمه‌کروی، دیواره اسپور سه لایه‌ای (لایه اول شفاف، لایه دوم ورقه‌ای و لایه سوم ارتجاعی نازک)، هیف اتصال استوانه‌ای تا کمی قیفی شکل و دو لایه‌ای
Septoglomus	*Se. constrictum*	اسپور به رنگ قرمز مایل به قهوه‌ای، کروی تا نیمه کروی، دیواره اسپور دو لایه‌ای (لایه اول ناپایدار و لایه دوم ورقه‌ای)، هیف اتصال در محل اتصال باریک شده و دو لایه‌ای
	Se. deserticola	اسپور نارنجی مایل به قرمز، کروی تا نیمه کروی، دیواره اسپور دو لایه‌ای (لایه اول موسیلاژی و لایه دوم ورقه‌ای)، هیف اتصال خمیده و مستقیم و دو لایه‌ای
Entrophospora	*E. infrequens*	اسپور زرد مایل به نارنجی، کروی، دیواره اسپور چهار لایه‌ای (لایه اول ناپایدار، لایه دوم نیمه‌پایدار، لایه سوم ورقه‌ای و لایه چهارم نیمه‌ارتجاعی)، دیواره تندشی دارای سه لایه انعطاف‌پذیر
Scutellospora	*Scutellospora sp.*	اسپور زرد مایل به قهوه‌ای، دیواره اسپور دو لایه‌ای (لایه اول شفاف و ناپایدار و لایه دوم ورقه‌ای)، دیواره ای، صفحه تندش دایره‌ای تا بیضوی، سلول اسپورزا زرد و چماقی‌تندشی دو لایه
Gigaspora	*Gi. gigantea*	اسپور نارنجی مایل به قهوه‌ای، دیواره اسپور سه لایه‌ای (لایه اول ارتجاعی و پایدار، لایه دوم ورقه‌ای و ای، سلول اسپورزا زرد مایل به قهوه‌ای، تخم‌مرغی تا چماقی لایه سوم ارتجاعی)، دیواره تندشی یک لایه شکل و دو لایه‌ای

Septoglomus africanum (Blaszkowski *et al*., 2010)
Syn.: *Glomus africanum* (Blaszkowski *et al*., 2010)

اسپوروکارپ در این گونه قارچی مشاهده نشده است و اسپورها عمدتاً به‌صورت خوشه‌ای و به‌ندرت منفرد در خاک تشکیل می‌شوند. اسپورها کروی تا نیمه کروی و برخی مواقع بیضوی، زرد کم‌رنگ تا زرد مایل به قهوه‌ای و به قطر ۸۰ تا ۱۳۷ میکرومتر می‌باشند. دیواره اسپور از دو لایه تشکیل شده است. لایه اول (L1) نیمه‌پایدار،

شفاف، زبر و به ضخامت ۳ تا ۵ میکرومتر که معمولاً در اسپورهای بالغ دیده نمی‌شود. لایه دوم (L2) ورقه‌ای، صاف، زرد کم‌رنگ تا زرد مایل به قهوه‌ای و به ضخامت ۱/۵ تا ۲/۵ میکرومتر می‌باشد. هیف متصل به اسپور (SH) هم‌رنگ اسپور، مستقیم یا خمیده، استوانه‌ای تا کمی قیفی شکل و به‌ندرت در پایه اسپور باریک شده است. قطر هیف در محل اتصال به اسپور ۶/۵ تا ۹ میکرومتر می‌باشد. دیواره هیف اتصال از دو لایه تشکیل شده است که امتداد دو لایه دیواره اسپور می‌باشند. منفذ (P) در بیشتر اسپورهای بالغ باز و گاهی اوقات توسط یک دیواره امتداد یافته از لایه دوم دیواره اسپور بسته شده است (شکل ۳- K و L).

این گونه در بررسی کشت‌های تله حاصل از نمونه‌های خاک و ریشه جمع‌آوری شده از تپه‌های شن و ماسه در آفریقا و اروپا جداسازی، شناسایی و معرفی شده است. این گونه به گونه *Re. iranicus* شباهت دارد. این دو گونه که اسپورهای glomoid تولید می‌کنند، از لحاظ رنگ و اندازه به هم شباهت دارند. تفاوت اصلی آن‌ها در تعداد لایه‌های دیواره اسپور می‌باشد که گونه *Re. iranicus* دارای سه لایه و گونه *Se. africanum* دارای دو لایه است (Blaszkowski *et al*., 2010). شایان ذکر *است که این گونه* برای فلور قارچی ایران جدید می‌باشد.

شناسایی و طبقه‌بندی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به‌طور معمول براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی اسپورهای این گروه قارچی، پایه‌ریزی شده است (Chanada *et al*., 2014). جنس‌ها و خانواده‌ها عمدتاً براساس نحوه اتصال هیف به اسپور و شیوه تشکیل اسپور قابل تشخیص می‌باشند. درحالی‌که زیر ساختارهای دیواره اسپور ازجمله رنگ، تعداد، نوع و ضخامت لایه‌های دیواره و وجود یا عدم وجود لایه‌های تندشی نقش مهمی در شناسایی گونه‌های این قارچ‌ها ایفا می‌کنند (Souza, 2015). همچنین، بررسی‌های میکروسکوپی به‌منظور یافتن آثار قابل اطمینانی از هم‌زیستی میکوریزی در گونه‌های گیاهی منطقه مورد نظر، صورت می‌گیرد.

نوع گونه‌های میکوریز آربوسکولار، کلونیزاسیون میکوریزی و فراوانی اسپورهای قارچی تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله اقلیم منطقه، میزبان، درجه حرارت، رطوبت، اسیدیته خاک، نور، مواد غذایی در دسترس، جوامع میکروبی خاک و عملیات خاک‌ورزی قرار می‌گیرد (Gong *et al*., 2012; Veresoglou *et al*., 2013; Miao-Miao *et al*., 2020). همچنین، اختصاصیت میزبانی بین این قارچ‌ها با گیاهان میزبان وجود ندارد اما ترجیح میزبانی یا رابطه ترجیحی بین برخی گونه‌های قارچی و میزبان‌های گیاهی مشخصی اثبات شده است (Dhar *et al*., 2015). لازم به ذکر است در شرایط نمونه‌برداری از طبیعت شناسایی دقیق گونه‌های میکوریز آربوسکولار براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی کار بسیار دشواری است، زیرا در این شرایط اسپور یک گونه ممکن است در مراحل مختلف تشکیل تا بلوغ جداسازی شود و با افزایش سن، برخی ویژگی‌های لازم برای شناسایی را از دست بدهد. بنابراین، برای شناسایی چنین نمونه‌هایی باید چندین مرتبه جداسازی اسپور از خاک صورت گیرد تا نمونه‌های سالم و دست نخورده به‌دست آید و مورد شناسایی قرار گیرد (Oehl *et al*., 2012).

نتایج این تحقیق نشان داد در فراریشه تمام گونه‌های گیاهی مورد بررسی، گونه‌های میکوریز آربوسکولار متنوعی وجود دارد. بنابراین، این منطقه دارای پتانسیل بالایی به لحاظ تنوع گونه‌ای این قارچ‌ها می‌باشد. علت احتمالی این تنوع بالا، غنای فراوان گیاهان این منطقه است؛ چراکه سایر بررسی‌ها نشان دادند هرچه غنای گونه‌های گیاهی بیشتر باشد، تنوع قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نیز افزایش می‌یابد (Gai *et al*., 2012; Hiiesalu *et al*., 2014; Hatami *et al*., 2020). با توجه به اینکه منطقه مورد بررسی به‌عنوان یک منطقه حفاظت شده معرفی شده است، می‌توان بیان کرد حفاظت از منطقه موجب افزایش تعداد و تنوع گونه‌های گیاهی شده

و به دنبال آن، گونه‌های میکوریز آربوسکولار که همزیست اجباری هستند و برای بقاء به گیاه میزبان نیاز دارند، افزایش یافته است.

در مطالعه انجام شده توسط Karimi *et al*. (2006) که بر روی هشت ایستگاه در منطقه حفاظت شده خارتوران انجام گرفت، ۱۲ گونه میکوریز آربوسکولار شناسایی گردید که به غیر از یک گونه، بقیه متعلق به جنس *Glomus* بودند. همچنین نتایج مربوط به درصد هم‌زیستی میکوریزی بر روی گونه‌های مختلف گیاهی نشان داد برخی گیاهان از جمله درمنه دشتی (*Aretemisia sieberi*) درصد کلونیزاسیون بالایی داشتند. Ghasriani *et al*. (2008) گونه‌های میکوریز آربوسکولار و فراوانی اسپور آن‌ها را در مجموعه پارک ملی کویر تهران بررسی کردند. براساس ویژگی‌های مورفولوژیکی و مورفومتریکی، پنج گونه قارچی شامل *Rh. aggregatum*، *Rh. intraradices*، *Rh. fasciculatus*، *Claroideoglomus claroideum* و *G. microaggregatum* شناسایی و گزارش شدند. همچنین، میانگین فراوانی اسپورهای قارچی در بهار و پاییز به ترتیب ۱۵۷ و ۱۷۸ اسپور در ۲۵ گرم خاک بود. در مطالعه دیگر، گونه‌های میکوریز آربوسکولار همزیست با گیاهان سوخ‌دار کوهستانی، شناسایی شدند. براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، گونه‌های *F. mosseae*، *Glomus hoi* و *Scutellospora calospora* از نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده، جداسازی گردید (Karaarslan *et al*., 2015). در بررسی انجام شده توسط Mirzaei *et al*. (2018) براساس خصوصیات ریخت‌شناسی اسپور، ۳۵ گونه میکوریز آربوسکولار متعلق به هفت خانواده و ۱۰ جنس از منطقه حفاظت شده مانشت و قلارنگ ایلام شناسایی شدند. درمورد اثرات قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در مناطقی که عملیات احیا و اصلاح روی پوشش طبیعی صورت گرفته است، مطالعات و بررسی‌های اندکی وجود دارد. این موضوع عمدتا به‌دلیل مشکلات و هزینه‌های مربوط به مایه‌زنی قارچ با گونه‌های گیاهی و مساحت وسیع عرصه‌های طبیعی می‌باشد (Jennifer *et al*., 2008).

در بررسی حاضر، درصد کلونیزاسیون و تعداد اسپور در گونه‌های گیاهی مورد بررسی، متفاوت بود و در اکثر گونه‌های گیاهی، به جز خاکشیر و قدومه، بین تعداد اسپور و درصد کلونیزاسیون میکوریزی رابطه مستقیم وجود داشت و با افزایش تعداد اسپور، درصد کلونیزاسیون نیز افزایش یافت. از آن‌جایی‌که گیاهان مختلف از لحاظ سرشت ژنتیکی، رفتار فیزیولوژیکی و فنولوژی با یکدیگر متفاوت هستند، بنابراین عکس‌العمل‌های متفاوتی در هم-زیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار دارند (Veresoglou *et al*., 2012). همچنین، سطح تماس و حجم سیستم ریشه‌ای گیاهان نیز بر میزان هم‌زیستی میکوریزی تاثیر می‌گذارد (Zhu *et al*., 2016). همبستگی بین اسپورزایی و درصد کلونیزاسیون میکوریزی ریشه به پارامترهای فیزیولوژیکی گونه‌های قارچی و شرایط محیطی نیز بستگی دارد (Veresoglou *et al*., 2013). علاوه‌براین، ممکن است دینامیک اسپورزایی و کلونیزاسیون ریشه در بین گونه‌های مختلف، متفاوت باشد (Hempel *et al*., 2007). تحت شرایط خاص یا در فصل‌های خاصی از سال، برخی گونه‌های قارچی اسپورهای زیادی تولید می‌کنند و براین اساس ممکن است کلونیزه کننده‌های اصلی و غالب ریشه گیاه باشند (Kumar *et al*., 2012). همچنین، در برخی گونه‌های میکوریز آربوسکولار دوره کمون اسپورها طولانی بوده و برای جوانه‌زنی به بازه زمانی زیادی نیاز دارند. در شرایطی که گونه‌های غیراسپورزای میکوریز آربوسکولار قابل بررسی و شمارش نباشند، گونه‌های تولید کننده اسپور به‌عنوان گونه غالب معرفی می‌شوند، درحالی‌که ممکن است گونه‌های غیراسپورزا فراوان‌تر از سایر گونه‌های قارچی در همان محل وجود داشته باشند (Bohrer *et al*., 2004; Classen *et al*., 2015). از شاخص‌های مهم فعالیت قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه توسط این گروه قارچی است که تحت تاثیر

عوامل مختلفی مانند ویژگی‌های ظاهری و ساختمانی سیستم ریشه‌ای، کمیت و کیفیت ترشحات ریشه‌ای و مصرف کودهای شیمیایی (به‌ویژه کودهای فسفره و ازته) قرار می‌گیرد (Al-Karaki *et al*., 1998; Miao-Miao *et al*., 2020). علاوه‌براین، پروپاگول‌های دیگری به جز اسپورها مانند هیف‌های برون و درون ریشه‌ای و وزیکل‌ها در خاک یا ریشه توانایی و نقش مهمتری در آلوده نمودن ریشه‌های گیاهی دارند (Mafaziya and Madawala, 2015). همبستگی مثبت بین جمعیت اسپور میکوریزی و میزان کلنیزاسیون ریشه توسط پژوهشگران زیادی گزارش شده است (Sturmer and Bellei, 1994; Al-Qarawi *et al*., 2012; Dhar *et al*., 2015; Hatami *et al*., 2020).

با توجه به این‌که قسمت اعظم اراضی کشور ما در نواحی خشک و نیمه‌خشک قرار دارد و همواره با تنش‌های مختلفی ازجمله خشکی، شوری و غیره مواجه است، از آنجائیکه تاثیر هم‌زیستی قارچ‌های گونه‌های میکوریز آربوسکولار با گیاهان در تحمل تنش‌های شوری، خشکی ، مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا ، بهبود رشد و عملکرد و همچنین تاثیر در تولید متابولیت‌های ثانویه به اثبات رسیده است بی شک جداسازی و شناسایی گونه‌های میکوریز آربوسکولار از مناطق حافظت شده، خالص‌سازی، تکثیر و استفاده از آن‌ها، نقش بسیار مهمی در بقاء و توسعه پوشش گیاهی داشته و با جلوگیری از فرسایش خاک، به احیای مناطق خشک، به‌خصوص مناطق حفاظت شده، کمک می‌کند و نتایج این تحقیق می‌تواند سرآغاز تحقیق‌های تکمیلی و استفاده کاربردی برای حفظ منطقه حفاظت شده مذکور و جلوگیری از انقراض گونه‌های گیاهی منطقه باشد

نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر، ۱۲ گونه میکوریز آربوسکولار متعلق به هشت جنس و چهار خانواده براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی اسپور، شناسایی گردید. نتایج به‌دست آمده نشان داد در منطقه کلاه‌قاضی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار دارای تنوع زیادی هستند که نشان‌دهنده تاثیر این هم‌زیستی در نگهداری از تنوع زیستی می‌باشد. در اکوسیستم‌های طبیعی و زیستگاه‌هایی با شرایط رویشی مشابه، تنوع گونه‌ای، جمعیت اسپوری و درصد کلونیزاسیون ریشه توسط گونه‌های مختلف میکوریز آربوسکولار، متفاوت می‌باشد. با توجه به این مسئله که در مناطق خشک و نیمه‌خشک (مانند منطقه حفاظت‌شده کلاه‌قاضی)، محدودیت اصلی رشد و نمو گیاهان، کمبود آب و مواد مغذی به‌ویژه فسفر و نیتروژن می‌باشد، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با بهبود جذب آب و عناصر غذایی، می‌توانند به بقاء گیاهان کمک کنند.

شناسایی و معرفی جنس‌ها و گونه‌های میکوریز آربوسکولار روش مناسبی برای درک اهمیت و کارایی این گروه قارچی در مناطق مختلف می‌باشد تا در هر منطقه با گونه‌های گیاهی و شرایط اقلیمی خاص، از جدایه‌های بومی مناسب و سازگار این قارچ‌ها برای احیاء پوشش گیاهی منطقه، جلوگیری از انقراض گونه‌های گیاهی، مقابله با تنش‌های محیطی و زیستی و همچنین بهبود عملکرد رویشی و زایشی گیاه استفاده کرد. از آن‌جایی که امکان احیاء و تجدید حیات اکوسیستم‌های مراتع وجود دارد، با مطالعه، برنامه‌ریزی و اجرای عملیات اصلاحی مانند بوته‌کاری توام گونه‌های میکوریز آربوسکولار بومی منطقه و همچنین اضافه کردن گونه‌های میکوریزی به گیاهان موجود به صورت کود بیولوژیک می‌توان در مدت زمان کوتاهی، میزان رشد و نمو گیاهان مرتعی و گسترش پوشش گیاهی منطقه حفاظت شده را به میزان قابل توجهی افزایش داد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از مسئولین دانشگاه ولیعصر رفسنجان به دلیل در اختیار گذاشتن امکانات برای انجام این تحقیق

سپاسگزاری می‌کنند.

پی‌نوشت‌ها

[1] Arbuscular Mycorrhizal Fungi=AMF
[2] *Artemisia* spp.
[3] *Centaurea cyanus*
[4] *Papaver rhoeas*
[5] *Thymes spp.*
[6] *Fritillaria* spp.
[7] *Peganum harmala*
[8] Alhagi spp.
[9] *Amygdalus lycioides*
[10] *Amygdalus orientalis*
[11] *Ficus carica*
[12] *Pistacia atlantica*
[13] *Acanthophyllum* spp.
[14] *Alyssum spp.*
[15] *Calendula officinalis*
[16] *Rheum spp.*
[17] *Artemisia sieberi*
[18] *Ferula assa-foetida*
[19] *Cynara scolymus L*
[20] *Tragopogon dubius* Scop
[21] *Hordeum murinum* L
[22] *Anthemis tinetoria L*
[23] *Descurainia sophia* L.
[24] *Setaria italica* L.
[25] *Cardaria draba L.*

منابع

Al-Karaki, G.N., Al-Ridded, A. and Clarck, R.B., 1998. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance. Mycorrhiza. 7, 83-88. https://doi.org/10.1007/s005720050166

Al-Qarawi, A.A., Mridha, M.A.U. and Alghamdi, O.M., 2012. Diversity of structural colonization and spore population of arbuscular mycorrhizal fungi in some plants from Riyadh, Saudi Arabia. Journal of Pure and Applied Microbiology. 6(3), 1119- 1125.

Aminiannasab, P., Sedaghati, E., Hosseini, S. and Saberi, R., 2021. Identification of Arbuscular mycorrhizal fungi associated with different plants in Rafsanjan based on morphological characteristics and ß-tubulin gene sequence. Biological Journal of Microorganism. 10(31), 27-40. (In Persian with English abstract).https://doi.org/10.22108/bjm.2020.123989.1311

Aminizadeh, S., Alaei, H., Sedaghati, E. and Moradi, M., 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with pistachio trees in Rafsanjan. Pistachio Science and Technology. 1(2), 1-21. (In Persian with English abstract).

Bago, B., Azcon-Aguilar, C. and Piche, Y., 1998. Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus I grown under monoxenic conditions. Mycologia. 90, 52-62. https://doi.org/10.1080/00275514.1998.12026878

Barea, J.M., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sanchez-Castro, I., Navarro-Fernandez, C., Lopez-Garcia, A., Estrada, B., Azcon, R., Ferrol, N. and Azcon-Aguilar, C., 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. Journal of Arid Environments. 75(5), 1292-1301. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2011.06.001

Begum, N., Qin, C., Ahanger, M.A., Raza, S., Khan, M.I., Ahmed, N., Ashraf, M. and Zhang, L., 2019. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. Frontiers in Plant Science. 10, 1068-1085. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068

Biermann, B. and Linderman, R.G., 1981. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization. New Phytologist. 87(1), 63-67.

Blaszkowski, J., 1993. Comparative studies of the occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) in cultivated and uncultivated soils of Poland. Acta Mycologica. 28, 93-140.

Blaszkowski, J., Balazs, T.K., Orlowska, E., Sadravi, M., Wubet, T. and Buscot, F., 2010. *Glomus africanum* and *G. iranicum*, two new

species of arbuscular mycorrhizal fungi Glomeromycota). Mycologia. 102(6), 1450-1462. https://doi.org/10.3852/09-302

Bohrer, K.E., Friese, C.F. and Amon, J.P., 2004. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in differing wetland habitats. Mycorrhiza. 14, 329-337. https://doi.org/10.1007/s00572-004-0292-7

Chanada, D., Sharma, G.D. and Jha, D.K., 2014. Isolation and identification of some Arbuscular Mycorrhiza (AM) fungi for phytoremediation in soil contaminated with paper mill effluent. Intrenational Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3(6), 527-539.

Clapp, J.P., Rodriguez, A. and Dodd, J.C., 2001. Inter and intra isolate rRNA large subunit variation in *Glomus coronatum* spores. New Phytologist. 149, 539-554. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00060.x

Classen, A.T., Sundqvist, M.K., Henning, J.A., Newman, G.S., Moore, J.A., Cregger, M.A., Moorhead, L.C. and Patterson, C.M., 2015. Direct and indirect effects of climate change on soil microbial and soil microbial-plant interactions: What lies ahead?. Ecosphere. 6(8), 233-245. https://doi.org/10.1890/ES15-00217.1

Dhar, P., AL-Qarwi, A. and Mridha, M., 2015. Arbuscular mycorrhizal fungal association in Asteraceae plants growing in the arid lands of Saudi Arabia. Journal of Arid Land. 7(5), 676-686. https://doi.org/10.1007/s40333-015-0081-5

Feizi Kamareh, T., Matinizadeh, M., Shirvany, A., Etemad, V. and Khoshnevis, M., 2011. Arbuscular mycorrhizal symbiosis of *Acer cinerascens* and effects of season variation on some rhizosphere (Case study: Bazoft, Chaharmahal-o-Bakhtiari). Iranian Journal of Forest. 3(3), 213-221. (In Persian with English abstract).

Gai, J.P., Tian, H., Yang, F.Y., Christie, P., Li, X.L. and Klironomos, J.N., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity along a Tibetan elevation gradient. Pedobiologia. 55(3), 145-151. https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2011.12.004

Ganugi, P., Masoni, A., Pietramellara, G. and Benedettelli, S., 2019. A review of studies from the last twenty years on plant–arbuscular mycorrhizal fungi associations and their uses for wheat crops. Agronomy. 9(12), 840-855. https://doi.org/10.3390/agronomy9120840

Gerdemann, J. and Nicolson, T.H., 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society. 46, 235-244. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0

Ghasriani, F., Zarre Mayvan, H. and Chaee Chi, M.R., 2008. Distribution of mycorrhizal plant in relation to some soil characteristics in the Kavir National Park. Journal of Environmental Studies. 33, 105-116.

Gong, M., Tang, M., Zhang, Q. and Feng, X., 2012. Effects of climatic and edaphic factors on arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Hippophae rhamnoides* in the Loess Plateau, China. Acta Ecologica Sinica. 32, 62-67. https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2011.12.005

Hall, I.R., 1984. Taxonomy of VA Mycorrhizal Fungi. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA,

Hatami, N., Bazgir, E., Sedaghati, E. and Darvishnia, M., 2020. The symbiosis study of arbuscular mycorrhizal fungi with some annual herbaceous plants and the morphological identification of dominant species of these fungi in Kerman province. Biological Journal of Microorganism. 33, 40-55. (In Persian with English abstract).

Hempel, S., Renker, C. and Buscot, F., 2007. Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. Environmental Microbiology. 9(8), 1930-1938. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01309.x

Hiiesalu, I., Partel, M., Davison, J., Gerhold, P., Metsis, M., Moora, M., Opik, M., Vasar, M., Zobel, M. and Wilson, S.D., 2014. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: associations with grassland plant richness and biomass. New Phytologist. 203(1), 233-244. https://doi.org/10.1111/nph.12765

Jenkins, W.R., 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter. 48, 692.

Jennifer, A.W., Tallaksen, J. and Charvat, I., 2008. The effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation at a roadside prairie restoration site. Mycologia. 100(1), 6-11. https://doi.org/10.3852/mycologia.100.1.6

Karaarslan, E., Uyanoz, R. and Dogu, S., 2015. Morphological identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza on bulbous plants (Taurus mountain in Turkey). Archives of Biological Sciences. 67(2), 411-426. https://doi.org/10.2298/ABS140417007K

Karimi, F., Zangeneh, S., Yousefzadi, M. and Zarre Mayvan, H., 2006. Recognition of arbuscular-mycorrhiza fungi (AMF) and root colonization percentage in Kharturan biosphere reserve. Environmental Sciences. 10, 83-85. (In Persian with English abstract).

Keymer, A., Pimprikar, P., Wewer, V., Huber, C., Brands, M., Bucerius, S.L., Delaux, P.M., Klingl, V., von Ropenack-Lahaye, E., Wang, T.L. and Eisenreich, W., 2017. Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. Elife. 6, 1-33.

Khajeddin, S.J., 2000. Plant communities of Kolah Ghazi National Park. Journal of Water and Soil Science. 3, 139-154. (In Persian with English abstract).

Khanpour Ardestani, N., Zare Maivan, H. and Ghanati, F., 2008. Distribution of medicinal plants and their mycorrhizal status in mouteh wildlife refuge (Isfahan province, Iran). Pajouhesh and Sazandgi. 78, 129-138. (In Persian with English abstract).

Klironomos, J.N., Mouroglis, P., Kendrick, B. and Widden, P., 1993. A comparison of spatial heterogenecity of VAM fungi in two maple-forest soil. Canadian Journal of Botany. 71, 1472-1480. https://doi.org/10.1139/b93-178

Kobae, Y., 2019. Dynamic phosphate uptake in arbuscular mycorrhizal roots under field conditions. Frontiers in Environmental Science. 6, 159-176. https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00159

Kumar, A., Bhatti, S.K. and Aggarwal, A., 2012. Biodiversity of endophytic mycorrhiza in some ornamental flowering plants of Solan, Himachal Pradesh. Biological Forum–An International Journal. 4 (2), 45-51.

Mafaziya, F. and Madawala, S., 2015. Abundance, richness and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in natural and semi-natural land use types at upper Hantana. Ceylon Journal of Science (Biological Sciences). 44(1), 25-34. http://dx.doi.org/10.4038/cjsbs.v44i1.7338

Miao-Miao, X.I.E., Yu, W.A.N.G., Qiu-Shuang, L.I., Kamil, K.U.C.A. and Qiang-Sheng, W.U., 2020. A friendly-environmental strategy: application of arbuscular mycorrhizal fungi to ornamental plants for plant growth and garden landscape. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 48(3), 1100-1115.

https://doi.org/10.15835/nbha48312055

Mirzaei, J. and Moradi, M., 2017. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Amygdalus scoparia Spach plantations and a natural stand. Journal of Forestry Research. 28(6), 1209-1217. https://doi.org/10.1007/s11676-017-0392-9

Mirzaei, J., Dostcami, S. and Moradi, M., 2018. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi associated with plant species in the Manesht and Ghalarang protected area. Forest and Wood Products. 70(4), 549-557. (In Persian with English abstract).

Nicolson, T.H. and Gerdemann, J.W., 1968. Mycorrhizal *Endogone* species. Mycologia. 60, 313-325. https://doi.org/10.2307/3757161

Oehl, F., Silva, G.A., Goto, B.T. and Sieverding, E., 2011. Glomeromycota: three new genera, and glomoid species reorganized. Mycotaxon. 116, 75-120. http://dx.doi.org/10.5248/116.75

Oehl, F., Palenzuela, J., Sanchez-Castro, I., Kuss, P., Sieverding, E. and Silva, G.A.D., 2012. *Acaulospora nivalis*, a new fungus in the Glomeromycetes, characteristic for high alpine and nival altitudes of the Swiss Alps. Nova Hedwigia. 95: 105-122. https://doi.org/10.1127/0029-5035/2012/0038

Oruru, M.B. and Njeru, E.M., 2016. Upscaling arbuscular mycorrhizal symbiosis and related agroecosystems services in smallholder farming systems. BioMed Research International. 2016, 1-12. https://doi.org/10.1155/2016/4376240

Philips, J.M. and Hyman, D.S., 1970. Improved procerdures clearing root and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Mycological Research. 55, 158-161. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3

Quilambo, O.A., 2003. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. African Journal of Biotechnology. 2(12), 539-546. https://doi.org/10.5897/AJB2003.000-1105

Rezaee Danesh, Y., 2013. Study on arbuscular mycorrhizal fungi associated with Barley in Damghan. Journal of Plant Protection. 26, 437-449. (In Persian with English abstract).

Sabet Jahromi, M., Salehi Juzani, G., Hosseini, M., Khayam Nekouei, S.M. and Akbari Vala, S., 2012. Isolation and identification of indigenous Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) symbiosis with crops in some Iran regions with drought conditions. Journal of Biotechnology, Tarbiat Modares University. 3(1), 1-13. (In Persian with English abstract).

Sadravi, M., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi in wheat fields in Golestan province. Vegetables, 7: 129-140. (In Persian with English abstract).

Sadravi, M., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi of alfalfa root in the Kohgiluyeh and Boierahmad province (SW Iran). Rostaniha. 13(1), 101-104. (In Persian with English abstract).

Schussler, A. and Walker, C., 2010. The Glomeromycota: a species list with new families and new genera.

Smith, S.E. and Smith, F.A., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. Annual Review of Plant Biology. 62, 227-250.

Souza, T., 2015. Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi. Cham: Springer.

Sturmer, S. and Bellei, M., 1994. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the

island of Santa Catarina, Brazil. Canadian Journal of Botany. 72(3), 359-363. https://doi.org/10.1139/b94-048

Sturmer, S.L. and Morton, J.B., 1997. Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. Mycologia. 89(1), 72-81. https://doi.org/10.1080/00275514.1997.12026756

Tedersoo, L., Sanchez-Ramirez, S., Koljalg, U., Bahram, M., Doring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M. and Abarenkov, K., 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. Fungal Diversity. 90(1), 135-159. https://doi.org/10.1007/s13225-018-0401-0

Turrini, A., Agnolucci, M., Palla, M., Tome, E., Tagliavini, M., Scandellari, F. and Giovannetti, M., 2017. Species diversity and community composition of native arbuscular mycorrhizal fungi in apple roots are affected by site and orchard management. Applied Soil Ecology. 116, 42-54. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.03.016

Veresoglou, S.D., Menexes, G. and Rillig, M.C., 2012. Do arbuscular mycorrhizal fungi affect the allometric partition of host plant biomass to shoots and roots? A meta-analysis of studies from 1990 to 2010. Mycorrhiza. 22, 227-235. https://doi.org/10.1007/s00572-011-0398-7

Veresoglou, S.D., Caruso, T. and Rillig, M.C., 2013. Modelling the environmental and soil factors that shape the niches of two common arbuscular mycorrhizal fungal families. Plant and Soil. 368, 507-518. https://doi.org/10.1007/s11104-012-1531-x

Wang, J., Ma, S., Wang, G.G., Xu, L., Fu, Z., Song, J. and Zhang, J., 2021. Arbuscular mycorrhizal fungi communities associated with wild plants in a coastal ecosystem. Journal of Forestry Research. 32(2), 683-695. https://doi.org/10.1007/s11676-020-01127-5

Willis, A., Rodrigues, B.F. and Harris, P.J., 2013. The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. Critical Reviews in Plant Sciences. 32(1), 1-20. https://doi.org/10.1080/07352689.2012.683375

Yazdanpanah, M., Sedaghati, E., Khodygan, P. and Alaei, H., 2017. Molecular and morphological identification of arbuscular mycorrhizal fungi associated with pistachio roots in Kerman province. Pistachio Science and Technology. 2(4), 11-29. (In Persian with English abstract).

Zangeneh, S., Shirvani, A., Alian, Y., Najafi Nia, M., Karam Pur, F. and Ghale Dozdani, H., 2005. Introduction of some new arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) from citrus rhizosphere of Iran. Rostaniha. 6, 8-77. (In Persian with English abstract).

Zhu, X., Fengbin, S., Shengqun, L. and Fulai, L., 2016. Arbuscular mycorrhiza improves growth, nitrogen uptake, and nitrogen use efficiency in wheat grown under elevated CO_2. Mycorrhiza. 26, 133-140. https://doi.org/10.1007/s00572-015-0654-3

Zou, Y.N., Wu, Q.S. and Kuca, K., 2021. Unravelling the role of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating the oxidative burst of plants under drought stress. Plant Biology. 23, 50-57. https://doi.org/10.1111/plb.13161

Environmental Sciences Vol.21 / No 3 / Autumn 2023

31-48

Original Article

Study of the diversity and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in Kolah'ghazy protected area, Isfahan Province

Nafiseh Sadat Moosavi,[1] Ebbrahim Sedaghati,[1*] Pezhman Khodaygan,[1] Hossein Alaei[1] and Narges Hatami[2]

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
[2] Research Institute of Forests and Rangeland, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: 2022.11.27 Accepted: 2023.09.17

Moosavi, N.S., Sedaghati, E., Khodaygan, P., Alaei, H. and Hatami, N., 2023. Study of the diversity and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in Kolah'ghazy protected area, Isfahan Province. Environmental Sciences. 21(3): 31-48.

Introduction: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF-phylum Glomeromycota) are one of the most important beneficial soil microorganisms that form a mutualistic symbiotic relationship with the roots of more than 80% of terrestrial plant species. These fungi improve the mineral nutrients (especially phosphorus) and water uptake and enhance plant tolerance to various biotic and abiotic stresses such as pathogens, salinity, drought and heavy metals contamination. Hence, they play a key role in the establishment of plant communities in different ecosystems. The present study aimed to identify AMF species associated with different plants roots based on morphological characteristics, comparison of spore's population and determine the percentage of root colonization in the Kolah'ghazi protected region in Isfahan Province.

Material and methods: At first, 12 plants were selected from the predominant plants that are AMF hosts. The sampling was conducted from a depth of 5 to 30 cm in the rhizosphere of each plant and the soil and root samples were collected. Roots fragments were stained in lactoglycerol blue and the percentage of root colonization was calculated. AMF spores were extracted from each air-dried soil sample (300-500 g) by wet sieving and centrifugation in sugar solution methods. Also, spore populations were determined in a gram of

* Corresponding Author: *Email Address.* sedaghati@vru.ac.ir
http://dx.doi.org/10.48308/envs.2023.1182
http://dorl.net/dor/20.1001.1.17351324.1402.21.3.2.2

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

soil with three replications. Then, the isolated spores were identified based on morphological characteristics such as color, shape, size, wall structure, hyphal attachment, etc.

Results and discussion: Microscopic observations indicated that all the sampled plant roots were colonized by AMF. The percentage of AMF colonization ranged from 9-92% among plants species and the highest and lowest of it were observed in *Thymus vulgaris* and *Alyssum homolocarpum* plants, respectively. The highest spore density was in the rhizosphere of the *Th. vulgaris* and the lowest was related to *Lepidium draba*. The statistical analysis showed that there is a positive correlation between the percentage of mycorrhizal colonization and the number of spores in most plants. Based on morphological criteria, 12 species of AMF belonging to 8 genera *Claroidoglomus* (*C. etunicatum* and *C. luteum*), *Funneliformis* (*F. caesaris* and *F. geosporum*), *Glomus* (*G. ambisporum*), *Rhizophagus* (*Rh. aggregatum* and *Rh. fasciculatus*), *Septoglomus* (*Se. africanum*, *Se. constrictum* and *Se. deserticola*), *Entrophospora* (*E. infrequens*), *Gigaspora* (*Gi. gigantea*) and *Scutellospora* (*Scutellospora* sp.) were identified. *Se. africanum* is new for mycoflora from Iran and other identified species have previously been reported from different regions and crops.

Conclusion: Due to the importance of AMF, identification and reproduction of these fungi for exploiting their potential in regenerate arid areas, especially protected areas, can be necessary. However, further research is needed to more accurately identify AM species.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal, Morphological identification, Symbiosis, Spore population.