دانش گیاهپزشکی ایران
دورۀ ۴۵، شمارۀ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۳ (ص ۳۸۰-۳۷۱)

شناسایی گونه‌های غالب قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار تعدادی از درختان جنگلی منطقۀ کیاسر

امیر مدرسی چهاردهی[1*]، لیلا موسوی[2]، طه بخت‌خواه اردەجانی[3]، یونس رضایی‌دانش[4] و داراه ابراهیم[5]
۱ و ۵. دانشجوی سابق دکتری میکروبیولوژی و استادیار دانشکدۀ زیست‌شناسی، دانشگاه ساینز مالزی، جزیرۀ پنانگ، مالزی
۲. دانشجوی دکتری صنایع غذایی، دانشکدۀ تکنولوژی صنعتی، دانشگاه ساینز مالزی، جزیرۀ پنانگ، مالزی
۳. دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد گیاه‌پزشکی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان
۴. دانشجوی سابق دکتری گیاه‌پزشکی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه ارومیه
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۰- تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۸/۱۱)

چکیده

همزیستی قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار وزیکولار سبب بهبود رشد و نمو گیاهان به‌وسیلۀ افزایش میزان جذب عناصر و همچنین بهبود رابطۀ آبی گیاهان و حفاظت از آنان در برابر بیمارگرها می‌گردد. نمونه‌برداری در بهار ۱۳۹۰ از منطقۀ جنگلی کیاسر در بخش شمالی شهرستان دامغان استان سمنان که دارای تنوع گونه‌های گیاهی فراوان است صورت گرفت. تعداد ۵۶ نمونه خاک مرکب از این منطقه جمع‌آوری گردید. بر این اساس، ۱۴ گونۀ گیاهی از درختان این منطقه بررسی شدند و همچنین درصد فراوانی نسبی، درصد تراکم قارچ-ریشه، درصد فراوانی قارچ-ریشه، غنای گونه‌ای و شاخص یکنواختی آنها محاسبه گردید. بیشترین میانگین جمعیت اسپوری مربوط به درخت سپیدار با میانگین ۱۳۸۲/۳۵ اسپور در ۳۰۰ گرم نمونه خاک تحت بررسی بود و پس از آن به‌ترتیب درختان توسکای قشلاقی با میانگین ۱۳۷۲/۶۹، گوجه‌سبز (آلو) با میانگین ۱۳۵۴/۳۱ و راش با میانگین ۱۳۳۸/۳۵ قرار داشتند. بیشترین میزان فراوانی قارچ-ریشه‌ای (F%) و میانگین تراکم قارچ-ریشه‌ای (M%) مربوط به گوجه‌سبز به‌ترتیب ۶۶/۳۵ و ۴۶/۷۹ درصد به‌دست آمد؛ درحالی‌که نارون کمترین میزان فراوانی قارچ-ریشه‌ای و میزان تراکم قارچ-ریشه‌ای با میزان به‌ترتیب ۳۷/۶۹ و ۵۸/۶۳ درصد را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: شناسایی، قارچ-ریشه آربوسکولار، کیاسر، *Glomus*.

مقدمه

واژۀ میکوریز به معنای قارچ ریشه، به‌طور کلی به همزیستی ریشۀ گیاهان و میسلیوم‌های قارچی گفته می‌شود (Rousta, 1996; Amoo-Aghaie, 2003)، زیرا هر دو از این رابطه سود می‌برند. ریسۀ این قارچ‌ها به درون بافت میزبان نفوذ می‌کند و در ناحیۀ کورتکس گیاه میزبان منتشر می‌گردد. سپس با استفاده از اندام مکندۀ خود به درون سلول میزبان، مواد مورد نیاز را توسط ریسه‌های خود جذب می‌کند (Trappe, 1987).

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (متعلق به شاخۀ گلومرومیکوتا) با ریشۀ بیشتر گیاهان همزیستی ایجاد می‌کنند و تأثیر زیادی روی رشد و نمو گیاهان میزبان دارند. همچنین مشخص شده که کلونیزاسیون ریشۀ گیاهان به‌وسیلۀ قارچ-ریشه‌های آربوسکولار می‌تواند در مقاومت آنها به تنش خشکی نقش مؤثری داشته باشد (Schüssler *et al*., 2001).

میکوریزای (قارچ-ریشه) آربوسکولار[1] (AMF) باعث آسان شدن روند جذب املاح خاک، یون‌ها و در نتیجه رشد و نمو بهتر گونۀ گیاهی و جلوگیری از عوامل بیماری‌زا در اطراف ریشه می‌شود و نقش عمده‌ای از

* تلفن: ۱۶۴۸۱۳۶۹۰-۶۰+
E-mail: amirmch@yahoo.com
1. Arbuscular mycorrhizal fungi

لحاظ اقتصادی و اکولوژیک ایفا می‌کند (Fitter & Garbaye, 1994; Jahani *et al*., 2009). البته عوامل محیطی مانند نور، pH خاک و تهویهٔ خاک می‌تواند به توانایی میسلیوم‌های خارجی قارچ-ریشه‌ها میکوریز در انتشار به درون خاک کمک کند (Khavazi, 1998). از این رو، قارچ-ریشه‌های آربوسکولار اهمیت اکولوژیک بسزایی دارند (Rezaee Danesh, 2012). به‌طور مثال، در تحقیقی که Karlinski *et al*. (2010) در زمینهٔ همزیستی قارچ-ریشهٔ آربوسکولار با دورگه‌های مختلف درخت *Populus* sp. انجام دادند، مشخص گردید که تأثیر شرایط خاک نسبت به نوع ژنوتیپ این درختان، در افزایش همزیستی جمعیت قارچ-ریشه‌های آربوسکولار تأثیر بیشتری دارد. به هر حال، هنوز مطالعات منسجم چندانی، به‌ویژه در زمینهٔ همزیستی قارچ-ریشه‌های آربوسکولار با گونه‌های درختان جنگلی در ایران صورت نگرفته است. هرچند، Ghane Pour (2009)، موفق شدند از فراریشهٔ درختچه‌های قیچ، تاغ و افدرا در منطقهٔ دامغان، گونه‌های *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. constrictum*، *G.* geosporum، *G. etunicatum*، *G. etunicatum*، *G. macrocarpum*، *G. microcarpum*، *G. deserticola*، *G. caesaris*، *Acaulospora capsicula* و *Pacispora rphbiginia* را جداسازی کنند. همچنین Jannani (2009) توانستند از همان منطقهٔ دامغان، قارچ-ریشه‌های متعددی از گونهٔ گیاهان آویشن، گون و درمنه شامل *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices* و چندین گونهٔ دیگر از همین جنس را گزارش کنند. با اینکه اطلاعات مفیدی از پراکنش قارچ-ریشه‌های آربوسکولار و همچنین اکتومیکوریز در درختان میوه در ایران گزارش شده، اطلاعات موجود دربارهٔ گیاهان جنگلی محدود است. با توجه به تنوع اقلیمی در استان سمنان، به‌ویژه مناطق شمالی این منطقه و اهمیت مناطق جنگلی در این استان در حفظ درختان جنگلی، شناسایی و جداسازی قارچ-ریشه‌های آربوسکولار از خاک درختان جنگلی و اقلیم هدف این پژوهش است. بر این اساس، ارتباط میزان کلونیزاسیون ریشهٔ گیاه میزبان توسط قارچ-ریشه‌های آربوسکولار (AMF) و فراوانی و تراکم جمعیت این‌گونه قارچ‌ها در منطقهٔ جنگلی کیاسر بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات جغرافیایی منطقهٔ تحت مطالعه به همراه نمونه‌برداری

منطقهٔ جنگلی کیاسر در شمال شهرستان دامغان استان سمنان و دارای مختصات جغرافیایی ´۱۷ °۳۲ عرض شمالی، ´۲۷ °۵۳ طول شرقی و ارتفاع ۳۸۵۲ متر از سطح دریا است.

برای نمونه‌برداری از خاک منطقه، نمونه‌های خاک و ریشه برای هر گیاه (درخت) از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر در اطراف فراریشهٔ گیاه جمع‌آوری گردید. همچنین در مرحلهٔ مطالعات آزمایشگاهی، خاک‌های جمع‌آوری‌شده از پایهٔ گیاه تله (ذرت) الک شد و ریشه‌ها جدا گردید.

شناسایی گونه‌های قارچ-ریشه آربوسکولار

برای شناسایی گونه‌های قارچ-ریشه آربوسکولار ابتدا خاک گلدان‌های گیاهان تله (ذرت) بعد از برقراری رابطهٔ همزیستی و تولید اسپور به آزمایشگاه منتقل گردید و سپس به روش سانتریفوژ در محلول ساکروز (Jenkins, 1964) اقدام به جداسازی اسپور قارچ-ریشه‌های آربوسکولار گردید. بدین منظور، ۲۵۰ گرم از خاک گلدان همراه ریشه در آب به حالت تعلیق درآورده شد، پس از آن سوسپانسیون به‌دست آمده از سری الک‌های ۴۰، ۸۰ و ۴۰۰ مش عبور داده شد و بدین ترتیب ذرات ریز خاک و باقیماندهٔ اسپورها جدا گردید. محتویات الک ۴۰۰ مش طی دو مرحله سانتریفیوژ شد. مرحلهٔ اول به مدت ۶ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت که در پایان این مرحله، فاز رویی لوله‌های سانتریفیوژ که حاوی اسپور بود، از داخل الک ۴۰۰ مش عبور داده شد. در مرحلهٔ دوم سانتریفیوژ، به فاز زیری که حاوی ذرات خاک و اسپور بود، محلول ساکروز ۵۵٪ اضافه گردید و بلافاصله هم زده شد تا مانع از پلاسمولیز اسپورها گردد. سپس محتویات با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت دو دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن، فاز رویی حاوی اسپور داخل الک ۴۰۰ مش ریخته شد و با آب شست‌وشو داده شد. در نهایت، اسپورهای جمع‌آوری‌شده به یک پتری منتقل گردیدند و تا زمان تهیهٔ اسلاید دایمی در یخچال در دمای ۶ درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. اسپوروکارپ، خوشه‌های اسپور و اسپورهای

موجود در هر ظرف پتری در زیر استریومیکروسکوپ با استفاده از میکروپیپت‌های شیشه‌ای جدا شدند. اسپورها بر اساس شکل، اندازه، رنگ و تزئینات دیواره جداسازی شدند. در این میان، اسپورهای چروکیده و فاقد ریسه تا حد امکان از اسپورهای سالم و دارای ریسهٔ متصل جدا شدند. ریسهٔ متصل به اسپور در شناسایی این قارچ‌ها نقش مهمی دارد و از معیارهای مهم در تاکسونومی به شمار می‌رود (Gerdemann & Nicolson, 1963; Rezaee Danesh, 2012). به منظور تهیهٔ اسلاید میکروسکوپی، از مخلوط حجمی ۱:۱ پلی وینیل لاکتوگلیسرول (Polyvinyl-Lacto-Glycerol) و معرف ملزر استفاده گردید (Koske & Tessier, 1983; Hall, 1984). سپس دو قطره از این محلول روی لام قرار گرفت و درون هر قطره نیز ۲۰ اسپور سالم قرار داده شد. اسلایدها به مدت یک شبانه روز در آون در دمای ۵۵ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند (Rezaee Danesh, 2012). پس از آن، اسلایدها در زیر استریومیکروسکوپ بررسی شدند. اسپورها بر اساس صفات ریخت‌شناسی مانند اندازه و شکل اسپور، ضخامت لایه‌های موجود در دیواره، تعداد دیواره‌ها، نحوهٔ اتصال ریسه به اسپور و محل آنها، باز یا بسته بودن ریسه در محل اتصال به ریسه، رنگ اسپورها و نحوهٔ انسداد روزنه‌ها در صورت بسته بودن، توسط میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند. همچنین منابع معتبر همچون سایت‌های اینترنتی، از جمله www.amf-phylogeny.com، www.invam.caf و www.lrz-muenchen.de/schuesler/amphylogeny برای شناسایی استفاده شدند.

شمارش اسپور قارچ-ریشهٔ آربوسکولار

به منظور تعیین فراوانی جمعیت اسپوری قارچ-ریشه در نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از منطقهٔ جنگلی کیاسر و بر اساس نوع میزبان تحت مطالعه، اسپورها برای تکثیر اسپورهای قارچی جوان و سالم شمارش شدند و برای شناسایی گونه‌های قارچی گلدانی تله با گیاهان ذرت کشت شدند. برای کشت گلدانی گیاه ذرت مخلوطی به نسبت حجمی (۱:۳) از ماسهٔ شسته شدهٔ سترون و ۳۰۰ گرم نمونهٔ خاک جمع‌آوری‌شده همراه با ریشه به عنوان مایهٔ تلقیح و بذرهای ذرت استفاده شد و سپس گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای (دمای حدود ۱±۲۵ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و دورهٔ نوری مداوم ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری گردیدند. سه تکرار به وزن ۳۰۰ گرم از هر کدام از نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده از ذرت انتخاب و جداسازی قارچ-ریشه آربوسکولار با استفاده از روش استاندارد شست‌وشو که در بالا ذکر شد، صورت گرفت. این مطالعه در قالب طرح آزمایشی آشیانه‌ای صورت پذیرفت.

میانگین تراکم اسپور به‌صورت شمارش تعداد اسپورها در ۳۰۰ گرم خاک خشک جمع‌آوری‌شده از سطح منطقهٔ جنگلی کیاسر محاسبه شد (Rezaee Danesh, 2012). برای محاسبهٔ فراوانی نسبی، درصد اسپورهای متعلق به یک گونهٔ خاص قارچی مشخص گردید. همچنین برای بررسی و محاسبهٔ فراوانی نسبی، درصد اسپورهای متعلق به یک گونهٔ خاص قارچی تعیین گردید. به منظور ارزیابی تنوع مورفولوژیک قارچ-ریشه آربوسکولار در منطقهٔ جنگلی نمونه‌برداری‌شده، از شاخص شانن-وینر و یکنواختی استفاده شد (Magurran, 1988). بر این اساس، محاسبهٔ شاخص شانن- وینر (H) طبق فرمول زیر صورت می‌گیرد:

$$H = -\Sigma pi \times Ln\ pi$$

H: شاخص تنوع شانون وینر

pi: فراوانی نسبی افراد گونه

Ln: لگاریتم طبیعی

$$P_i = \frac{n_i}{N}$$

ni: تعداد افراد یک گونه

N: تعداد کل افراد گونه‌های قارچ-ریشه آربوسکولار

شاخص یکنواختی گونه‌ها (Eh) یا توزیع افراد یک گونه در مقایسه با افراد گونه‌های دیگر بر اساس روش زیر به‌دست می‌آید:

$$Eh = \frac{H}{H_{max}} = \frac{H}{LnS}$$

S: تعداد کل گونه‌ها در منطقه

H_{max}: حداکثر شاخص تنوع

فراوانی نسبی به‌صورت درصد اسپورهای متعلق به یک گونه

تجزیه و تحلیل آماری

پس از ثبت اطلاعات مربوط به میانگین تراکم اسپورها و

تجزیهٔ واریانس، نتایج این مطالعه با نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه و تحلیل شد. همچنین مقایسه‌های میانگین و گروه‌بندی آماری با استفاده از روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن صورت گرفت. تجزیهٔ خوشه‌ای نیز با استفاده از روش Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) و نرم‌افزار SPSS 21 انجام گرفت.

نتایج

بر اساس مطالعات این پژوهش، اسپور قارچ-ریشه آربوسکولار در همهٔ نمونه‌های خاک مرکب درختان منطقهٔ جنگلی کیاسر مشاهده گردید. همچنین این تحقیق نشان می‌دهد که قارچ-ریشه آربوسکولار در فراریشهٔ گیاه ذرت به عنوان گیاه تله (برای تکثیر قارچ-ریشه) و به‌صورت همزیستی آنها با ریشه‌های درختان تحت مطالعه، وجود دارد. استقرار کاشت گیاه تله در گلخانه می‌تواند یک روش عملی برای تکثیر و نمو قارچ-ریشه آربوسکولار باشد. همچنین در این روش این احتمال وجود دارد که برخی از اسپورهای قارچی موجود در اینوکولوم اولیه، در کشت گیاه تله مشاهده نشوند. در ضمن ممکن است برخی از گونه‌های قارچی که به دلیل شرایط بازدارندهٔ کشت در اینوکولوم اصلی یافت نگردیدند، به دلیل در دسترس بودن محرک‌های ناشناخته، در کشت گیاه تله قرار گیرند (Rezaee Danesh, 2012). پس از انتخاب گیاه ذرت به عنوان گیاه تله و گذشت ۶ ماه از برقراری کشت‌های گلدانی تله، میزان آلودگی در این گلدان‌ها به قارچ-ریشه آربوسکولار مشاهده گردید. در جمع‌آوری نمونه‌ها از منطقهٔ جنگلی، تعداد کم اسپورهای قارچی همراه با تغییرات محیطی و سن آنها، مانع شناسایی درست این‌گونه قارچ‌ها می‌گردد (Bever *et al*., 2001). به هر حال، استفاده از گیاه ذرت (به دلیل تحمل بالای این گیاه در برابر حرارت و تنش‌های خشکی مربوط به آن) به عنوان گیاه تله در میزان تکثیر اسپور قارچ-ریشه‌ها و نیز تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها نقش بارزی دارد. به‌طور معمول از گیاهان علوفه‌ای همانند سورگوم سودان گرس (*Sorghum sudanens*) و ذرت (*Zea mays*) به دلیل داشتن وسعت زیاد سیستم ریشه‌ای برای تکثیر این قارچ‌ها استفاده می‌شود (Rezaee Danesh, 2012).

تعداد ۱۰ گونه از قارچ-ریشه‌های آربوسکولار در فراریشهٔ این درختان (سپیدار، توسکای قشلاقی، گوجه‌سبز (آلوچه)، راش، زبان‌گنجشک، نارون برگ‌ریز، دارمازو، گالش انگور، افرای زبان‌گنجشکی، چنار، لیلکی آمریکایی، شاه‌بلوط، ازگیل آلمانی و لرگ شناسایی گردید. این قارچ‌ها در سه جنس *Glomus*، *Gigaspora* و *Paraglomus* از دو راستهٔ *Glomerales* و *Diversisporales* از ۳ خانوادهٔ *Glomeraceae*، *Paraglomeraceae* و *Gigasporaceae* بودند. جنس *Glomus* از مشهورترین قارچ-ریشه‌های آربوسکولار است (Karimi *et al*., 2006)، که از فراوان‌ترین قارچ‌های آربوسکولار همزیست ریشهٔ گیاهان و درختان محسوب می‌شود. جدول ۱ نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف آماری در سطح P<۰/۰۱ مربوط به تجزیهٔ واریانس فراوانی جمعیت اسپور قارچ-ریشه‌های آربوسکولار منطقه و گیاهان تحت مطالعه است.

براساس این نتایج، بیشترین گونهٔ قارچی شناسایی‌شده متعلق به جنس *Glomus* است. این جنس بیشترین گونه را در میان جنس‌های راستهٔ *Glomerales* دارد (Schüssler *et al*., 2001). بر اساس نتایج میانگین جمعیت اسپورهای ۳۰۰ گرم خاک تحت مطالعه، سپیدار و توسکای قشلاقی بیشترین میانگین اسپور را به خود اختصاص دادند، درحالی‌که لرگ کمترین جمعیت میانگین اسپور را داشت (جدول ۲).

جدول۱. تجزیهٔ واریانس مربوط به فراوانی جمعیت اسپور قارچ-ریشه‌های آربوسکولار در ۱۴ درخت مختلف نمونه‌برداری‌شده

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
تکرار	۳	۲۶۳۰۳/۹۷۲۲	۲۶۳۰۳/۹۹۰۷	۱/۵۶
نمونهٔ درختان	۱۳	۱۷۹۸۴۸/۹۷۱۸	۱۳۸۳۴/۵۳۶۳	۲/۴۶**
خطا	۳۹	۲۱۹۲۸۲/۲۵۸۷	۵۶۲۲/۶۲۲۰	
کل نمونه‌های خاک	۵۵	۴۲۵۴۳۵/۲۰۲۶		

ns: بی‌معنا در سطح P > ۰/۰۱، **: معنادار در سطح P < ۰/۰۱، ضریب تغییرات (CV): ۵/۷۷ ٪

مطالعات چندانی در زمینهٔ پژوهش روی درختان جنگلی در ایران صورت نگرفته است. یکی از گزارش‌ها قارچ-ریشهٔ آربوسکولار از خاک درختان مناطق ایران، شناسایی اسپورهای *Glomus coronatum* از استخراج اسپورهای فراریشهٔ عناب توسط جهانی و همکاران بود (Jahani *et al*., 2009)؛ هر چند که این گونه در خاک درختان منطقهٔ جنگلی کیاسر یافت نگردید.

به منظور دقیق بودن نتایج، روی درختان نمونه‌برداری و نیز نمونه خاک جمع‌آوری‌شده بر اساس میانگین تعداد اسپورها تجزیهٔ خوشه‌ای انجام گرفت. با استناد به نتایج تجزیهٔ خوشه‌ای شکل ۱ و در مقیاس (۰/۵-۰) می‌توان نمونه‌های خاک درختان مختلف را بر اساس میانگین جمعیت اسپور قارچی در ۸ خوشه تقسیم‌بندی کرد. بر این اساس، درختان گالش انگور (GA)، دارمازو (D) و نارون (N) در خوشهٔ یک، راش (R) در خوشهٔ دو، زبان‌گنجشک (ZB) و گوجه‌سبز (GO) در خوشهٔ سه، سپیدار (CP) و توسکا (TO) در خوشهٔ چهار، چنار (CH)، لیلکی آمریکایی (LE) و افرای زبان‌گنجشکی (AF) در خوشهٔ پنج، از طرف دیگر شاه‌بلوط (SH)، ازگیل (AZ) و لرگ (L) هر کدام در خوشه‌های جداگانه به‌ترتیب خوشهٔ شش، هفت و هشت قرار گرفتند (جدول ۳).

شکل ۱ نتایج تجزیهٔ خوشه‌ای منطقهٔ نمونه‌برداری از نظر میانگین جمعیت اسپوری به روش UPGMA را نشان می‌دهد.

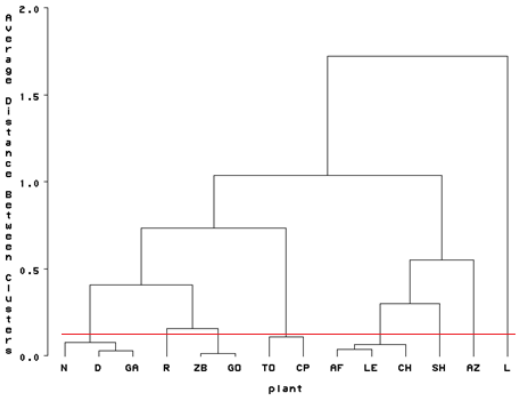
جدول ۲. نتایج شمارش اسپورهای موجود در ۳۰۰ گرم خاک از مجموع هر نمونه گیاه

نام فارسی	نام علمی (خانواده)	میانگین اسپور*
سپیدار	*Populus alba* L. (*Salicaceae*)	۱۳۸۲/۳۵[a]
توسکای قشلاقی	*Alnus glutinosa* L. (*Betulaceae*)	۱۳۷۲/۶۹[a]
گوجه‌سبز (آلوچه)	*Prunus divaricate* Ledeb (*Rosaceae*)	۱۳۵۴/۳۱[ab]
راش	*Fagus orientalis* Lipsky (*Fagaceae*)	۱۳۳۸/۳۵[ab]
زبان‌گنجشک (بنو، ون)	*Fraxinus rotundifolia* Miller (*Oleaceae*)	۱۳۳۶/۷۱[ab]
نارون برگ‌ریز	*Ulmus boissieri* (Boiss.) Grudz. (*Ulmaceae*)	۱۳۱۴/۹۶[abc]
مازوج، دار مازو	*Quercus infectoria* Oliv. (*Fagaceae*)	۱۳۰۸/۶۳[abc]
گالش انگور	*Ribes aureum* Pursh (*Grossulariceae*)	۱۳۰۳/۰۰[abcd]
افرای زبان‌گنجشکی	*Acer negundo* L. (*Aceraceae*)	۱۲۷۷/۸۸[abcd]
چنار	*Platanus orientalis* L. (*Platanaceae*)	۱۲۷۴/۶۷[abcd]
لیلکی آمریکایی	*Gleditsia triacanthos* L. (*Caesalpinaceae*)	۱۲۶۷/۲۷[abcd]
شاه‌بلوط	*Castanea sativa* Mill. (*Fagaceae*)	۱۲۴۱/۱۹[bcd]
ازگیل آلمانی	*Mespilus germanica* L. (*Rosaceae*)	۱۲۱۱/۴۸[dc]
لرگ	*Pterocarya fraxinifolia* (Lam.) Spach (*Juglandaceae*)	۱۱۸۴/۲۵[d]

* حروف مشابه در هر سطح مقایسه نشان‌دهندهٔ نبود اختلاف معنادار در آن سطح است.

جدول ۳. مشخصات خوشه‌ها و نمونه‌های تفکیک‌شده در هر خوشه بر اساس میانگین جمعیت اسپور قارچ-ریشه آربوسکولار در فراریشهٔ درختان مختلف

خوشه	نمونه‌های درختان موجود در هر خوشه
۱	گالش انگور (GA)، دارمازو (D) و نارون (N)
۲	راش (R)
۳	زبان‌گنجشک (ZB) و گوجه‌سبز (آلوچه) (GO)
۴	سپیدار (CP) و توسکا (TO)
۵	چنار (CH)، لیلکی آمریکایی(LE) و افرای زبان‌گنجشکی (AF)
۶	شاه‌بلوط (SH)
۷	ازگیل (AZ)
۸	لرگ (L)



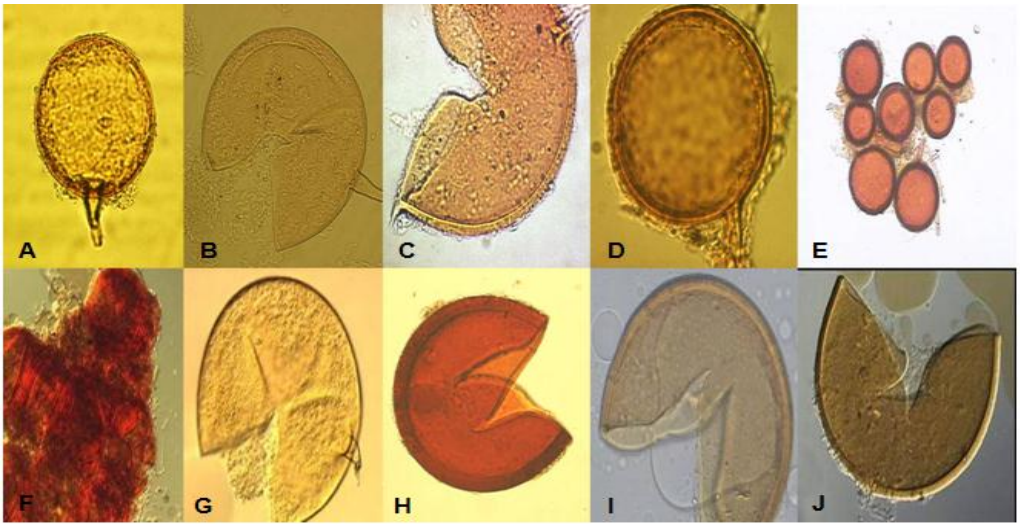
شکل ۱. تجزیهٔ خوشه‌ای نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از فراریشهٔ درختان مختلف بر اساس میانگین تعداد اسپور با روش UPGMA قارچ-ریشه‌های آربوسکولار

برای بررسی وجود ارتباط میان میزان کلونیزاسیون ریشه‌ها و تراکم جمعیت تحت نظر قارچ-ریشه‌ها، شاخص‌های کلونیزاسیون شامل تراکم قارچ-ریشه (M%)، آربوسکول در بخش میکوریزایی (a%) و فراوانی قارچ-ریشه (F%) ارزیابی شد (Trouvelot *et al*., 1986). بر این اساس، بیشترین میزان فراوانی قارچ-ریشه (F%) و میانگین تراکم قارچ-ریشه (M%) مربوط به گوجه‌سبز به‌ترتیب ۶۶/۳۵ و ۷۹ /۴۶ درصد به‌دست آمد. در حالی‌که کمترین میزان فراوانی قارچ-ریشه و میزان تراکم قارچ-ریشه در بین درختان تحت مطالعه در نارون به‌ترتیب ۳۷/۶۹٪ و ۵۸/۶۳٪ بود (جدول ۴).

در این تحقیق، درختان زبان‌گنجشک و گوجه‌سبز (آلوچه) نسبت به درختان دیگر همانند شاه‌بلوط، سپیدار، لرگ و ازگیل آلمانی میزان آلودگی بسیار کمتری به قارچ-ریشه آربوسکولار نشان دادند. این آلودگی که محل تبادل مواد فتوسنتزی و عناصر غذایی جذب شده است، می‌تواند نشان‌دهندهٔ بالای پتانسیل تشکیل هم‌زیستی قارچ-ریشه و سبب بهبود رشد گیاه و مقاومت آن نسبت به بیمارگرها باشد (Allen *et al*., 1998); (Jahani *et al*., 2006). در بین گونه‌های اسپوری شناسایی‌شده در این مطالعه، بیشترین درصد اسپورها مربوط به *G. aggregatum* بود. گونه‌های قارچ-ریشه شناسایی‌شده از منطقهٔ جنگلی کیاسر شامل هشت گونهٔ *Glomus*، یک گونهٔ *Gigaspora* و یک گونهٔ *Paraglomus* از ۱۴ گونه درخت این منطقه بود (شکل۲).

جدول ۴. شاخص‌های کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ-ریشه آربوسکولار

نوع گیاه	میانگین تراکم میکوریزایی (M%)	میانگین آربوسکول در تراکم میکوریزایی (a%)	میانگین فراوانی میکوریزایی(F%)
نارون	۵۸/۶۳	۶۱/۹۵	۳۷/۶۹
دارمازو	۶۳/۸۵	۴۶/۰۵	۳۸/۹۷
گالش انگور	۶۵/۴۰	۶۷/۹۹	۴۴/۱۷
راش	۶۰/۴۷	۶۲/۱۰	۳۸/۶۰
چنار	۶۵/۴۵	۶۶/۵۹	۴۴/۷۷
زبان‌گنجشک	۶۴/۴۳	۶۶/۹۱	۴۰/۹۱
لرگ	۶۲/۷۱	۶۳/۶۱	۴۱/۴۸
افرای زبان‌گنجشکی	۶۳/۹۸	۶۸/۶۶	۴۴/۸۴
لیلکی آمریکایی	۶۱/۵۵	۶۶/۹۲	۴۲/۳۳
توسکای قشلاقی	۶۳/۲۴	۶۴/۴۱	۴۰/۷۴
سپیدار	۶۶/۲۵	۶۸/۲۹	۴۶/۰۳
گوجه‌سبز (آلوچه)	۶۶/۳۵	۶۹/۱۴	۴۶/۷۹
شاه‌بلوط	۶۴/۸۴	۶۷/۳۸	۴۴/۵۱



شکل ۲. گونه‌های شناسایی‌شدهٔ قارچ-ریشه آربوسکولار در منطقهٔ جنگلی کیاسر. A) *Gigaspora albida*، B) *Glomus mosseae*، C) *Glomus fasciculatum*، D) *Glomus geosporum*، E) *Glomus intraradices*، F) *Paraglomus occoltum*، G) *Glomus manihotis*، H) *Glomus macrocarpum*، I) *Glomus albidum* و J) *Glomus aggregatum*.

اسامی گونه‌های شناسایی‌شده و فراوانی آنها در فراریشهٔ هر گیاه در کل نمونه‌های تحت بررسی در جدول ۵ نشان داده شده است.

با بررسی نتایج جدول ۵ مشخص گردید که در فراریشهٔ چنار بیشترین و کمترین فراوانی مربوط به *G. fasciculatum* و *G. geosporum*، در دارمازو بیشترین فراوانی مربوط به گونه‌های *G. fasciculatum* و *G. intradices* و کمترین فراوانی مربوط به گونهٔ *G. geosporum* است. در راش بیشترین فراوانی مربوط به گونه‌های *G. fasciculatum* و *G. mosseae* و کمترین فراوانی مربوط به گونهٔ *G. macrocarpum*، در شاه‌بلوط بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب *G. mosseae* و *G. manihotis*، در زبان‌گنجشک بیشترین و کمترین فراوانی گونه‌ها به‌ترتیب مربوط به *G. fasciculatum* و *G. albidium*، در سپیدار بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. macrocarpum* و *G. albida* است. همچنین، در گالش انگور بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. mosseae* و *G. aggregatum*، در نارون برگ‌ریز بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G.geosporum* و *G. albidum*، در توسکای قشلاقی بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. intradices* و *G. fasciculatum*، در لیلکی آمریکایی بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. macrocarpum* و *G. aggregatum*، در لرگ بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. aggregatum* و *Gigaspora albida*، در آلوچه بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. geosporum* و *G. albidum*، در ازگیل آلمانی بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. manihotis* و *Gigaspora albida*، در افرای زبان‌گنجشکی بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *G. aggregatum* و *G. mosseae* است. در مجموع، بیشترین فراوانی نسبی مربوط به گونهٔ *G. geosporum* (۳۵/۴٪) و کمترین مربوط به گونهٔ *Gigaspora albida* (۰/۷٪) است.

دو گونهٔ *G. fasciculatum* و *G. macrocarpum* در هر ۱۴ درخت میزبان یافت گردید. این امر ممکن است دلیل بر سازش‌پذیری بالای این دو گونه در نمونه‌های خاک این درختان باشد. دو جنس *Paraglomus occoltum* و *Gigaspora albida* کمترین میانگین فراوانی نسبی به‌ترتیب ۱۰/۳۷ و ۹/۳۴ را دارند، درحالی‌که بر اساس پژوهش‌ها، جنس *G. aggregatum* به عنوان جنس غالب با فراوانی نسبی ۲۹/۳۰٪ معرفی شد (جدول ۵). در منطقهٔ جنگلی کیاسر، تعداد مشاهدهٔ گونه، فراوانی نسبی، تراکم اسپور، غنای گونه‌ای، شاخص تنوع و همچنین شاخص یکنواختی ارزیابی شد (جدول‌های ۵ و ۶).

جدول ۵. فراوانی نسبی گونه‌های قارچ-ریشه آربوسکولار در میزبان‌های گیاهی مختلف

گونهٔ قارچی	فراوانی نسبی (٪)															میانگین فراوانی نسبی هر گونه (٪)
	میزبان															
	چنار	دارمازو	راش	شاه‌بلوط	زبان‌گنجشک	سپیدار	گالش انگور	نارون برگ‌ریز	توسکای قشلاقی	لیلکی آمریکایی	لرگ	گوجه‌سبز (آلوچه)	ازگیل آلمانی	افرای زبان‌گنجشکی		
G. aggregatum	–	–	۳/۲۵	۱۰/۴	–	۲۲	۸/۵	–	–	۳/۲۵	۲۱/۳	–	۲/۷	۲۱/۳		۲۹/۳۰
G. mosseae	–	–	۲۱/۵	۲۸/۳	–	۲۸/۳	۲۴	–	–	۸/۶	۸/۷	–	۱۱	۰/۹		۱۶/۴۱
G. geosporum	۸/۷	۱۰/۴	–	–	۱۶	–	–	۲۱/۲	۶/۵	–	–	۳۵/۴	–	–		۱۶/۳۷
G. fasciculatum	۲۸/۳	۳۵/۳	۲۱/۵	۱۲/۷	۳۱	۱۰/۸	۲۱	۱۰/۶	۰/۷	۱۱/۲	۱۱/۳	۱۰/۴	۰/۸	۱۲/۹		۱۵/۶۱
G. intraradices	۱۰/۴	۳۵/۳	۲۱/۳	–	–	–	–	۶/۵	۲۴	۴/۵	–	–	–	–		۱۷
G. manihotis	–	۲۲	۲	۴/۶	–	۱۰/۴	۲۱/۵	–	۱۰/۵	–	۶/۷	–	۲۳/۴	۱۱		۱۲/۴۶
G. albidum	۱۰/۳	۱۸	–	۲۵/۵	۱۲/۶	۱۴	۱۰/۴	۴/۵	۱۵/۶	–	۱۰/۴	۸/۶	۱۱/۶	۴/۸		۱۲/۱۹
G. macrocarpum	۱۲	۲۲/۴	۵/۶	۲۱/۵	۲۸/۳	۳۱	۱۷	۱۳	۴/۶	۱۳/۷	۳/۵	۱۲/۶	۲/۶	۲/۷		۱۳/۶۱
Gigaspora albida	۱۱/۵	۲۲	–	۱۱/۶	–	۱۰	–	۱۱/۴	۶/۸	–	۰/۷	–	۰/۷	–		۹/۳۴
Paraglomus occoltum	۱۰/۴	–	۱۱/۳	۵/۶	–	۲۱/۵	۱۲	۱۰	–	۱۲/۴	۲/۵	–	۳/۵	۱۴/۵		۱۰/۳۷

جدول ۶. شاخص تنوع شانن- وینر، یکنواختی و غنای گونه‌ای قارچ-ریشه آربوسکولار در منطقهٔ جنگلی کیاسر

میزبان	غنای گونه‌ای (٪)	شاخص یکنواختی	شاخص تنوع گونه‌ای	غنای گونه‌ای
چنار	۷۰	۰/۷۳	۱/۶۷	۷
دارمازو	۷۰	۰/۶۷	۱/۵۵	۷
راش	۶۰	۰/۵۸	۱/۳۳	۶
شاه‌بلوط	۸۰	۰/۴۹	۱/۱۲	۸
زبان‌گنجشک	۴۰	۰/۳۴	۰/۷۸	۴
سپیدار	۸۰	۱/۰۶	۲/۴۵	۸
گالش انگور	۷۰	۰/۷۷	۱/۷۸	۷
نارون برگ‌ریز	۷۰	۰/۶۷	۱/۵۵	۷
توسکای قشلاقی	۷۰	۰/۲۹	۰/۶۷	۷
لیلکی آمریکایی	۶۰	۰/۵۳	۱/۲۳	۶
لرگ	۸۰	۰/۴۹	۱/۱۴	۸
گوجه‌سبز (آلوچه)	۴۰	۰/۳۳	۰/۷۵	۴
ازگیل آلمانی	۸۰	۱/۰۱	۲/۳۳	۸
افرای زبان‌گنجشکی	۷۰	۰/۷۳	۱/۶۷	۷

شاخص تنوع گونه‌ای و شاخص یکنواختی که بر اساس روش شانن- وینر محاسبه گردید، نشان می‌دهد که سپیدار و توسکای قشلاقی به‌ترتیب بیشترین و کمترین تنوع و یکنواختی گونه‌ای قارچ-ریشه آربوسکولار را دارند و همچنین غنای گونه‌ای محاسبه‌شده بیانگر آن است که شاه‌بلوط، سپیدار، لرگ و ازگیل آلمانی بیشترین و زبان‌گنجشک و گوجه‌سبز (آلوچه) کمترین غنای گونه‌ای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را دارند. همچنین بیشترین و کمترین میزان شاخص یکنواختی در درخت سپیدار (۱/۰۶) و توسکای قشلاقی (۰/۲۹) به‌ترتیب مشاهده گردید.

مطالعات دیگر نشان داده است که درختان بزرگ‌تر به دلیل رقابت شدید در سیستم ریشه‌ای برای جذب عناصر و مواد غذایی که در خاک آنها موجود است، میزان آلودگی به قارچ-ریشه بیشتری دارند (Rajapakes & Miller, 1992). همچنین میزان تجمع بالای قارچ-

ریشه با میزان تراکم ریشه‌ها در واحد حجم رابطهٔ مستقیم دارد. اسپوردهی قارچ-ریشه آربوسکولار در مجاورت مواد غذایی شتاب می‌گیرد و جمعیت اسپوری در این مناطق افزایش شایان توجهی نشان می‌دهد (Douds, 1994).

با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد بین غنای گونه‌ای با میانگین تراکم قارچ-ریشه رابطهٔ مستقیمی وجود دارد؛ درحالی‌که در مقایسه با میانگین تراکم اسپورها چنین رابطه‌ای دیده نمی‌شود.

همچنین ۸ گونه از غنای گونه‌ای در درختان شاه‌بلوط، سپیدار، لرگ و ازگیل به‌دست آمد، درحالی‌که کمترین غنای گونه‌ای مربوط به زبان‌گنجشک و گوجه‌سبز با ۴ گونه بود. بر این اساس، در نظر Morton *et al.* (1995)، تراکم اسپورهای قارچی یکی از مهم‌ترین اجزای شاخص‌های تنوع مورفولوژیک است. به همین دلیل، تفسیر این شاخص‌ها برای قارچ-ریشه همواره بایستی با احتیاط صورت گیرد.

به‌طور کلی، بر اساس پژوهش‌هایی که در سال‌های اخیر دربارهٔ این قارچ‌ها صورت گرفته است، می‌توان با تکثیر گونه‌های غالب و استفاده از آنها به عنوان کود زیستی، به‌طور مؤثری باعث افزایش توان رشدی گیاه و عملکرد بالا در شرایط تنش‌زای محیطی گردید و همچنین در جهت بیابان‌زدایی در اکثر مناطق کشور از آن استفاده کرد. با به‌کارگیری درست این نوع کود زیستی به عنوان یکی از راه‌های نوین، علاوه بر کاهش هزینه‌های تولید و کاهش واردات و مصرف کود و سم، آلودگی‌های زیست‌محیطی نیز کاهش می‌یابد و الگویی برای مصرف درست و بهینهٔ آب و منابع آن در برابر دیگر تنش‌های زنده و غیرزنده فراهم می‌آید که موجب گام برداشتن در جهت کشاورزی و توسعهٔ پایدار می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی

همهٔ گونه‌های شناسایی‌شده در فراریشهٔ این درختان اولین گزارش در ایران است. تاکنون مطالعهٔ تاکسونومی در فراریشهٔ این درختان در ایران صورت نگرفته و همهٔ گونه‌های شناسایی شده در این میزبانان نیز اولین گزارش از وجود قارچ-ریشه آربوسکولار در این گیاهان و در ایران محسوب می‌شوند. از ۱۴ درخت تحت مطالعه، تعداد ۱۰ گونه قارچ-ریشه آربوسکولار که هشت عدد آنها از جنس *Glomus* بود، شناسایی شد. همچنین هشت گونه در غنای گونه‌ای در درختان شاه‌بلوط، سپیدار، لرگ و ازگیل به‌دست آمد، درحالی‌که کمترین غنای گونه‌ای مربوط به زبان‌گنجشک و گوجه‌سبز با چهار گونه بود. از ۱۴ درخت تحت مطالعه، ۱۰ گونه قارچ-ریشه آربوسکولار که هشت تا از آنها از جنس *Glomus* بود، شناسایی شد. بیشترین فراوانی نسبی مربوط به گونهٔ *G. aggregatum* (۲۹/۳۰ درصد) و کمترین فراوانی نیز در گونهٔ *Gigaspora albida* (۹/۳۴ درصد) مشاهده گردید.

سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان که بودجه و امکانات لازم برای این مطالعه را فراهم آوردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Allen, M. F., Richards, J. H. & Buss, C. A. (1998). Influence of clipping and soil water status on VAM of two semi-arid tussock grasses. *Biology and Fertility of Soils*, 8, 285-289.
2. Amoo-Aghaie, R., Mostajeran, A. & Emtiazi, G. (2003). Effect of *Azospirillum* inoculation on some growth parameters and yield of three wheat cultivars. JWSS - Isfahan University of Technology, 7 (2), 127-139. (In Farsi).
3. Bever, J. D., Schultz, P.A., Pringle, A. & Morton, J. B. (2001). Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the age and the ecological tale of why. *Bioscience*, 51, 923-931.
4. Douds D. D. (1994). Relationship between hyphal and arbuscular colonization and sporulation in a mycorrhiza of *Paspalum notatum* Flugge. *New Phytologist*, 126, 233-237.
5. Fitter, A. H. & Garbaye, J. (1994). Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organism. *Plant and Soil*, 159, 123-132.
6. Gerdemann, G. W. & Nicolson, T.H. (1963). Spore of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction British Mycological Society*, 46, 235-244.
7. Hall, I. R. & Abbott, L. K. (1984). Some *Endogonaceae* from south Western Australia. *Transaction in British Mycological Society*, 83, 203-208.

8. Ghane Pour, M. T. (2009). Taxonomy study of arbuscular mycorrhizal fungi in rhizosphere from *Zygophyllum atriplicoides*, *Haloxylon ammodendron*, *Ephedra gerardiana* in Semnan Province, Iran, M. Sc. thesis of plant pathology, Azad University branch of Damghan, p 148.
9. Jahani, M., Daghighi, S., Daghighi, M. & Nakhaie, A. (2009). Identification of mycorrhizal in Jujube tree (*Ziziphus jujube* mill) and the effect of the age of the tree on the quantity of mycorrhiza. *Journal of Plant Production*, 16(1), 75-86. (In Farsi).
10. Jannani, A. N., Rezaee Danesh, Y., Asghari, H. R. & Eskandari, A. (2009). Identification of species of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Thymus vulgaris*, *Astragalus* spp. and *Artemisia adamsii* from Shahroud region. Ms.C Thesis of plant pathology, Azad University branch Damghan, p 136.
11. Karimi, F., Zangeneh, S., Yousefzadi, M. & Zarre Mayvan, H. (2006). Recognition of arbuscular-mycorriza fungi (AMF) and root colonization peroentage in Kharturan biosphere reserve. *Environmental Sciences*, 10, 83-88. (In Farsi).
12. Karlinski, L., Rudawska, M., Kieliszewska, B. & Leski, T. (2010). Relationship between genotype and soil environment during colonization of poplar roots by Mycorrhizal and endophytic fungi. *Mycorrhiza*, 20 (5), 315-324.
13. Khavazi, K. (1998). The necessity of microbial fertilizers in Iran. *Journal of Water and Soil*, 12(3), 37-38. (In Farsi).
14. Koske, R. E. & Tessier, B. (1983). A modified permanent slide mounting medium. *Mycorrhizal Society of American Newsletter*, 4, 59-64.
15. Magurran A. E. (1988). Ecological diversity and its measurement. *Princeton University Press*.179p.
16. Morton, J. B. (1985). Variation in mycorrhizal and spore morphology of *Glomus occultum* and *Glomus diaphanum* as influenced by plant host and soil environment. *Mycologia*, 77 (2), 192-204.
17. Rajapakes, S. & Miller J.C. (1992). Methods for studying vesicular-arbuscular mycorrhizal root colonization and related root physical properties. p. 301-316. In: Norris, J.R. *et al*. (ed.) Methods in Microbiology. Vol. 24, Techniques for the Study of Mycorrhiza. Academic press, London.
18. Rezaee Danesh, Y. (2012). Determination of the status of arbuscular mycorrhizal fungi associated with barely in Damghan region. *Journal of Plant Protection*, 26(4), 437-449. (In Farsi).
19. Rousta, M. (1996). Abundance and activity of *Azospirillum* sp. in some soils from Iran. Agriculture Faculty, University of Tehran. (In Farsi).
20. Schüssler, A., Schwarzott, D. & Walker C. (2001). A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105, 1413-1421.
21. Trappe, J. M. (1987). Phylogenetic and ecological aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evaluationary standpoint. In: Safir, G.R (ed). Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. CRC Press, Boca Raton, Fla., pp 5-25.
22. Trouvelot, A., Kough, J. L. & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorrhization VA dun systeme radiculaire. Research de methodes destimation ayant une signification functionelle. Pp. 217-221. *In* V. Gianinazzi-Person and S. Giazzi (eds.). Physiological and Genetic Aspects of Mycorrhizae. INRA, Paris.