مجلهٔ جنگل ایران، انجمن جنگلبانی ایران
سال دهم، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۷
ص ۱-۱۲

تغییرات فصلی فراوانی قارچ‌های آربسکولار محلب (*Cerasus mahaleb* L. Mill) و ارتباط آنها با فعالیت برخی آنزیم‌های ریزوسفر (مطالعهٔ موردی: چهارطاق اردل)

نگین آرمند[۱]، انوشیروان شیروانی[۲*]، محمد متینی‌زاده[۳] و مصطفی خوشنویس[۴]

[۱] دانشجوی دکتری جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
[۲] دانشیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
[۳] دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران
[۴] مربی پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۸)

چکیده

قارچ‌های میکوریزی به‌عنوان بخشی از موجودات خاکزی، همزیست‌هایی برای گونه‌های گیاهی محسوب می‌شوند که با ترشح آنزیم‌های خود و تحریک ترشح آنزیم‌های گیاه سبب افزایش حاصلخیزی خاک می‌شوند. پژوهش حاضر با هدف بررسی پتانسیل و شناسایی قارچ‌های میکوریزی همزیست با محلب و سنجش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی، دهیدروژناز و اوره‌آز در دو فصل مرطوب و خشک انجام گرفت. بدین منظور از ریشه‌های پنج پایه از درخت محلب و خاک اطراف آنها در رویشگاه چهارطاق اردل در استان چهارمحال و بختیاری نمونه‌برداری شد. اسپورهای قارچ‌های میکوریز آربسکولار همزیست با محلب به روش الک مرطوب و سانتریفوژ جداسازی و براساس صفات مورفولوژیکی شناسایی شدند. همچنین پس از واکنش‌های بیوشیمیایی لازم، فعالیت آنزیم‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر سنجیده شد. در این پژوهش شش گونه قارچ آربسکولار از چهار جنس *Funneliformis*، *Claroideoglomus*، *Rhizophagus* و *Septoglomus* به‌عنوان گونه‌های همزیست با محلب معرفی شدند که سه گونه به جنس *Rhizophagus* تعلق داشت. کلنیزاسیون میکوریزی در فصل بهار ۷۰/۲۵ و در فصل پاییز ۷۶ درصد بود. همچنین فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز، دهیدروژناز و اوره‌آز طی دو فصل اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. نتایج آزمون همبستگی، حاکی از وجود همبستگی مثبت معنی‌دار بین درصد کلنیزاسیون ریشه و فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده بود که نشان می‌دهد قارچ‌های میکوریزی توانسته‌اند در فصل بهار فعالیت آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. با توجه به درصد زیاد کلنیزاسیون میکوریزی در گونهٔ محلب، وابستگی این گونه به همزیستی میکوریزایی ضروری به‌نظر می‌رسد و باید در برنامه‌های نهالکاری و احیا به‌طور جدی به آن توجه شود.

واژه‌های کلیدی: چهارمحال و بختیاری، فصل، کلنیزاسیون، میکوریز.

مقدمه

گونهٔ محلب (گیلاس معطر) با نام علمی *Cerasus mahaleb* (L.) Mill از مهم‌ترین پهن‌برگان جنگل‌های زاگرس به‌شمار می‌رود که به خانوادهٔ Rosaceae تعلق دارد (Khatamsaz, 1991). محلب یکی از گونه‌های مهم در جنگل‌های زاگرس به‌شمار می‌رود که در معرض خطر نابودی قرار دارد (Zanganeh, 1999)، بنابراین برای حفظ و احیای این

* نویسندهٔ مسئول شماره تماس: ۰۹۸۹۱۲۶۶۶۳۱۵+ ایمیل: shirvany@ut.ac.ir

گونهٔ باارزش به نهال‌کاری نیاز است که لازمهٔ این کار، موفقیت در تولید نهال باکیفیت است. بدین منظور، در سال‌های اخیر راهکارهایی چون استفاده از قارچ‌های میکوریزی در زمان کاشت بذر در نهالستان ارائه شده است. قارچ‌های میکوریز آربسکولار (AMF[1]) از مهم‌ترین قارچ‌های مفید خاکزی‌اند که با بیش از ۸۰ درصد گیاهان آوندی رابطهٔ همزیستی برقرار می‌کنند. این قارچ‌ها در زیست‌بوم‌های طبیعی و مصنوعی مقاومت گیاه در مقابل تنش‌های زیستی و غیر زیستی را افزایش می‌دهند. کلنیزاسیون ریشه‌های گیاه، توسط قارچ‌های میکوریزی سبب افزایش رشد گیاه از طریق دسترسی بیشتر به عناصر خاک و بهبود جذب آب می‌شود؛ به‌طوری‌که آنها قادرند با توسعهٔ هیف‌های خود، سطح منطقهٔ تماس گیاه با خاک را تا بیش از ۴۷ برابر افزایش دهند (Alikhani & Gourchiani, 2012). همچنین تحقیقات حاکی از آن است که قارچ‌های میکوریزی می‌توانند از طریق اثرگذاری بر ترشح آنزیم‌ها، سبب افزایش حاصلخیزی خاک شوند (Atul-Nayyar *et al*., 2009). آنزیم‌های بسیاری در خاک، کارکردهای خاصی دارند که از میان آنها، فسفاتازها، اوره‌آز و دهیدروژناز از اهمیت خاصی در خاک‌های جنگلی برخوردارند. فسفاتازهای خاک از نوع خارج سلولی‌اند و توسط ریشهٔ گیاهان و میکروارگانیسم‌ها و در زمان کمبود فسفر ترشح می‌شوند (Antonietta Rao *et al*., 2000). ترشح این آنزیم‌ها به pH خاک وابسته است، به‌طوری که در pHهای قلیایی، فعالیت آلکالین فسفاتاز بیشتر از اسید فسفاتاز است (Sardans *et al*., 2008). دهیدروژناز فقط در سلول‌های زندهٔ میکروبی وجود دارد و مقیاس مناسبی برای فعالیت میکروبی در خاک محسوب می‌شود (Dick, 1994). اوره‌آز با هیدرولیز اوره، آمونیاک تولید می‌کند و منشأ آن میکروبی است که به تجزیه مقاوم است و به همین علت در سلول‌های آزاد انباشته می‌شود (Zantua, and Bremner, 1977). پژوهش‌های پیشین نشان داده است که افزایش کلنیزاسیون میکوریزی می‌تواند سبب افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شود، در نتیجه جذب عناصر توسط گیاه افزایش می‌یابد (Guo *et al*., 2012)؛ بنابراین کلنیزاسیون میکوریزی، استقرار و حفظ پوشش گیاهی به‌خصوص در وضعیت نامساعد مانند خاک‌های مناطق خشک و با حاصلخیزی کم را بهبود می‌بخشد (Alikhani and Gourchiani, 2012).

عوامل مختلفی بر توسعه و عملکرد قارچ‌های میکوریزی در اکوسیستم‌های طبیعی اثر می‌گذارند که تغییرات فصلی از آن جمله‌اند. پژوهش‌های برخی محققان نشان داده است که تغییر فصل می‌تواند بر فعالیت قارچ‌های میکوریزی اثرگذار باشد (Huang *et al*., 2009; Merryweather *et al*., 1998; Redecker *et al*., 2003)، اگرچه برخی از این تحقیقات موفق به یافتن الگویی فصلی برای فعالیت قارچ‌های میکوریزی نشده‌اند (Moradi *et al*., 2014). براساس یافته‌های پژوهشگران، الگوهای فصلی و زمانی توسعهٔ قارچ‌های میکوریزی ممکن است به عواملی چون عوامل خاکی (Davis *et al*., 1983; Sanders, 1990) یا تغییرات سطح مواد غذایی گیاه (Juniper and Abbott, 2006; Mullen and Schmidt, 1993) وابسته باشد.

با توجه به اثرهای مفید این همزیستی بر رشد، تغذیه و اکولوژی گیاه؛ و تأثیر نبود این همزیستی در اختلال اکوسیستم‌ها، و نظر به کاربرد این قارچ‌ها در احیای رویشگاه‌های تخریب‌یافته و مدیریت پایدار برنامه‌های نهالکاری، بررسی وضعیت و فراوانی قارچ های میکوریزی همزیست با گونه‌های گیاهی به‌ویژه در جنگل‌های زاگرس ضرورت می‌یابد. این موارد اهمیت این پژوهش را خاطرنشان می‌سازد.

در ایران تحقیقات اندکی در زمینهٔ شناسایی قارچ‌های میکوریزی همزیست با گونه‌های درختی و درختچه‌ای نظیر ملج، افرا، سرخدار (Korori *et al*., 2003) کیکم و

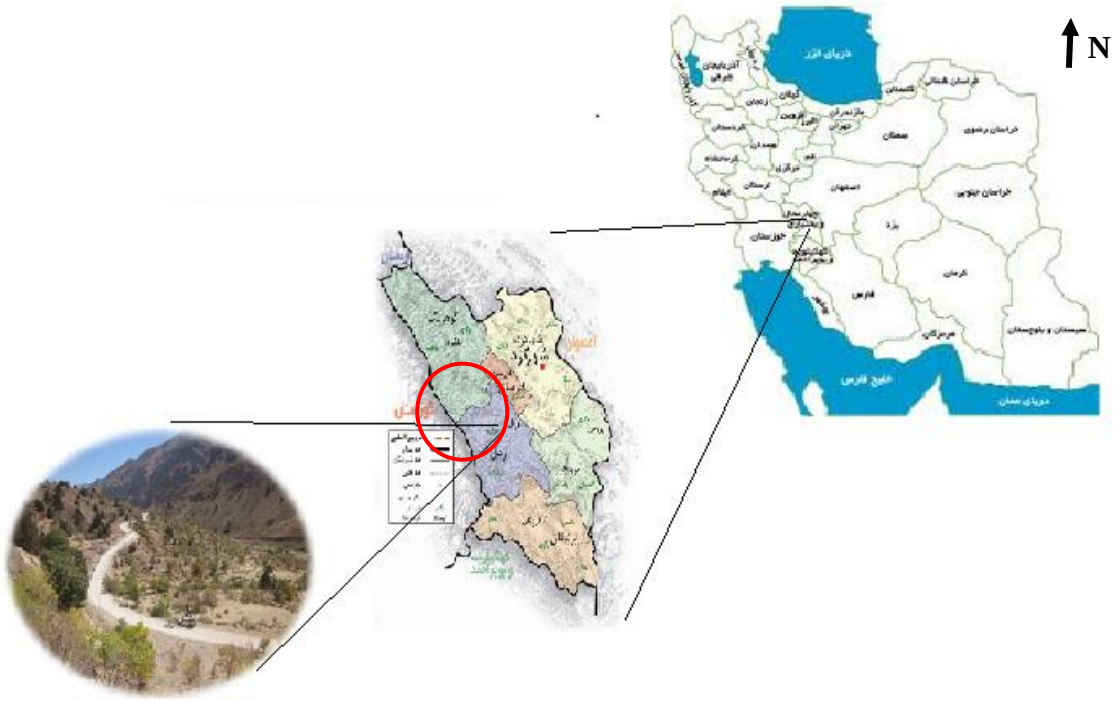
1. Arbuscular Mycorrhiza Fungi

گلابی وحشی (Feyzi Kamareh *et al*., 2011) انجام گرفته، اما دربارهٔ شناسایی قارچهای میکوریز همزیست با محلب تاکنون گزارشی ارائه نشده است، بنابراین هدف این پژوهش، شناسایی قارچهای همزیست با گونهٔ محلب و ارزیابی این همزیستی و بررسی فعالیت آنزیمها و عملکرد قارچ میکوریزی در محیط ریزوسفر است. نتایج این پژوهش، در زمینهٔ تولید نهال میکوریزی این گونه مؤثر خواهد بود.

مواد و روشها

منطقهٔ پژوهش

این پژوهش در رویشگاهی در چهارطاق واقع در استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت. این منطقه با عرض جغرافیایی ″۲۹ ′۴۹ °۳۱ شمالی و طول جغرافیایی ″۳۳ ′۵۱ °۵۰ شرقی و ارتفاع ۲۴۰۰ متر از سطح دریا در شهرستان اردل و در مجاورت روستای چهارطاق در ۱۰۰ کیلومتری جنوب شرقی مرکز استان قرار گرفته است و بیش از ۳۰ سال از قرق آن توسط ادارهٔ کل منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری میگذرد. میانگین بارندگی سالیانهٔ منطقه، ۵۳۰/۱۵ میلیمتر، و کمینه و بیشینهٔ دمای مطلق آن، بهترتیب ۱۹/۵- و ۳۵ درجهٔ سلسیوس است. دورهٔ خشکی در منطقه از اوایل خرداد تا اواسط مهر است.



شکل ۱. موقعیت منطقهٔ تحقیق در چهارطاق اردل، استان چهارمحال و بختیاری

شیوه اجرای پژوهش

- نمونهبرداری از خاک و ریشه

نمونههای خاک و ریشه در فصلهای بهار و پاییز سال ۱۳۹۲ جمعآوری شد. برای این منظور، پنج پایه از درختان محلب که از نظر شادابی در وضعیت مناسبی قرار داشتند، بهطور کاملاً تصادفی انتخاب

شدند. نمونه‌های خاک ریزوسفر پس از کنار زدن لاشبرگ‌ها و لایهٔ آلی، از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری هر درخت برای بررسی قارچ‌های میکوریزی و سنجش فعالیت آنزیم‌های خاک جمع‌آوری شد. همچنین از ریشه‌های مویین (کمتر از ۲ میلی‌متر) محلب به‌منظور بررسی درصد کلنیزاسیون میکوریزی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در شرایط سرد و در داخل یخدان به آزمایشگاه منتقل شدند. شایان ذکر است که تراکم محلب در رویشگاه ذکرشده حدود ۱۵-۱۰ پایه در هکتار است.

- سنجش خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

نمونه‌های خاک در آزمایشگاه پس از گذراندن از الک دو میلی‌متری به سه بخش تقسیم شدند. بخش اول برای اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی در دمای اتاق، بخش دوم برای جداسازی و شمارش قارچ‌های میکوریز آربسکولار در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد و بخش سوم به‌منظور سنجش آنزیم‌های خاک در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. سپس برای هر نمونهٔ خاک، pH به روش آب مقطر (آب: خاک، ۲/۵ :۱)، بافت خاک به روش هیدرومتری، مقدار فسفر قابل جذب به روش اولسن، مادهٔ آلی به روش والکلی‌بلاک ، مقدار نیتروژن کل به روش کجلدال و پتاسیم قابل تبادل از روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم یک مولار سنجش شد (Bartels, 1996).

- جداسازی، شمارش و شناسایی قارچ‌های میکوریزی

از هر نمونه خاک سه تکرار ۱۰ گرمی برای شمارش اسپورهای قارچی جدا شد. برای جداسازی اسپورها از روش الک مرطوب و سانتریفوژ کردن (Gerdemann and Nicolson, 1968) استفاده شد .مایع رویی حاصل از سانتریفوژ که حاوی اسپورها بود، روی یک کاغذ صافی شطرنجی جمع‌آوری شده و در زیر بینوکولر تعداد اسپور هر گونه قارچ آربسکولار شمارش شد. برای شناسایی، براساس دستورالعمل (Schenck and Perez, 1990)، اسلاید اسپورها با پلی‌وینیل الکل (PVLG) و پلی‌وینیل الکل با ملتزر (PVLG_Meltzer) تهیه شد. اساس شناسایی قارچ‌های میکوریزی در این روش‌ها، خصوصیات مورفولوژیکی مثل وجود یا نبود اسپوروکارپ و نیز ابعاد، رنگ، شکل، طرح روی اسپور و تعداد لایه‌های دیوارهٔ اسپور است. در این پژوهش از میکروسکوپ Olympus مدل CH2 و بزرگنمایی x ۱۴۰۰ برای مشاهده و شناسایی اسپورهای قارچی استفاده شد.

- رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها

پس از انتقال ریشه‌ها به آزمایشگاه، ریشه‌ها در زیر آب جاری شسته شده و سپس در ظروف دردار و در محلول فرمالین، اسیداستیک و الکل (FAA) به نسبت حجمی ۹۰:۵:۵ نگهداری شدند. برای رنگ‌آمیزی، ریشه‌هایی که بهترین شرایط را داشتند با آب مقطر شسته شدند و براساس روش فیلیپ و هیمن (Philips and Hayman, 1970) و با استفاده از محلول تریپان بلو ۰۵/. درصد رنگ‌آمیزی انجام گرفت. سپس ریشه‌ها (حدود ۱۰۰ قطعه) برای بررسی ساختار قارچی و تعیین درصد کلنیزاسیون میکوریزی در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰، ۴۰ و ۱۰۰ مشاهده شد. درصد همزیستی ریشه با استفاده از روش تقاطع شبکه (Brundrett *et al.*, 1996) محاسبه شد.

- سنجش آنزیم‌های خاک

با استفاده از واکنش آنزیم/ سوبسترا و به‌دست آمدن محصول و سنجش آنها با اسپکتروفتومتر مدل Jenway6105، فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی برحسب میکروگرم پارانیترو فنیل فسفات (µg p-nitrophenol g-1) در گرم خاک (Ohlinger, 1996)، فعالیت دهیدروژناز برحسب میکروگرم تری فنیل فورمازان در گرم خاک µg TPF g-1 h و اوره‌آز برحسب میکرو گرم ازت در گرم خاک µg N/g.dm.2h (Kandeler, 2007) محاسبه شد.

روش تحلیل

برای تجزیه‌های آماری پس از کسب اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون، برای مقایسهٔ فاکتورهای اندازه‌گیری‌شده در دو فصل از آزمون *t* مستقل استفاده شد. همچنین با استفاده از آزمون همبستگی پیرسون، ارتباط بین فاکتورهای میکوریزی با آنزیم‌ها خاک بررسی شد.

نتایج

- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

نتایج نشان داد که خاک رویشگاه محلب دارای کلاس بافت سیلت- رسی و pH قلیایی است. همچنین نتایج سنجش برخی از عناصر مهم خاک در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محلب در رویشگاه چهارطاق اردل

ویژگی	بافت	pH	مادهٔ آلی (درصد)	فسفر قابل جذب (mg/kg)	نیتروژن کل (درصد)	پتاسیم (mg/kg)
	سیلت- رسی	۸/۲۲	۲/۳۳	۱۱/۲۷	./۲۵	۴۵۲/۶۱

- شناسایی قارچ‌های میکوریزی همزیست با محلب

در این پژوهش شش گونه قارچ میکوریز آربسکولار *Claroideoglomus*، *Funneliformis geosporum claroideum*، *Rhizophagus clarus*، *Rhizophagus aggregatum*، *Rhizophagus fasciculatus* و *Septoglomu constrictum* از چهار جنس *Claroideoglomus*، *Funneliformis*، *Rhizophagus* و *Septoglomus* به عنوان گونه‌های همزیست با محلب در رویشگاه چهارطاق اردل معرفی شدند (شکل۲) که جنس *Rhizophagus* با حدود ۵۵ درصد تراکم، جنس غالب همزیست با این گونهٔ گیاهی به‌شمار می‌رود (شکل۳). براساس این شکل گونه‌های *Rhizophagus aggregatum* و *Septoglomu constrictum* به‌ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را در ریزوسفر محلب به خود اختصاص داده‌اند.

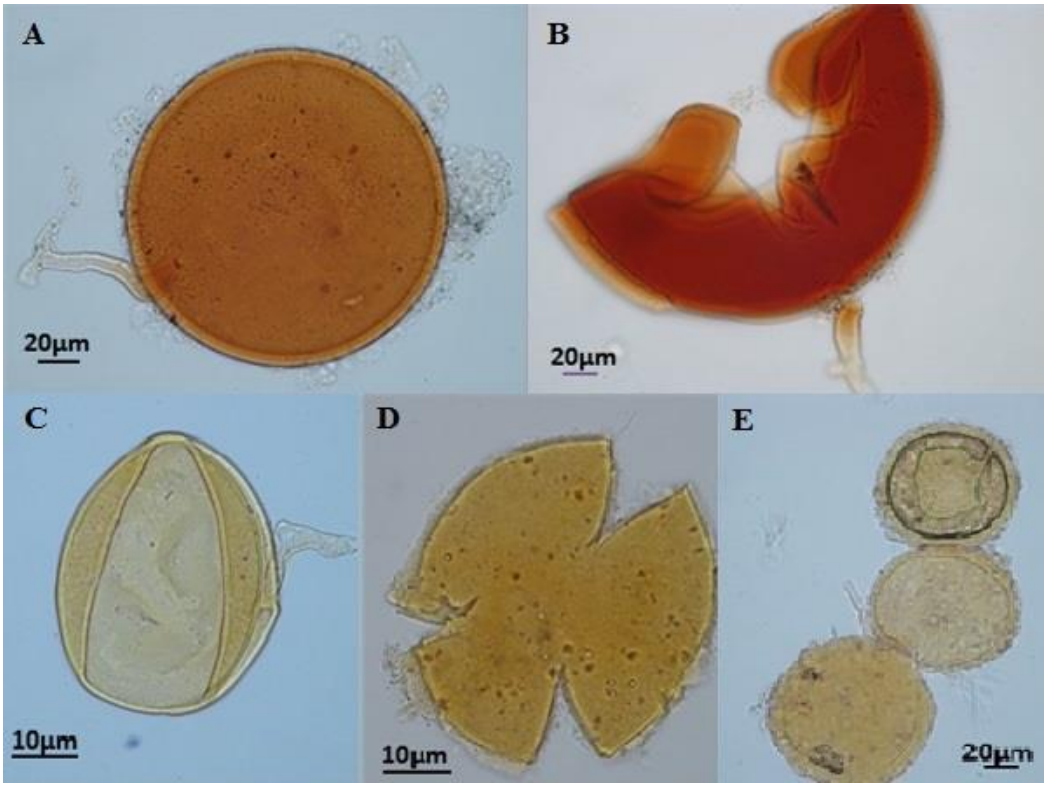
- تغییرات درصد کلنیزاسیون و تراکم اسپور در دو فصل بهار و پاییز

ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شدهٔ محلب در هر دو فصل بهار و پاییز دارای اندام‌های قارچ به‌صورت آربسکول، وزیکول و هیف‌های درون‌سلولی و بین‌سلولی بودند. این شرایط که روی همهٔ پایه‌ها وجود داشت نشان‌داد که گونهٔ محلب دارای همزیستی میکوریزی است.

با محاسبهٔ درصد کلنیزاسیون در ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شده مشخص شد که قارچ توانسته است بیشترین همزیستی را با گیاه برقرار کند. این درصد در فصل بهار ۷۰/۲۵ و در فصل پاییز ۷۶ بود. نتایج آزمون‌های آماری نشان داد که بین کلنیزاسیون ریشه در دو فصل اختلاف معنی‌دار وجود ندارد (شکل۴). نتایج آزمون‌های آماری برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین تراکم گونه‌های قارچی طی دو فصل، تفاوت معنی‌داری را بین تغییرات تعداد اسپورهای قارچی نشان نداد. در مجموع میانگین تعداد اسپور در گرم خاک ریزوسفر محلب در بهار و پاییز به‌ترتیب ۱۲۲ و ۱۰۷ عدد بود (جدول ۲).

- سنجش آنزیم‌های خاک در دو فصل بهار و پاییز

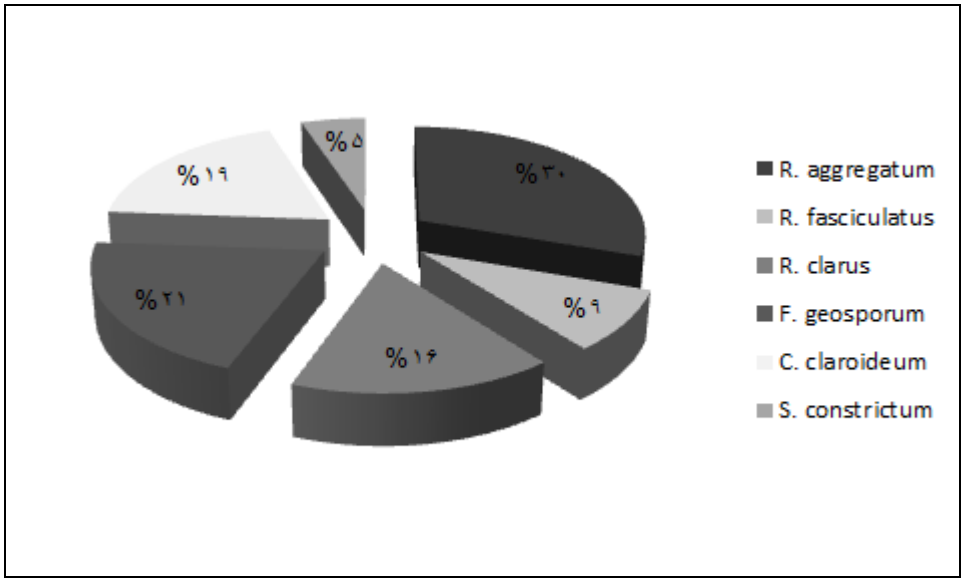
براساس محاسبات آماری مشاهده شد که بین تغییرات فعالیت اسید فسفاتاز، دهیدروژناز و اوره‌آز در دو فصل بهار و پاییز اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد وجود دارد، اما بین فعالیت آلکالین فسفاتاز طی دو فصل تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۳).



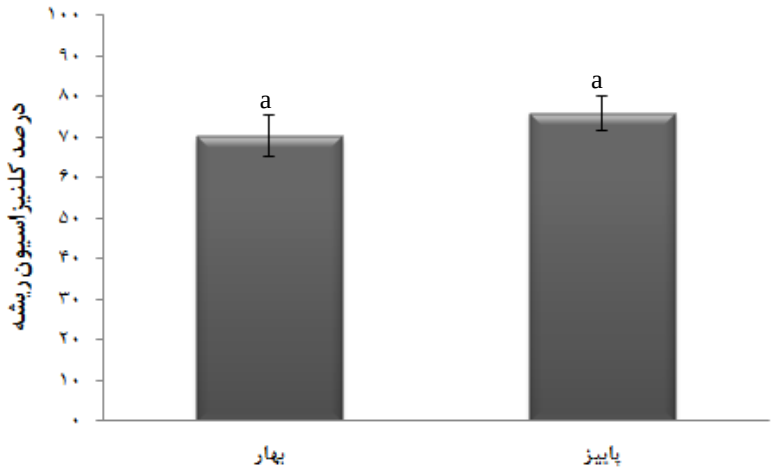
شکل ۲- گونه‌های قارچهای میکوریز آربسکولار همزیست با محلب

(A) *Funneliformis geosporum*، (B) *Claroideoglomus claroideum*، (C) *Rhizophagus clarus*،

(D) *Rhizophagus aggregatum*، (E) *Septoglomus constrictum* ، (F) *Rhizophagus fasciculatus*



شکل ۳- درصد حضور گونه‌های مختلف قارچ میکوریز آربسکولار در گرم خاک در ریزوسفر محلب



شکل ۴- تغییرات فصلی کلنیزاسیون میکوریزی در ریشهٔ محلب

جدول ۲- میانگین تعداد اسپور (mean± SE) در یک گرم خاک ریزوسفر محلب در دو فصل بهار و پاییز

قارچهای میکوریزی	بهار	پاییز	سطح معنی‌داری
R. aggregatum	۳۶/۷۳±۱/۱	۳۳/۱±۳/۸	./۴۴ns
R. fasciculatus	۸/۹۴±۰/۲	۱۱/۸۲±۱/۴	./۰۹ns
R. clarus	۱۸/۰۵±۱/۲	۱۹/۴۸±۵	./۷۶ns
F. geosporum	۲۷/۸۵±۴/۹	۱۹/۴۳±۲/۵	./۱۴ns
C. claroideum	۲۳/۲±۲/۶	۱۹/۶۴±۲/۸	./۳۸ns
S. constrictum	۷/۴۹±۱/۵	۴/۴±۰/۹	./۰۹ns
تعداد کل	۱۲۲/۲۶±۸/۹	۱۰۷/۸۷±۷/۸	./۲۶ns

ns: اختلاف معنی‌دار نیست.

جدول ۳- سنجش آنزیم‌های خاک (mean± SE) در دو فصل بهار و پاییز

فصل	بهار	پاییز	سطح معنی‌داری
اسید فسفاتاز (ρNP)	۱۸۵/۰۷۵±۱۳/۵۹	۱۰۹/۹۴۰±۱۲/۰۱	./۰۱۵*
آلکالین فسفاتاز (ρNP)	۲۷۳/۹۶±۲۰/۱۵	۲۸۳/۵۶±۴۶/۳	./۸۶۷ns
دهیدروژناز (µg TPF g-1 h)	۹۹/۹۹±۸/۶۸	۵۱/۰۵±۷/۸۲	./۰۱۴*
اوره‌آز (µ g N/g.dm.2h)	۷۹/۳۹±۵/۶	۴۴/۳۸±۵/۳۵	./۰۱*

ns: اختلاف معنی‌دار نیست، *معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد.

- بررسی ارتباط قارچهای میکوریزی با آنزیم‌های خاک

نتایج آزمون پیرسون نشان داد که در فصل بهار بین تغییرات کلنیزاسیون ریشه با آنزیم‌های مورد بررسی، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴)، اما در فصل پاییز هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد (جدول ۵).

جدول ۴- همبستگی بین قارچهای میکوریزی و آنزیمهای ریزوسفر محلب در فصل بهار

فاکتور	اسید فسفاتاز	آلکالین فسفاتاز	دهیدروژناز	اورهآز	تراکم اسپور
کلنیزاسیون	۹۱۰/.*	۹۰۲/.*	۹۹۶/.***	۹۲۴/.*	۷۲۱/.ns
تراکم اسپور	۱۲۶/.-ns	۰۵۷/. ns	۲۲۴/.ns	۲۳۶/.- ns	-

ns: اختلاف معنیدار نیست، *معنیدار در سطح احتمال ۹۵ درصد، *** معنیدار در سطح احتمال ۹۹ درصد.

جدول ۵- همبستگی بین قارچهای میکوریزی و آنزیمهای ریزوسفر محلب در فصل پاییز

فاکتور	اسید فسفاتاز	آلکالین فسفاتاز	دهیدروژناز	اورهآز	تراکم اسپور
کلنیزاسیون	۶۷/.-ns	۷۸۸/.-ns	۰۰۸/.ns	۶۴۱/.-ns	۳۵۴/.ns
تراکم اسپور	۰۱۱/.ns	۳۹۴/.-ns	۱۷۳/.-ns	۰۰۷/. ns	-

ns: اختلاف معنیدار نیست

بحث

- شناسایی قارچهای میکوریزی همزیست با محلب

در این پژوهش که بهمنظور بررسی وضعیت میکوریزایی گونهٔ محلب در رویشگاه چهارطاق اردل استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت، شش گونه قارچ میکوریز آربسکولار از چهار جنس *Funneliformis*، *Claroideoglomus*، *Rhizophagus* و *Septoglomus* بهعنوان گونههای همزیست با محلب معرفی شدند که جنس *Rhizophagus*، جنس غالب همزیست با این گونهٔ گیاهی بهشمار میرود. همچنین نتایج نشان داد که گونههای *Rhizophagus aggregatum* و *Septoglomus constrictum* بهترتیب بیشترین و کمترین درصد حضور را در ریزوسفر محلب به خود اختصاص دادهاند. تحقیقات حاکی از آن است که در شرایط خاص یا در فصلهای خاصی از سال، بعضی از گونههای قارچ آربسکولار اسپورهای بیشتری تولید میکنند و بر این اساس ممکن است همزیستهای غالب ریشه محسوب شوند، درحالی که تحت شرایط دیگر، ممکن است اصلاً اسپورزایی نکنند (Redecker *et al*., 2003).

- تغییرات درصد کلنیزاسیون و تراکم اسپور در دو فصل بهار و پاییز

نتایج شمارش اسپور و آزمایشهای مربوط به کلنیزاسیون، تفاوت معنیداری را بین تغییرات آنها طی دو فصل نشان نداد که با یافتههای Moradi *et al*., (2014) مطابقت داشت. با توجه به اینکه میزان برقراری همزیستی قارچ با گیاه میتواند با تغییر فصل تغییر یابد، بهنظر میرسد نتیجهٔ این پژوهش، حاکی از تأثیر نداشتن خشکی حاکم بر منطقه بهعنوان یکی از عوامل تنش باشد. عوامل مختلفی مانند دما، نور، پویایی گونههای گیاهی، بارندگی، حاصلخیزی خاک، ترشحات ریشه و رقابت با سایر میکروارگانیسمها و همچنین رابطهٔ متقابل با آنها میتوانند چرخه زندگی قارچها را تحت تأثیر قرار دهند، بنابراین تعیین الگوی توزیع و پراکنش قارچهای میکوریز آربسکولار بسیار دشوار است (Feyzi Kamareh *et al*., 2011). در پژوهش حاضر، فراوانی اسپورهای میکوریزی و درصد چشمگیر کلنیزاسیون ریشه نشان میدهد که قارچ توانسته بهترین همزیستی را با گیاه برقرار کند. یافتههای برخی محققان حاکی از آن است که نهالکاری در جنگل با

گونه‌هایی دارای سطح همزیستی میکوریزی مناسب، می‌تواند بسیار مفیدتر واقع شود (Guo *et al*., 2012; Alikhani and Gourchiani, 2012)، بنابراین با توجه به نتایج حاصل، استفاده از قارچ‌های میکوریزی برای تولید نهال محلب ضروری به‌نظر می‌رسد.

- سنجش آنزیم‌های خاک در دو فصل بهار و پاییز

در تحقیق حاضر، فعالیت اسید فسفاتاز، دهیدروژناز و اوره‌آز در بهار بیشتر از پاییز بود. در واقع در فصل مرطوب و طی فصل رویش، رشد گیاه سریع و فعالیت میکروارگانیسم‌ها زیاد بوده و افزایش فعالیت آنزیم‌ها پاسخی برای افزایش تقاضای مواد غذایی توسط گیاه در فصل رشد است. نتایج مشابهی در پژوهش‌های پیشین برای تغییرات فصلی فعالیت آنزیم‌ها گزارش شده است (Sinsabaugh *et al*., 2008)، اما در خصوص آلکالین فسفاتاز طی دو فصل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که الگوهای فصلی فعالیت آنزیمی در میان آنزیم‌ها، خواص خاک و انواع اکوسیستم‌ها متفاوت است. تحقیقات نشان داده است که در pH های قلیایی، فعالیت آلکالین فسفاتاز بیشتر از اسید فسفاتاز است (Sardans *et al*., 2008). در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که فعالیت آلکالین فسفاتاز در هر دو فصل بیشتر از اسید فسفاتاز است که با توجه به قلیایی بودن خاک منطقه، وابسته بودن فعالیت فسفاتازها به pH خاک را نشان می‌دهد.

- بررسی ارتباط قارچ‌های میکوریزی با آنزیم‌ها

همان‌طور که مشاهده شد، نتایج آزمون همبستگی حاکی از وجود همبستگی مثبت معنی‌داری بین درصد کلنیزاسیون ریشه با فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده بود که نشان می‌دهد قارچ‌های میکوریزی توانسته‌اند در فصل بهار فعالیت آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (Huang *et al*., 2009). این قارچ‌ها می‌توانند از طریق اثرگذاری بر ترشح آنزیم‌ها سبب افزایش حاصلخیزی خاک شوند (Atul-Nayyar *et al*., 2009)، اما نبود همبستگی معنی‌دار بین کلنیزاسیون ریشه و فعالیت آنزیم‌ها در فصل پاییز ممکن است به این دلیل باشد که ترشح آنزیم‌های فوق تنها تحت تأثیر قارچ‌های میکوریزی نیست و ریشهٔ گیاه و سایر میکروارگانیسم‌ها در تولید آنها مؤثرند. همچنین مشاهده شد که بین تولید اسپور و کلنیزاسیون ریشه همبستگی وجود ندارد. این نتیجه ممکن است به‌دلیل شرایط محیطی حاکم بر رویشگاه محلب و توانایی این گونه در تطابق با زیستگاهش باشد. براساس پژوهش‌های پیشین، تولید اسپور همیشه با کلنیزاسیون ریشه همبستگی ندارد و بیشتر به پارامترهای فیزیولوژیک قارچ‌های میکوریز آربسکولار و شرایطی محیطی وابسته است (Merryweather *et al*., 1998).

در این پژوهش با معرفی شش گونه قارچ همزیست با محلب، برای نخستین بار در جهان گامی مؤثر در زمینهٔ احیای این گونهٔ باارزش برداشته شده است. تمامی گونه‌های قارچی شناسایی‌شده در این پژوهش برای میکروفلور زیر جنس Cerasus جدید هستند. علاوه‌بر این، این نخستین گزارش از مطالعهٔ همزیستی درختچهٔ محلب با قارچ‌های میکوریزی است. با توجه به نتایج حاصل که درصد مطلوبی از همزیستی میکوریزایی را نشان می‌دهد استفاده از قارچ‌های آربسکولار برای تولید نهال محلب ضروری به‌نظر می‌رسد. همچنین نتایج پژوهش حاضر تأکید می‌کند که ریزوسفر و سازوکارهای آن در صورت عملکرد درست می‌توانند در استقرار و ماندگاری گیاه مؤثر باشند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند که از مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به‌دلیل فراهم آوردن امکانات انجام پژوهش حاضر و نیز از زحمات جناب آقای محمد نظری در طی مراحل عملیات صحرایی قدردانی کنند.

References

Antonietta Rao, M., Violante, A., & Gianfreda, L. (2000). Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. *Soil Biology and Biochemistry*, *32*: 1007-1014.

Atul-Nayyar, A., Hamel, C., Hanson, K., & Germida, J. (2009). The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza*, *19*: 239-246.

Bartels, J.M. (1996). Methods of soil analysis: chemical methods. part 3. In D. L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston, & M.E. Sumner (Eds.). Madison: Soil Science Society of America.

Brundrett, M., Bougher, N., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*, Monograph 32. Canberra: Australian Center for International Agriculture Research.

Davis, E. A., Young, J. L., & Linderman, R.G. (1983). Soil lime level (pH) and VA-mycorrhiza effects on growth responses of sweetgum seedlings, *Soil Science Society of America Journal*, *47*: 251-256.

Dick, R.P. (1994). Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: Doran, J.W., Coleman, D. C., Bezdicek, D. F., Stewart, B. A. (Eds.), *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison: Soil Science Society of America in a turfgrass chronosequence. *Plant and Soil*

Feyzi kamareh, T., Shirvany A., Matinizadeh, M., Etemad, V., & Khoshnevis, M. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi in endemic and native tree species, wild pear (*Pyrus glabra*) and maple (*Acer cinerascens*). *African Journal of Agricultural Research*, *6*: 4308-4317.

Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1968). Spores of mycorrhizal Endogenic species extracted for soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, *46*: 235-244.

Guo, H., He, X., & Li, Y. (2012). Spatial distribution of arbuscular mycorrhiza and glomalin in the rhizosphere of *Caragana korshinskii* Kom. in the Otindag sandy land, China. *African Journal of Microbiology Research*, *6* (28): 5745-5753.

Huang, H., Zhang, S., Wu, N., Luo, L., & Christie, P. (2009). Influence of *Glomus etunicatum*/*Zea mays* mycorrhiza on atrazine degradation, soil phosphatase and dehydrogenase activities, and soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, *41*: 726-734.

Juniper, S., & Abbott, L.K. (2006). Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, *16*: 371-379.

Korori, S.A.A., Matinizadeh, M., & Teimouri, M. (2003). *Investigation of forest trees symbiosis with microorganisms* (Final report of research project). Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands. (In Persian)

Kandeler, E. (2007). Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. In: Paul, E.A., *Soil Microbiology Ecology and Biochemistry* (pp. 53-80). Oxford: Academic Press.

Khatamsaz, M. (1992). *Flora of Iran* (*Rosaceae*). Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands. (In Persian)

Merryweather, J., & Fitter, A. (1998). The arbuscular mycorrhizal fungi of Hyacinthoides non-scripta: I. Diversity of fungal taxa. *New Phytologist*, *138*:117-129.

Moradi, M., Shirvany, A. Matinizadeh, M. V. Etemad, Naji, H.R. Abdul-Hamid, H. & Sayah, S. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungal symbiosis with *Sorbus torminalis* does not vary with soil nutrients and enzyme activities across different sites, *Biogeosciences and Forestry*, *8*: 308-313.

Mullen, R.B. & Schmidt. S.K. (1993). Mycorrhizal infection, phosphorus uptake and phonology in *Ranunculus adoneus*: Implications for the functioning of mycorrhizae in alpine systems. *Oecologia*, *94*: 229–234.

Ohlinger, R. (1996). Acid and alkaline phosphomonoesterase activity with the substrate p-nitrophenyl phosphate. In: Schinner, F., Kandeler, E., Ohlinger, R., Margesin, R. (Eds), *Methods in soil biology* (pp. 210-214). Berlin: Springer-Verlag.

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

Redecker, D., Hijri, I., & Wiemken, A. (2003). Molecular identification of Arbuscular mycorrhizal fungi in roots: perspective and problems. *Folia geobotanica and phytotaxonomica*, *38*:113-124.

Sanders, I. R. (1990). Seasonal patterns of vesicular-arbuscular mycorrhizal occurrence in grasslands. *Symbiosis*, *9*: 315-320.

Sardans, J., Peñuelas, V., & Ogaya, R. (2008). Drought consequences in the C and N accumulation in a *Quercus ilex* Mediterranean forest. *Forest Science*, *54*: 513-522.

Schenck, N.C., & Perez, Y. (1990). Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi (INVAM. Florida: Synergistic Publication.

Siddiqui, Z. A., Akhtar, M. S., & Futai, K. (2008). *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry* (H. A. Alikhani, & M. Gourchiani, Trans.). Tehran: Academic Center. (In Persian)

Sinsabaugh, R. L., Lauber, C. L., Weintraub, M. N., Ahmed, B., Allison, S. D., Crenshaw, C., Contosta, A. R., Causack, D., Frey, S., Gallo, M. E., Gartner, T. B., Hobbie, S. E., Holland, K., Keeler, B. L., Powers, J. S., Stursova, M., Takacs-Vesbach, C., Wallenstein, M. D., Zak, D. R., & Zeglin, L.H. (2008). Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, *11*: 1252-1264.

Zanganeh, H. (1999). *Report of existence Cerasus mahaleb (L.) Mill in Kermanshah province forests* (Final report of research project). Tehran: Publish of Forests and Rangelands Organization. (In Persian)

Zantua, M.I., & Bremner, J.M. (1977). Stability of urease in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *9*: 1-135.

Iranian Journal of Forest
Vol. 10, No. 1, Spring 2018
pp. 1-12

Seasonal Changes in Abundance of Arbuscular Mycorrhiza Fungi of *Cerasus Mahaleb* (L.) Mill. and Their Correlation with Activity of Some Rhizosphere Enzymes (Case Study: Chahartagh-E-Ardal)

Negin Armand[1], Anoushirvan Shirvany[2*], Mohammad Matinizadeh[3], Mostafa Khoshnevis[4]

[1] Ph. D. Student of Silviculture and Forest ecology, Faculty of Natural Resources, University of Tehran.
[2] Assistant Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran.
[3] Associate Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran.
[4] Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran.

(Received: 22 August 2016; Accepted: 28 December 2016)

Abstract
Mycorrhizal fungi, as a part of soil organisms, are mutualism for plant species that lead to an increase in soil fertility by enzymes secretion itself and stimulating the secretion of plant enzymes. The present study was carried out to investigate the potential and identification of arbuscular mycorrhiza fungi associated with *Cerasus mahaleb* and enzymes activity of acid and alkaline phosphatase, urease and dehydrogenase. For this purpose, roots of five trees of *Cerasus mahaleb* and their rhizosphere were sampled in ChaharTagh-e-Ardal habitat located in ChaharMahal va Bakhtiari Province. Arbuscular mycorrhizal fungi were isolated by wet sieve and identified using morphological characteristics. After soil extraction and carrying out biochemical reactions, soil enzymes activities were measured by spectrophotometer. In this study, six species of arbuscular fungus from four genera of *Funneliformis*, *Claroideoglomus*, *Rhizophagus* and *Septoglomus* were introduced as associated species with mahaleb, three species belonging to the genus *Rhizophagus*. The percentage of root colonization was 70.25% in spring and 76% in autumn. Also, the activities of acid phosphatase, dehydrogenase and urease indicated significant differences among seasons. The results showed that there is a significant positive correlation between percentage of root colonization and enzymes activities that shows influence of mycorrhizal fungi on enzymes activities in spring season. Due to the high percentage of mycorrhizal colonization in *Cerasus mahaleb*, dependence of this species on mycorrhizal symbiosis is essential and should be considered seriously in planting and rehabilitation programs.

Keywords: ChaharMahal va Bakhtiari, colonization, mycorrhiza, season.

*Corresponding author Tel: +989126663150 Email: shirvany@ut.ac.ir