

بررسی قارچ - ریشه های (میکوریز) مرکبات در ایران*

حمید مهراوران - واهه میناسیان^۱

در بررسی خاک اطراف ریشه مرکبات در برخی از استانهای ایران قارچهای متعلق به جنس *Sclerocystis*, *Glomus*, *Gigaspora* بدست آمد. قارچهای میکوریز در بیشتر خاکهای شمال و جنوب از جنس گلوموس و درصد کمی از جنس اسکروسیس تیس بود. جنس جیگاسپورا فقط در مناطق جنوبی کشور یافت شد. نمونه های خاک جمع آوری شده از شمال ایران در پائیز و زمستان غالباً "فاقد اسپور بوده و یا تعداد کمی اسپور داشتند، در حالیکه نمونه های جنوب تغییر محسوسی در فصول مختلف نشان ندادند. نمونه های خاک منطقه شهداد به علت آبیاری زیاد و همچنین وجود قارچ فیتوفترا که باعث پوسیدگی ریشه میگردد حاوی تعداد کمی اسپور بود. دو گونه *Glomus fasciculatus* (Thaxter) Gerd. & Trappe, و *Gigaspora margarita* Becker & Hall را در گلخانه تکثیر کردیم ولی موفق به کشت بقیه گونه ها نشدیم.

مقدمه و بررسی نوشته ها :

قارچهای میکوریز^۲ قارچهای استثنائی و مفیدی هستند که با ریشه بیشتر گیاهان همزیستی نزدیک برقرار نموده و تشکیل قارچ-ریشه یا میکوریز^۳ میدهند. تشکیل قارچ-ریشه ها در مرکبات اولین بار در سال ۱۹۲۲ توسط پیرونل (۱۱) گزارش شد. قارچ ریشه های مرکبات گستردگی وسیعی داشته و از تقریباً "تمام باغات مرکبات بررسی شده در نواحی کالیفرنیا (۱۳، ۱۴، ۱۵) و فلوریدا (۷) و همچنین از کشورهای زلاندنو و

* تاریخ دریافت ۶۲/۴/۲۵، تاریخ پذیرش ۶۲/۸/۲۶

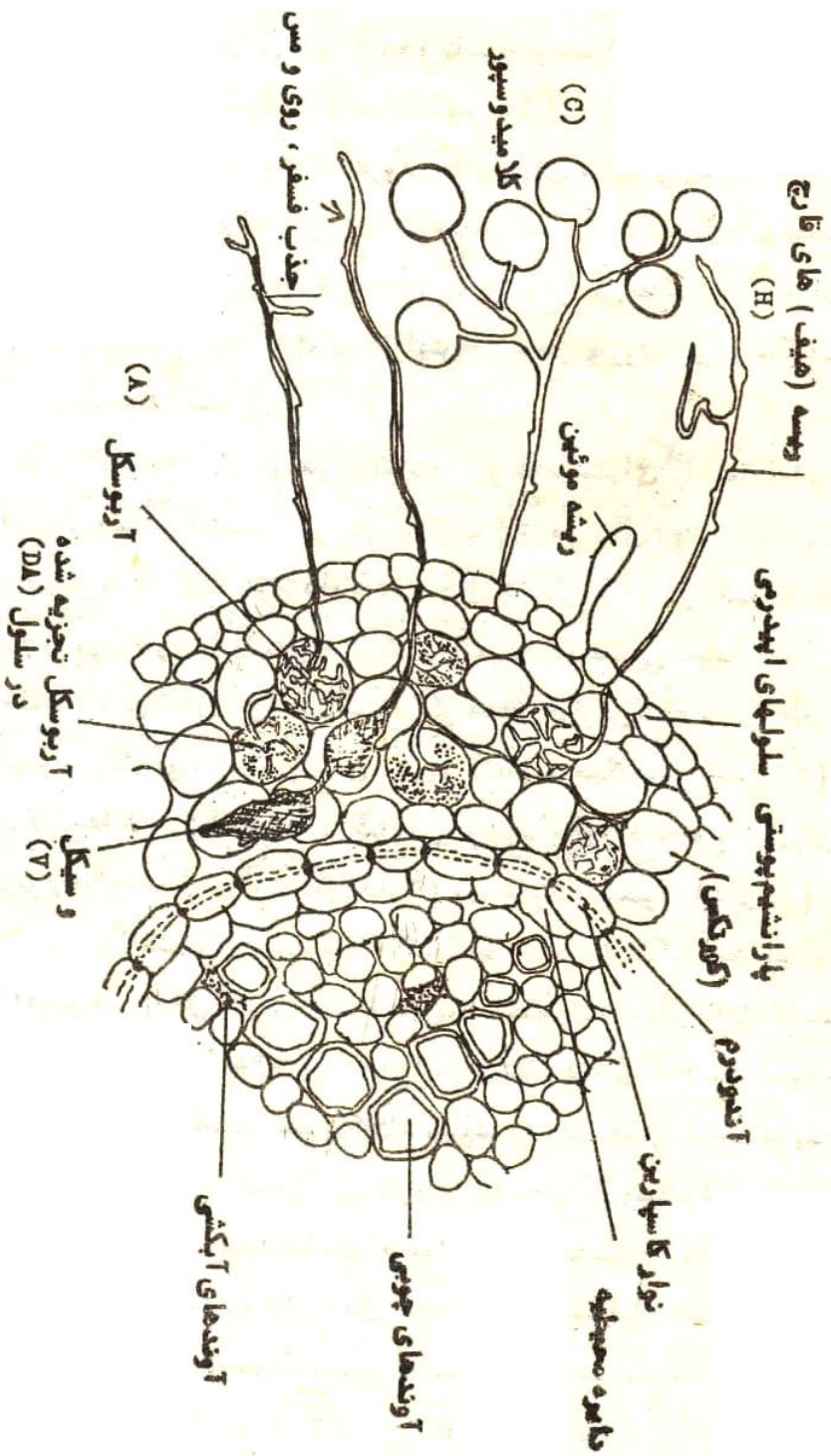
۱- استادیاران دانشکده های کشاورزی ارومیه و شهید چمران اهواز.

۲- Mycorrhizal fungi ۳- Mycorrhizae

استرالیا (۱۰)، روسیه (۱۹) و مصر (۱۶) گزارش شده اند. با وجود قدمت مشاهدات مربوط به تشکیل قارچ-ریشه ها، اثرات مفید آنها در سالهای اخیر در مرکبات باثبات رسیده است. محققین دانشگاه ایلینوی در سال ۱۹۷۲ ثابت نمودند که عدم رشد مرکبات در خزانه های ضد عفونی شده و خاک حرارت دیده باعث تشکیل مواد سمی نبوده بلکه بر اثر انهدام قارچهای میکوریز می باشد (۶). افزودن قارچهای میکوریز به خاک ضد عفونی شده خزانه های مرکبات باعث افزایش توان جذب عناصر شده و رشد نهال را بر حسب شرایط از ۲ تا ۲۶۰٪ افزایش داده است (۵، ۶، ۷، ۱۳، ۱۸). افزایش جذب فسفر عامل اصلی افزایش رشد مرکبات می باشد (۱، ۵، ۶) ولی افزایش جذب مس و روی نیز در مرکبات همزیست با میکوریز^۱ گزارش شده است (۸).

قارچهای تشکیل دهنده میکوریز در مرکبات از زیگومیستهای^۲ راسته^۳ اندو-گونال^۳ و خانواده^۴ اندوگوناسه^۴ هستند، گردمان و تراپه (۳) در سال ۱۹۷۴ قارچهای این خانواده را در ۷ جنس و ۴۴ گونه شرح داده اند. هال و فیش (۴) در کلید ۱۹۷۹ خود قریب به ۸۰ گونه از این قارچها را همراه با کلید کامپیوتری معرفی نموده اند. تعداد گونه های شناخته شده در حال افزایش است. گونه های گزارش شده در رابطه با مرکبات شامل ۷ گونه گلموس، یک گونه اسکروسیس تیس و یک گونه جیگاسپورا است (۹). قارچ - ریشه ای که این قارچها با مرکبات و دیگر گیاهان بوجود می آورند از نوع میکوریز داخلی است که میکوریز VA (و سیکل و آربوسکل دار^۵) نیز نامیده میشود (شکل ۱). ریشه قارچ در داخل بافت پارانشیم پوست ریشه غالباً "بین سلولها تشکیل اندامهای متورم بنام و سیکل داده و در داخل سلولهای بافت مزبور تشکیل اندامهای نایژه مانند بنام آربوسکل میدهد، از طرف دیگر ریشه قارچ خارج از ریشه در داخل خاک رشد نموده و بمانند ریشه های موئین، که در مرکبات بسیار کوتاه میباشند، در جذب مواد به ریشه کمک میکند. مواد جذب شده بوسیله ریشه این قارچها بداخل آربوسکلهای داخل سلولهای ریشه راه یافته و جذب گیاه میشود، اسپورهای این قارچها نیز در داخل خاک بصورت منفرد یا مجتمع، بصورت آزاد یا در داخل اسپور و کارپ^۷ تشکیل میشوند. این

- | | |
|--|------------------------|
| Zygomycetes, -۲ | Mycorrhizal citrus, -۱ |
| Endogonaceae, -۴ | Endogonales, -۳ |
| Vesicular-arbuscular mycorrhizae (=VA mycorrhizae), -۵ | |
| Sporocarp -۷ | Mycelium -۶ |



شکل ۱- مقطع عرضی ریشه مرکبات دارای قارچ ریشه داخلی (میکوریز VA) برای نشان دادن اندامهای مختلف قارچ در داخل سلولهای پارانشیم پوستی (کورنگس) ریشه و خارج ریشه .

Fig. 1. Schematic diagram of endomycorrhizal citrus root. Note the hyphae (H), the arbuscules (A), digestion of arbuscules by plant (DA), Chlamydospores (C), and vesicles (V) of the fungus.

قارچها همزیست اجباری میباشند بدین معنی که پرورش آنها در محیط های کشت امکان پذیر نیست و تنها در ارتباط با ریشه گیاهان رشد و تکثیر مییابند. عوامل گوناگون در تشکیل این قارچها و فراوانی اسپوره های آنها در خاک دخالت دارند (۱۷). مهمترین این عوامل عبارتند از: تابش نور به برگها که هرچه بیشتر باشد قارچ - ریشه بیشتری تشکیل میشود، حاصلخیزی خاک بخصوص میزان فسفر خاک که زیاد بودن آن باعث تقلیل تشکیل قارچ - ریشه و یا حتی انهدام آنها میشود. قارچ - ریشه هادر صورتیکه ریشه گیاه برای مدت طولانی در آب باشد نیز منهدم میشوند. عوامل دیگر از قبیل حرارت، اسیدیته خاک و بافت و ساختمان آن نیز ظاهراً "هم درمیزان رشد و هم در تعیین گونه قارچی که رشد خواهد کرد دخالت دارند (۱۷).

مرکبات در خاکهایی که فسفر بسیار کمی دارند مانند خاکهای برزیل رشد بسیار خوبی دارد و کمبود فسفر در مرکبات بندرت گزارش شده است. در ایران و بسیاری از نقاط دیگر جهان همه ساله مقادیر قابل توجهی کودهای فسفره بدون توجه به درجه ضرورت و اثرات جنسی آن بر چگونگی جذب عناصر دیگر به مرکبات داده میشود. آنچه مسلم است این است که افزودن کودهای فسفره به خاک باعث تقلیل یا حتی انهدام قارچ - ریشه ها میگردد. نظر باینکه قارچ - ریشه ها در جذب عناصر کم تحرک دیگر مانند مس و روی نیز کمک میکنند، انهدام آنها بعلت افزایش فسفر میتواند باعث تقلیل جذب عناصر اخیر گردد.

چون تا کنون در ایران هیچگونه مطالعه ای در زمینه قارچ - ریشه های داخلی مرکبات انجام نشده است، این بررسی بمنظور تعیین وجود و فراوانی انواع این قارچها در خاکهای مناطق کشت مرکبات بعمل آمد.

روش بررسی:

نمونه برداری از خاک و ریشه درختان و نهالهای مرکبات از مناطق مختلف کشور بشرح جدول (۱) و تا عمق حداکثر ۳۰ سانتیمتر در اطراف طوقه انجام گرفت. برای جدا سازی اسپوره های قارچ از خاک از روش گردمان و نیکولسن (۲) استفاده شد. حدود ۲۰۰ سانتی متر مکعب خاک را در لگنی ریخته و پس از افزودن حدود ۵ - ۳ لیتر آب و بهم زدن آنرا از الک ۵۰۰ میکرونی عبور داده و در داخل لگن دیگری ریختیم پس از حدود یک دقیقه که خاک ته نشین شد آب روی آنرا از الک ۳۸ میکرونی عبور داده و ذرات معلق و اسپوره های بزرگتر از این اندازه را جمع آوری کردیم. سپس مواد روی

جدول ۱ - پراکندگی قارچ - ریشه های مرکبات در نقاط مختلف ایران

Table 1. Frequency of occurrence of mycorrhizal fungi in the soil samples from some citrus orchards in Iran

فارج - ریشه Mycorrhizal fungi	Sampling locations												جمع	
	جنوب شرقی Southeast					جنوب غربی Southwest				شمال North				
	جیرفت Jiroft	بندر عباس Bandar Abbas	بم Bam	شهداد Shahdad	ایران شهر Iran shahr	اهواز Ahvaz	بهبهان Behbahan	ایذه Izeh	شوشتر Shush-tar	لنگرود Lang-rood	ساری Sari	رامسر Ramsar		تنکابن tonekabon
تعداد کل نمونه های مورد آزمایش Total No. of samples tested	11	8	11	15	2	3	10	4	7	4	11	12	27	125
تعداد نمونه های دارای جنسهای زیر: No. containing:														
<i>Glomus</i> spp. گلو موس	10	8	11	15	2	3	10	4	7	4	7	7	21	109
<i>Gigaspora</i> spp. جیگا سپورا	4	3	3	3	2	1	2	-	-	-	-	-	-	18
<i>Sclerocystis</i> spp. اسکلروسیتیس تنیس	2	2	8	7	2	-	1	1	-	3	-	1	2	29
تعداد نمونه های بدون اسپور No. void of spores	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	5	6	16

الک ۳۸ میکرنی را در پتری ریخته و در زیر بینوکولار اسپورهای قارچ میکوریز را جدا ساختیم . پس از آن اسپورهای گونه های مختلف را تک تک جدا نموده و در داخل لاکتوفنل و در شیشه ساعتی و یا روی لام گذاردیم . در برخی موارد بمنظور هرچه بیشتر خالص کردن اسپورها ، مواد روی الک ۳۸ میکرنی را ابتدا در آب سانتیفریوز نموده (۴۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۵ دقیقه) و سپس در محلول شکر (۴۵۰ گرم در لیتر) بمدت یک دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفریوز نمودیم . محلول شکر حاوی اسپور را روی الک ۳۸ میکرنی برگردانده و زیر آب جاری شستشو دادیم .

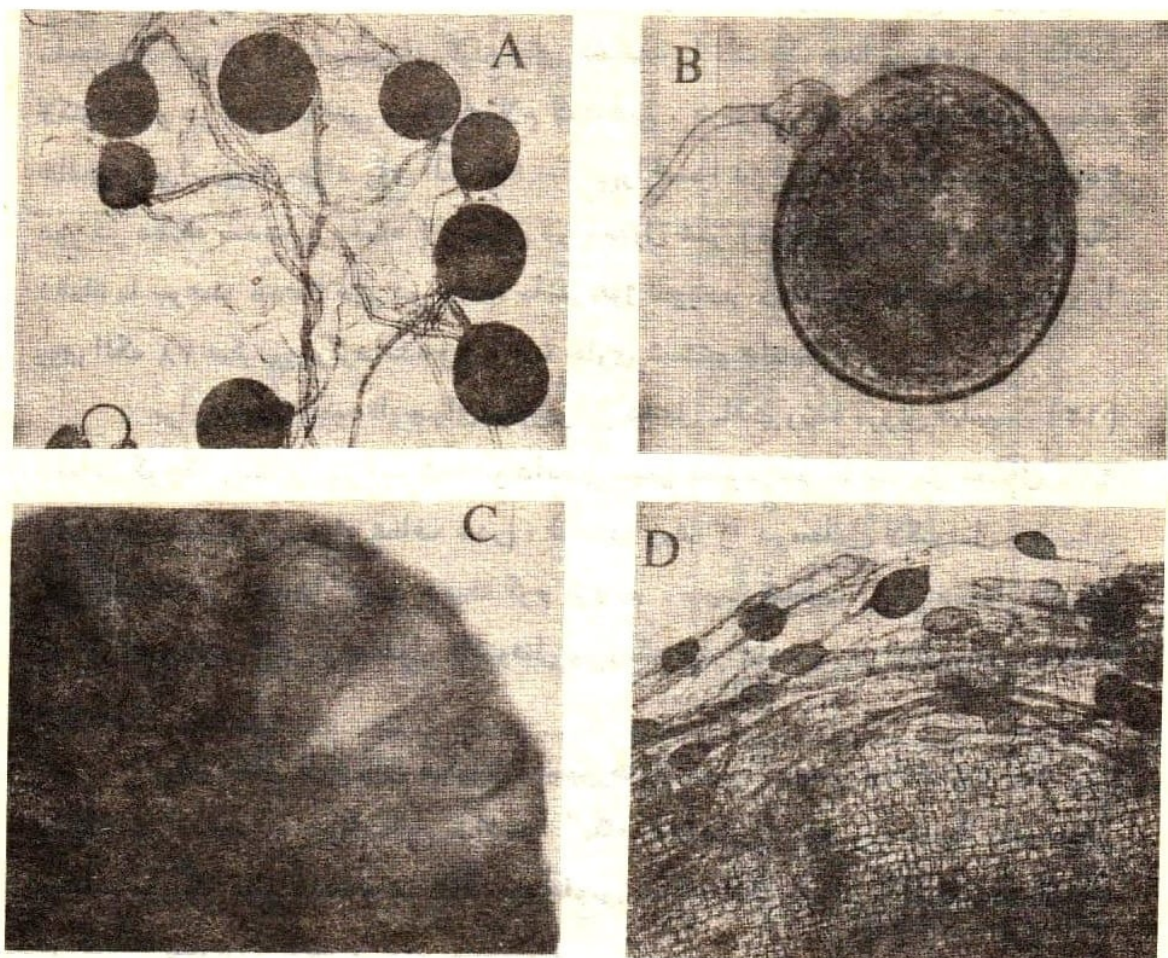
برای تعیین وجود قارچهای میکوریز در داخل بافت ریشه بروش فیلنیپس (۱۲) قطعات کوچک ریشه را در آب شستشو داده و سپس حدود نیم ساعت در محلول ۱۰٪ پتاس جوشاندیم . پس از شفاف شدن ، قطعات ریشه را در محلول لاکتوفنل و تربیان آبی گذاشته و مجدداً "چند دقیقه گرم کردیم . سپس قطعات را از محلول تربیان در آورده و روی لام در محلول لاکتوفنل بی رنگ قرار داده و زیر میکروسکوپ مطالعه نمودیم .

برای تکثیر قارچهای میکوریز ، اسپورهای بدست آمده روی الک ۳۸ میکرنی را تک تک جدا نموده و در آب قرار دادیم . آنگاه تعدادی را روی ریشه نهالهای جوان مرکبات یا پیاز قرار داده و در خاک ضد عفونی شده داخل ظروف یا گلدانهای کوچک در گلخانه پرورش دادیم .

نتیجه و بحث

قارچهای یافت شده در ارتباط با ریشه مرکبات در استانهای مورد مطالعه متعلق به سه جنس گلوموس ، جیگاسپورا و اسکروسیس تیس میباشد (شکل ۲) . قارچهای جنس جیگاسپورا فقط در نمونه های جمع آوری شده از جنوب ایران بدست آمد . دو جنس دیگر ، هم در شمال و هم در جنوب یافت شدند . جدول ۱ پراکندگی جنسها را در مناطق مختلف شمال و جنوب و نیز فراوانی هر جنس را نشان میدهد .

قارچهای جنس گلوموس در ۱۰۹ نمونه و جنس اسکروسیس تیس در ۲۹ نمونه از ۱۲۵ نمونه یافت شد . قارچهای جنس جیگاسپورا در ۱۵ نمونه از ۴۷ نمونه جمع آوری شده جنوب شرقی و در ۳ نمونه از ۲۴ نمونه جنوب غربی کشور دیده شد . پانزده نمونه از



شکل ۲ - عکس میکروسکوپی از اندامهای باردهی و تکثیری گونه های قارچ - ریشه مرکبات

A- کلامیدسپور قارچ *Glomus fasciculatus* (بزرگنمایی ۲۵۰ مرتبه)

B- کلامیدسپور قارچ *Gigaspora margarita* (بزرگنمایی ۲۵۰ مرتبه)

C- برشی از اسپور و کارپ قارچ *Sclerocystis sinuosa* (بزرگنمایی ۲۵۰ مرتبه)

D- تشکیل اندامهای متورم (وسیکل) و میسلیم در پارانشیم پوستی ریشه *Troyer citrange* (بزرگنمایی ۲۵۰ مرتبه)

Fif. 2. Photomicrographs of A) chlamydospores of *Glomus fasciculatus*, B) Chlamydospore of *Gigaspora margarita*, C) section through sporocarp of *Sclerocystis sinuosa*, D) vesicles and mycelium in the root cortex of *Troyer citrange*.

خاکهای شمال که در بهمن ۱۳۵۹ جمع آوری شد فاقد اسپور بوده و یا تعداد کمی اسپور در هر نمونه^۱ ۲۰۰ سانتی متر مکعبی خاک بدست داد. کمبود اسپور در این نمونه ها احتمالاً "مربوط به عدم رشد ریشه گیاه و قارچ در اثر تغییرات فصلی و نقصان درجه حرارت در فصول سرد بوده است. نمونه های شمال مربوط به ماههای مرداد، شهریور و آذر غالباً "جمعیتی به میزان ۴۰ الی ۲۰۰ اسپور و چند نمونه خاک لنگرود و تنکابن تا حدود ۸۰۰ اسپور در نمونه داشتند. در منطقه جنوب شرقی تعداد اسپور در خاک باغهای شهداد بسیار کم بود و حداکثر به ۱۰ اسپور در هر ۲۰۰ سی سی خاک رسید. حداکثر جمعیت و همچنین تنوع گونه ها در دو نمونه خاک از ایران شهر دیده شد. تعداد اسپور در این نمونه ها نیز حدود ۸۰۰ اسپور در هر نمونه بود. تعداد اسپور در مناطق بم و نورماشیر و جیرفت بطور متوسط حدود ۱۰۰ اسپور در هر نمونه بود ولی خاک غالب خزانه ها و برخی از باغات قدیمی مورد بررسی اسپور کمتری داشتند. در منطقه بندرعباس نیز ظاهراً "خاک باغات قدیمی و خزانه اسپور زیادی نداشتند چون حداکثر حدود ۵۰ اسپور در هر نمونه یافت میشد، حال آنکه این تعداد در نمونه های خاک دو باغ جوان در کلات پائین که خاکی شنی و آبی شور دارد به حدود ۵۰۰ عدد در هر نمونه میرسید. در منطقه جنوب غربی خاک باغهای ایزده و بهبهان اسپور زیاد و متنوعی داشته ولی در خاک باغات حوالی اهواز و شوشتر تعداد اسپور کمتری یافت شد. خاکهای این نواحی بطور متوسط حدود ۱۵۰ اسپور در هر نمونه داشتند. رویهمرفته تعداد اسپور در خاکهای جنوب غربی کمتر از جنوب شرقی بدست آمد.

بنا به مطالعات Menge و همکاران (۹) وجود قارچهای فیتوفترا در خاک و انهدام ریشه باعث کاهش تعداد اسپور قارچهای میکوریز میگردد. کمبود تعداد اسپور در خاکهای شهداد و برخی نقاط دیگر در جنوب نیز احتمالاً "بعلت وجود قارچهای فیتوفترا^۱، پی تیوم^۲ و نیز زیادی آب بوده است. قارچهای مذکور از ریشه گیاهان جدا و شناسایی شده اند. از طرف دیگر وفور تعداد اسپور در ایران شهر و برخی نقاط بندرعباس ممکنست به علت بالا بودن درجه حرارت در فصول سرد و رشد مداوم ریشه و قارچ در تمام طول سال باشد.

گونه های مختلف قارچ - ریشه که در این بررسی یافت شده بسیار متنوع بود

۱- *Phytophthora citrophthora*; *P. nicotiana* var. *parasitica*

۲- *Pythium* spp.

ولی کوششهای انجام شده در جهت کشت بسیاری از گونه‌ها در گلخانه بر روی نهالهای جوان مرکبات و یا پیاز (که میزبان خوبی برای بسیاری از گونه‌های قارچهای میکوریز است) در خاک استریل به نتیجه نرسید. این امر احتمالاً "بعلت تعداد کم اسپورهای کشت شده، پائین بودن قوه نامیه و یا مرگ اسپورها بوده است. گونه‌هایی که کشت آنها با موفقیت انجام شد عبارتند از *Gigaspora margarita* که از ایران شهر تهیه شده بود و گونه *Glomus fasciculatus* که از نرماشیر تهیه شده بود. این دو از قارچهای هستند که با سانی با مرکبات همزیستی برقرار میکنند. گونه *Sclerocystis sinuosa* جدا شده از خاکهای خوزستان که به عنوان عامل میکوریز در مرکبات گزارش شده است (۹) در کشت‌های انجام شده رشد نکرد. کشت سایر گونه‌ها و تعیین ارتباطشان با مرکبات و تشخیص آنها ادامه دارد.

تشکر:

این بررسی نتیجه بخشی از کارهای تحقیقاتی "طرح بررسی قارچهای میکوریز در مرکبات ایران" است که نویسندگان در مدت تعطیل آموزشی دانشگاه در مؤسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی و با امکانات آن مؤسسه بانجام رسانده‌اند. بدینوسیله از آن مؤسسه و دانشگاههای ارومیه و شهید چمران سپاسگزاری میشود.

منابع مورد استفاده

1. Gerdemann, J. W. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. Annu. Rev. Phytopathol. 6:397-418.
2. _____, and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46: 235-244.
3. _____, and J. M. Trappe. 1973. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Myrologia emoirs No. 5. 76pp.

4. Hall, J. B., and B. J. Fish. 1979. A key to the Endogonaceae. Trans. Brit. Mycol. Soc. 73. 261-270.
5. Hatttingh, M. J., and J. W. Gerdemann. 1975. Innoculation of Brazilian Sour orange seed with an endomycorrhizal fungus. Phytopathology 65: 1013-1016.
6. Kleinschmidt, G. D., and J. W. Gerdemann. 1972. Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhizae. Phytopathology 62: 1447-1453.
7. Marx, D. H., W. C. Bryan, and W. A. Campbell. 1971. Effect of endomycorrhizae formed by *Endogone mosseae* on growth of citrus. Mycologia 63: 1222-1226.
8. Mehravaran, H. 1977. Mycorrhizal dependence of six citrus cultivars. Ph.D. Thesis, Univ. of Illinois, Urbana Champaign. 68 pp.
9. Menge, J. A., S. Nemec, R. M. Davis, and V. Minassian. 1977. Mycorrhizal fungi associated with citrus and their possible interactions with pathogens. Proc. Int. Soc. Citriculture 3: 872-876.
10. Neill, J. C. 1944. Rhizophagus in citrus. New Zealand J. Sci. Technol. 25: 191-201.

11. Peyronel, B. 1922. Sulla presenza bi micorize nel grano e in altre piante coltivate spontanee. Bull. R. Staz. Path. Veg. 3:43-50.
12. Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55: 158-161.
13. Rayner, M. C. 1933. Mycorrhiza in the genus Citrus. Nature. 131: 339-342.
14. _____ . 1935. Mycorrhizal habit in the genus Citrus. Nature. 136: 516-517.
15. Reed, H. S., and T. fremont. 1935. Factors that influence the formation and development of mycorrhizal associations in citrus roots. Phytopathology 25: 645-647.
16. Sabet, Y. S. 1945. Reaction of citrus mycorrhizae to manurial treatment. Proc. Egyptian Acad. Sci. 1: 21-28.
17. Sanders, F. E., B. Mosse, and P. B. Tinker (eds.) 1975, Endomycorrhizas. Academic Press, London. 626pp.
18. Schenck, N. C. and D. P. H. Tucker. 1974. Endomycorrhizal fungi and the development

- of citrus seedlings in Florida fumigated soils. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99: 284-297.
19. Sudskaya, L. A. 1958. (Materials on the mycorrhiza of citrus plants). Sb. Rabot. Kafedry Bot. Most. Sep. Skokhoz Acad. Im. K. A. Timiryazeva 1: 128-147.

A SURVEY OF CITRUS MYCORRHIZAL FUNGI IN IRAN

H. Mehravaran and V. Minassian

College of Agriculture, Orumieh University,
& College of Agriculture, Shahid Chamran Univ., Ahvaz, Iran

SUMMARY

In a survey of 125 soil samples from citrus orchards in some of the northern and southern provinces of Iran, using the wet sieving technique (2), three genera of mycorrhizal fungi: *Gigaspora*, *Glomus*, and *Sclerocystis* were obtained.

Glomus and *Sclerocystis* were found in soil samples both from the north and the south, whereas the genus *Gigaspora* was found only in samples taken from the south. The species of *Glomus* were the most prevalent (in 109 of 125 soil samples), while those of *Gigaspora* and *Sclerocystis* were observed in a smaller percentage (in 18 of 71 and 29 of 125, respectively) of the soil samples tested.

Soil samples collected from the north during fall and winter contained few or no spores. Whereas there was little seasonal variation in spore numbers of the samples from the south. Soil samples from Shahdad area (southeast) contained few spores. This was attributed to citrus root rot caused by *Phytophthora* species and over irrigation.

So far only two of the species; *Glomus fasciculatus* and *Gigaspora margarita*, collected from southeast, have been cultured in the greenhouse and formed mycorrhizal association with onion and citrus.