بررسی تأثیر تلقیح با قارچ میکوریز بر سطوح فیتوهورمون‌های گیاهی و کیفیت تولید ریز غده در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

خسرو پرویزی [۱]، فرشاد دشتی [۲*]، محمود اثنی‌عشری [۳]، فرهاد رجالی [۴]، مسعود بوجار [۵]

۱،۲ و۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه بوعلی سینا. ۴- استادیار بخش بیولوژی موسسه خاک وآب. ۵- دانشیار گروه علوم زیست‌شناسی دانشگاه تربیت معلم تهران.

* نویسنده مسئول

چکیده

در این پژوهش گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت از دو رقم سیب‌زمینی (رقم‌های آگریا و سانته) در هنگام انتقال به گلخانه با دو گونه قارچ مایکوریزا (*Glumus mosseae* و *G. etunicatum*) به صورت مجزا و در مخلوط با هم در قالب آزمایش فاکتوریل و در چهارتکرار مایه‌زنی شدند. هشت هفته پس از تلقیح درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاهچه‌ها تعیین شد و همچنین از فیتوهورمون‌های داخلی شامل اکسین، سایتوکنین و جیبرلین اندازه گیری به عمل آمد. پس از برداشت ریزغده‌های تولیدی توزین شده عملکرد کل برآورد گردیده و درصد ماده خشک ریزغده نیز تعیین شد. نتایج نشان داد که مایه تلقیح قارچ بر درصد کلونیزاسیون، کیفیت تولید ریزغده و میزان فیتوهورمونهای داخلی(اکسین، سایتوکینین و جیبرلین) در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌دار داشت. اثرات متقابل رقم در ارتباط با عملکرد کل در سطح احتمال ۱ درصد و تولید جیبرلین و درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. با مقایسه میانگین صفات مشخص شدکه تلقیح باگونه *G.etunicatum* و مخلوط دو گونه بر سطوح هر سه مادهٔ تنظیم کننده رشد، همچنین بر شدت کلونیزاسیون ریشه و تعداد ریزغدهٔ تولیدی اثرات مثبت‌تری نسبت به گونه *G. mosseae* داشتند. بیشترین میزان ریزغده در تلقیح با مخلوط دو گونه مایکوریز(متوسط تعداد ۱۳/۸۱ عدد ریزغده و وزن متوسط ۴۰/۴۴ گرم در گیاهچه) حاصل گردید که نسبت به کاربرد دو گونه به تنهایی و تیمار شاهد در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار داشت. با کاربرد جداگانه هر دو گونه قارچ و نیز مخلوط آنها میزان درصد ماده خشک ریزغده افزایش پیدا کرد که تفاوتها با تیمار شاهد در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار شد.

واژه‌های کلیدی: گیاهچه سیب‌زمینی، همزیستی، مایه‌کوبی، فیتوهورمون، عملکرد.

مقدمه

در گیاهان حاصل از کشت بافت معمولا مرحله سازگاری[۱] نیاز به مدیریت خاص داشته و چنانچه با تدابیر کافی انجام نشود ممکن است استقرار گیاهچه‌ها را به تأخیر انداخته و توسعه و نمو آنها را با مشکل مواجه کند و در مواردی حتی منجر به مرگ آنها بشود. اغلب در این مرحله شوک ناشی از انتقال[۲] توقف رشد ایجاد کرده و از کارآیی و راندمان نهایی محصول می‌کاهد. گزارش شده است که در حدود ۱۰ تا ۱۴ درصد از محصولات گل وسبزی که از طریق کشت بافت تولید می‌شوند در مرحله انتقال آسیب دیده و یا به استاندارد تجاری قابل عرضه به بازار نمی رسند. مشکل اساسی بدلیل عدم بازیافت توسعه سیستم ریشه‌ای کارآمد در آنها می‌باشد (کلرک و بروگ، ۱۹۹۲). این مشکل از طریق بکارگیری قارچهای مایکوریزا در گیاهچه های حاصل از کشت بافت در چندین محصول باغی مرتفع شده است (اوسوکاینن و وستبرگ، ۱۹۹۴؛ وستبرگ و استوم، ۱۹۹۴؛ وارما و اسچوپ، ۱۹۹۵ و هبتی و همکاران، ۲۰۰۱). در سیب‌زمینی هرچند پژوهش‌های کمتری در تلقیح مایکوریز بر گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت انجام شده اما نتایج آنها در کارآیی فتوسنتز و توسعه فاکتورهای رشد و عملکرد نهایی مؤثر و مثبت بوده است (دوفی و همکاران، ۱۹۹۹؛ الیزابت و همکاران، ۲۰۰۰ و یااو و همکاران، ۲۰۰۲). تا زمان انجام این پژوهش نگارندگان به یافته‌ای

1 - Acclimation.
2 - Translate shoke.

در ارتباط با اثر کاربرد قارچ مایکوریز بر سطوح هورمونهای درون زاد در سیب‌زمینی و بویژه در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت دسترسی پیدا نکردند. بنابراین لازم است همراه با اندازه گیری راندمان تولید ریز غده و عملکرد نهایی، تغییرات مواد هورمونی گیاهی و چگونگی تأثیر سیستم همزیستی بر این فاکتورها نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روشها

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر کاربرد دو گونه قارچ مایکوریزا *G. mosseae* و G.etunicatum بر سطوح فیتوهورمون‌های داخلی و همچنین عملکرد کمی وکیفی گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت سیب‌زمینی انجام شد. طرح آزمایشی مورد استفاده آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کامل تصادفی بود که دو گونه قارچ مایکوریز به صورت مجزا ودر مخلوط با هم به همراه شاهد در چهار سطح در قالب یک فاکتور و نوع رقم (سانته و آگریا) به عنوان فاکتور دیگر در دو سطح مد نظر قرار گرفت. گیاهچه های انتخابی از دو رقم آگریا و سانته با مایه تلقیح از دو گونه قارچ آربوسکولار مایکوریز(G. mosseae و G. etunicatum) به صورت مجزا و همچنین مخلوط با هم تلقیح شدند. جدایهٔ مایه تلقیح از کلونیزه شدن دو گونه قارچ با ریشه گیاهان سویا و ذرت در گلخانه موسسه تحقیقات آب وخاک تهیه گردید. در هنگام کاشت گیاهچه‌ها، مقدار ۱ گرم از ریشه‌های کلونیزه شده هر گونه قارچ و یا اختلاط آنها به عنوان مایه تلقیح در محل کاشت و در مجاورت ریشه‌ها قرار گرفت. محیط کشت که ترکیبی از پیت و پرلایت (به نسبت ۲:۱) بود بوسیله دستگاه ضدعفونی خاک (با استفاده از بخار آب) ضدعفونی گردید. عملیات داشت و مراقبت از گیاهچه ها در تیمارهای شاهد (بدون استفاده از مایع تلقیح) و تیمارهای تلقیح شده به صورت یکسان انجام شده و تغذیه گیاهچه ها با محلول غذایی کامل فلورال به غلظت ۳ در هزار و به صورت محلول با حجم یکسان (۲۰۰ cc در هر جعبه کاشت) در هر ۱۲ روز صورت پذیرفت. هشت هفته پس از تلقیح گیاهچه‌هایی به صورت تصادفی برداشت شده و جهت ارزیابی شدت کلونیزاسیون ریشه از روش فیلیپس و هیمن (۱۹۷۰) استفاده شد. درصد کلونیزاسیون ریشه ها بر اساس روش بیرمن و لیندرمن (۱۹۸۰) محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری تغییرات سطوح هورمونهای درون‌زاد جیبرلین، اکسین و سایتوکنین در گیاهچه‌ها، پس از جمع‌آوری در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شده و بلافاصله در داخل فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. استخراج وخالص سازی نمونه ها بر اساس روش یوکاتا و همکاران (۱۹۹۴) صورت گرفت. در هنگام برداشت، ریزغده‌های تولیدی توزین و شمارش شده و عملکرد ریزغده در هر گیاهچه مشخص شد. جهت اندازه گیری ماده خشک ریزغده سه نمونه تصادفی از هر تکرار جدا شده، برشهایی به صورت چیپس از آنها تهیه شد ودر آون در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد بمدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. چند نوبت توزین شده پس از رسیدن به وزن ثابت، درصد ماده خشک آنها از تقسیم وزن نهایی بر وزن اولیه و ضرب عدد حاصل در ۱۰۰ تعیین شد.

نتایج وبحث

با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که بیشترین میزان درصدکلونیزاسیون در گیاهچه‌های سیب‌زمینی در تلقیح با مخلوط دو گونهٔ قارچ حاصل شد که نسبت به کاربرد گونه *G. etunicatum* تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ نشان نداد اما با گونه *G.mosseae* تفاوتها در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. با کاربرد قارچ مایکوریز سطوح اُکسین، سایتوکینین و جیبرلین داخلی در گیاهچه ها افزایش معنی‌دار پیدا کرد. بیشترین میزان سایتوکینین داخلی در تیمار تلقیح با مخلوط دو گونه قارچ بدست آمد که با کاربرد جداگانه گونه *G. etunicatum* اختلاف معنی‌دار نداشت اما با تیمار شاهد و نیز گیاهچه‌های تلقیح شده با گونه *G.mosseae* تفاوتها معنی‌دار شد. دو رقم در سطوح اُکسین و سایتوکینین داخلی در تیمارهای شاهد ونیز کاربرد قارچ میکوریز روند تغییرات نسبتاً ثابتی داشتند. مقدار جیبرلین هم با کاربرد قارچ مایکوریز در هر دو رقم افزایش پیدا کرد اما روند تغییرات آن در دو رقم مشابه نبود.

(جدول ۱). تلقیح با قارچ مایکوریز در هر دو رقم سبب افزایش معنی‌دار در وزن متوسط و تعداد ریزغدهٔ تولیدی شد. هرچند پاسخ دو رقم متفاوت بود. در مجموع دو رقم بیشترین تعداد کل ریز غده و وزن متوسط ریزغده در گیاهچه را در تلقیح با مخلوط دو گونه قارچ مایکوریز تولید کردند. با تلقیح گیاهچه‌ها توسط قارچ‌های مایکوریز درصد ماده خشک ریزغده به صورت قابل توجهی افزایش پیدا کرد میزان افزایش ماده خشک ریزغده در هر دو رقم در گیاهچه های تلقیح شده با گونه *G.etunicatum* و مخلوط دو گونه بیشتر از میزان آن در تلقیح با گونه *G.mosseae* بود. هرچند تفاوتها در سطح ۵٪ معنی دار نشد(جدول ۲).

تیمارها		**فیتوهورمون**		
سطوح رقم	**کلونیزاسیون ریشه** (درصد)	**اُکسین** (میکرومول در گرم)	**سایتوکینین** (میکرومول در گرم)	**جیبرلین** (میکرومول در گرم)
آگریا	۳۴/۱۲ a	۳۴/۱۲ a	۵۰/۸۱۳ a	۱۳۸/۱۵۶ a
سانته	۴۰/۸۱a	۴۰/۸۱a	۳۴/۳۵۶ b	۱۱۴/۸۸ b
سطوح مختلف قارچ میکوریز				
شاهد(بدون مایه تلقیح قارچ)	۰/۰۰c	۰/۰۰c	۳۴/۲۶۳c	۹۲/۱۵۰d
تلقیح با میکوریز (گونه *G. mosseae*)	۳۶/۶۲b	۳۶/۶۲b	۴۱/۹۰۰b	۱۱۹/۸۲۵c
تلقیح با میکوریز (گونه *G. etunicatum*)	۵۵/۲۵a	۵۵/۲۵a	۴۶/۴۵۰ab	۱۳۳/۳۳۸b
تلقیح با میکوریز (مخلوط دو گونه)	۵۸/۰۰a	۵۸/۰۰a	۴۷/۷۲۵a	۱۶۰/۷۶۳a
اثرات متقابل رقم و قارچ میکوریز				
آگریا × بدون مایه تلقیح قارچ	۰/۰۰ d	۰/۰۰ d	۳۹/۳۷۵c	۱۰۱/۶۲۵d
آگریا × گونه *G. mosseae*	۳۵/۲۵c	۳۵/۲۵c	۴۸/۲۰۰b	۱۲۴/۳۲۵c
آگریا × گونه *G. etunicatum*	۴۹/۲۵b	۴۹/۲۵b	۵۷/۰۰۰a	۱۴۷/۵۰۰b
آگریا × مخلوط دو گونه	۵۲/۰۰b	۵۲/۰۰b	۵۸/۰۷۵a	۱۷۹/۱۷۵a
سانته × بدون مایه تلقیح قارچ	۰/۰۰d	۰/۰۰d	۲۸/۵۵۰d	۸۲/۶۷۵e
سانته× گونه *G. mosseae*	۳۸/۰۰c	۳۸/۰۰c	۳۵/۶۰۰cd	۱۱۵/۶۲۵c
سانته × گونه *G. etunicatum*	۶۱/۲۵a	۶۱/۲۵a	۳۵/۹۰۰cd	۱۱۹/۱۷۵c
سانته × مخلوط دو گونه	۶۴/۰۰a	۶۴/۰۰a	۳۷/۳۷۵c	۱۴۲/۳۵۰b

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی رقم، قارچ‌های میکوریز و نیز اثرات متقابل آنها بر درصد کلونیزاسیون ریشه و سطوح فیتوهورمون‌ها در گیاهچه‌های سیب‌زمینی.

جدول ۲- مقایسه میانگین های مربوط به اثرات متقابل رقم و کاربرد قارچ میکوریز بر تولید ریزغده و وزن خشک آن در گیاهچه‌های سیب‌زمینی.

ترکیبهای مختلف رقم با سطوح قارچ میکوریز	وزن کل ریزغده در گیاهچه (گرم)	تعداد کل ریزغده در گیاهچه	درصد ماده خشک ریزغده
آگریا × بدون مایه تلقیح قارچ	۱۸/۱۳e	۴/۶۲g	۱۸/۴۹dc
آگریا × تلقیح با میکوریز (*G. mosseae*)	۲۴/۴۵c	۵/۸۲f	۲۰/۰۱ab
آگریا × تلقیح با میکوریز (*G. etunicatum*)	۳۱/۸۰b	۷/۲۰e	۲۰/۴۰a
آگریا × تلقیح با میکوریز (مخلوط دو گونه)	۴۰/۶۶a	۸/۶۰d	۲۰/۳۲a
سانته × بدون مایه تلقیح قارچ	۱۳/۳۲f	۹/۳۲c	۱۷/۳۲d
سانته× تلقیح با میکوریز (*G. mosseae*)	۲۳/۵۲d	۱۵/۶۲b	۱۸/۷۱bc
سانته × تلقیح با میکوریز (*. etunicatum*)	۲۴/۷۳c	۱۵/۳۰b	۱۹/۱۷abc
سانته × تلقیح با میکوریز (مخلوط دو گونه)	۴۰/۲۲a	۱۹/۰۲a	۱۹/۳۵abc

افزایش سنتز فیتوهورمونهای گیاهی در گیاهچه‌های سیب‌زمینی در نتیجه تلقیح با قارچ مایکوریز از دستآورد مهم این تحقیق بود که تا کنون مورد بررسی قرار نگرفته بود. در این پژوهش ثابت شد که استفاده از مخلوط دو نوع قارچ در تحریک سنتز مواد تنظیم کننده رشد داخلی بسیار موثرتر از کاربرد جداگانه دو گونه قارچ می‌باشد. متعاقب این تحریک در سنتز هورمونهای داخلی، عملکرد و ظرفیت تولید ریز غده در تیمارهای مایکوریزایی افزایش پیدا کرد و متناسب با افزایش سطوح هورمونهای درون‌زاد درصد ماده خشک ریزغده نیز افزایش پیدا کرد. بنابراین می‌توان استنباط نمود که در ایجاد رابطه همزیستی، دو گونه قارچ بر همدیگر همکنش مثبت داشته و با تقویت اثر همدیگر پاسخ سیگنالی موثرتری را در جهت استقرار بر ریشه در گیاهچه‌های سیب‌زمینی بوجود می‌آورند. اثرات مثبت بکارگیری مخلوط قارچ‌های مایکوریز در ایجاد رابطه همزیستی در گیاهچه‌های سیب‌زمینی قبلا با پژوهش الیزابت و همکاران (۲۰۰۰) نیز مورد تأیید قرار گرفته است.

از نتایج دیگر این آزمایش افزایش قابل توجه در ضریب تکثیر گیاهچه‌ها در تیمارهای مایکوریزایی و بویژه در استفاده از مخلوط قارچ نسبت به تیمارهایی شاهد بود که در مواردی حتی تا بیش از دو برابر نسبت تکثیر را افزایش داد. بنابراین بهره‌گیری از قارچ همزیست میکوریز در برنامه تولید بذر سیب‌زمینی با توجه به موفقیت‌آمیز بودن اثر میکوریز در افزایش چشمگیر نسبت تکثیر، ضمن اینکه از نظر اقتصادی قابل توجیه می‌باشد به عنوان روشی جدید و کارآمد در روند توسعه کشاورزی پایدار نیز می تواند مدنظر قرار گیرد.

منابع

Bierman, B and R. G. Linderman. 1980. Quantifying vesicular – arbuscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization, New Phytol. 87:63 – 67.

Duffy, E. M., E. M. Hurley and A. C. Casseles. 1999. Weaning performance of potato microplants following bacterization and micorrhization, Potato Res. 42: 521-527.

Elizabeth, M., A. Duffy and C. Cassele. 2000. The effect of inoculation of potato microplant with arbuscular mycorrhizal fungi on tuber yield and tuber size distribution, Applied Soil Ecology, 15: 137-144.

Habte, M., S.C. Miyasaka and D.T. Matsuyama. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi improve early forest tree establishment. Plant nutrition Food security and sustainability of agro-ecosystems. Kluwer Academic Publishers. Netherland, pp. 644-645.

Klerk, G. I and J. Brugge. 1992. Factors affecting adventitious root formation in microcuttings of Malus, Agronomie. 12: 747-755 .

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, Mycology Society Journal. 55: 159-161.

Usoukainen, M. and M. Vestberg. 1994. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizas on rooting, weaning and subsequent growth of micropropagated Malus (L) Moench. Agriculture Science. Finland.

Varma, A. and H. Schuepp. 1995. Mycorrhization of mycorrhizal plantlets. In 'Mycorrhizae: biofertilizers for the future ' (eds. Adholeya A and Singh S), Tata Energy Research Institute, New Delhi, pp. 322-327.

Vestberg, M. and V. Estaun. 1994 . Micropropagated plants, an opportunity to positively management of mycorrhizal activities. Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystem'. Birkhauser Verlag, Basel/Switzerland. pp. 217-226.

Yao, M. K., R. J. Tweddell and H. Desilets. 2002. Effects of two Vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of microplanted potato plantlets, Mycorrhiza. 12: 235-242.

yokata, T., M. Nahyama, L. Harasawa and S. Kawabe. 1994. Polyamines, indole-3acetic acid and abscisic acid in rice phloem sap, Plant Growth Regulators. 15, 125-130.

Evaluation the effect of mycorrhizal inoculum on the levels of plant phytohormones and qualifies of minituber production in potato plantlets.

k. Parvizi[1], F. Dashti [2]*, M. Esna-ashari[3], F. Rejali[4] and M. Boojar[5]

1, 2 , 3, respectively, PhD student, Assist of Prof, Associate of Prof, Department of Horticultural science, Bu-Ali sina university. 4- Assist of Prof, Soil Science Institute, Soil Biology Department, Karaj, Iran. 5- Associate of Prof, Biology Department, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran.

*Corresponding author

Abstract

In this research microplants derived from tissue culture of two potato cultivars (Agria and Sante) were inoculated with two species of mycorrhizal fungi. Inoculation was being down when microplants transferred in to the greenhouse. A pot experiment was conducted using a factorial based on randomized complete blocks design with four replications. The factors were mycorrizal inoculation (non-inoculated and inoculated with *Glomus mossea*, *Glomus etunicatum* and mixture of them) and two cultivars of potato. Eight weeks after inoculation, colonization percentage was assayed. In addition, phytohormones containing Auxin, Cytokinin and gibberellin were measured. After harvesting, minitubers were seperated and total yield was estimated. In addition, dry matter of minituber was determined. Results showed that inoculants of mycorrhizae had significant effect ($p\leq0.05$) on colonization, minituber production and level of all plant growth regulators. Interaction effect of cultivar and inoculants in minituber size and weight was significant by probability of $\alpha= 0.01$ but was significant by probability of $\alpha= 0.05$ in Gibberellins levels and colonization percentage. By mean comparisons, it was demonstrated that inoculation with *G. etunicatum* and mixed inoculants had more positively effect on colonization severity, minituber production, and level of all plant growth regulators comparison with *G. mosseae*. The highest emount of minituber (13.81 No and 40.44 gr in mean weight per plantlet) was achieved in mixed inoculants that significantly ($p\leq0.05$) was different with two seperated inoculants and control treatment. Dry matter of minituber was increased significantly ($p\leq0.05$) by application of mixed inoculant and seperately mycorrhizal inoculants comparison with control treatment in two cultivars.

Keywords: potato plantlet, symbiosis, inoculation, phytohormone and yield.