تأثیر دو قارچ میکوریز بر رشد و جذب مواد غذایی در ژنوتیپ‌های مختلف نعناع سبز

سمانه باقری[۱]، لیلا شبانی[۲*]، معصومه احمدی خویی[۲]، پریسا حیدری زاده[۳] و محمد علی ابراهیمی[۱]

[۱]گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه پیام نور، تهران، [۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، [۳]گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

(تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۳/۰۶؛ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۲/۰۴/۲۵).

چکیده:

تاثیر قارچ‌های آربسکولار میکوریز *Glomus mosseae* و *Glomus etunicatum* بر کلونیزاسیون ریشه، رشد و جذب مواد غذایی در شش ژنوتیپ از نعناع سبز در شرایط گلخانه‌ای بررسی گردید. افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی، محتوای کلروفیل (a، b، کل و کاروتنوئید)، فسفر، منگنز و روی در ریشه و اندام هوایی و میزان کربوهیدرات اندام هوایی در گیاهچه‌های تلقیح شده در مقایسه با نمونه‌های شاهد مشاهده گردیدند. نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهچه‌های نعناع تلقیح شده با هر یک از دو گونه قارچ گلوموس بیوماس بیشتری در مقایسه با گیاهچه‌های غیر میکوریزی تولید کرده‌اند و پاسخ‌ها به نوع ژنوتیپ نعناع بستگی داشته است. همچنین، نتایج نشان دادند که تلقیح با قارچ *G. etunicatum* تأثیر بیشتری در مقایسه با قارچ *G. mosseae* بر بیوماس ژنوتیپ‌های نعناع داشته است.

کلمات کلیدی: فسفر، کربوهیدرات، میکوریز، نعناع.

مقدمه:

گیاه نعناع سبز با نام علمی *Mentha spicata* یکی از گونه های موجود در جنس *Mentha* و متعلق به خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) است. این گیاه به دلیل دارا بودن روغن فرار و محصول شاخ و برگ آن از لحاظ تجاری محصولی مهم محسوب می‌شود (Almedia *et al*., 2012). بخش‌های هوایی نعناع، به خصوص برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار آن معطر بوده و حاوی آنتی اکسیدان‌های مهم طبیعی با مصارف صنعتی و دارویی فراوانی هستند. همچنین از اسانس نعناع که حاوی انواع مختلفی از متابولیت‌های ثانویه است، در زمینه تهیه لوازم آرایشی، صنایع دارویی و در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده‌های غذا و شیرینی استفاده می‌شود (زارع ده آبادی و همکاران، ۱۳۸۶).

همزیستی با انواع قارچ‌های میکوریز آربسکولار Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) و ریزوباکتر های تحریک کننده رشد که از انواع کودهای زیستی به شمار می‌روند، رشد و بیوماس برخی از گیاهان را بهبود بخشیده است (Bagyaraj, 1991; Murthy *et al*., 1998). این نوع همزیستی از دیدگاه کشاورزی نیز، به دلیل کاهش هزینه‌های مصرفی (از طریق افزایش تولیدات گیاهی با کمترین مصرف کودهای شیمیایی و آلودگی زیستی (عوامل کنترل‌گر زیستی در برابر بیماری‌های ایجاد شده از خاک)

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: lshabani@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

دارای اهمیت است (Silveria *et al*., 2006). نتایج اغلب بررسی‌ها نشان داده است که میزان رشد (Karagiannidis *et al*., 2002)، تجمع کربوهیدرات ها (Demir, 2004) و جذب عناصر غذایی از قبیل فسفر (Al-Karaki, 2000)، پتاسیم (Marschner and Dell, 1994)، روی (Calvet *et al*., 2001) و منگنز (امیر آبادی و همکاران، ۱۳۸۸) توسط گیاهان میزبان در حضور این قارچ ها به طور نسبی افزایش یافته است. همچنین قارچ‌های میکوریز از طریق تولید مواد تحریک کننده رشد، افزایش تحمل به تنش‌های خشکی و شوری و تعامل فزاینده با دیگر میکروارگانیسم‌های مفید موجود در خاک مانند تثبیت کننده‌های نیتروژن و حل کننده‌های فسفر، باعث بهبود رشد در گیاهان میزبان نیز می گردند (Sreenivasa and Bagyaraj, 1989).

بنابراین در حال حاضر برای تکثیر و استفاده از بخش های هوایی گیاهان دارویی و معطر، از تلقیح آنها با این نوع قارچ‌ها بهره می‌گیرند (Silveria *et al*., 2006).

تاکنون چندین مطالعه درباره تاثیر همزیستی قارچ‌های میکوریز بر رشد و جذب عناصر غذایی در انواع گیاهان دارویی و معطر خانواده نعناع مانند *Mentha viridis* (Karagiannidis *et al*., 2011) و *M. arvensis* (Gupta *et al*., 2002) صورت گرفته است. تأثیر چندین گونه از قارچ‌های میکوریزی در ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان در چند گزارش اندک آمده است، ولی در هیچ گزارشی وابستگی همزیستی میکوریزی با ژنوتیپ‌های مختلف گیاه به‌طور مشخص اشاره نشده است. حضور قارچ میکوریز غلظت فسفر را در ریشه و اندام هوایی هر چهار ژنوتیپ بادام کشت شده افزایش داده است، و از طرفی اثرات مثبت همزیستی بادام با قارچ میکوریز به گونه قارچی بستگی نداشته است (آقابابایی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین Eftekhari و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که میزان آغشتگی ریشه‌ها در واریته‌های انگور (*Vitis vinifera L.*) متفاوت بوده ولی در میزان ترکیبات فنولی برگ‌های هر چهار واریته تأثیری نداشته است. با وجود آنکه تأثیر مثبت میکوریزی به شدت وابسته به ژنوتیپ گیاهان است (Heydarizadeh *et al*., 2013)، لیکن تاکنون تحقیقات اندکی در مقیاس بررسی ژنوتیپ‌های مختلف جهت مقایسه آنها صورت گرفته، لذا بسط و توسعه چنین مطالعاتی به سایر ارقام نعناع باید صورت پذیرد. بنابراین در این تحقیق اهداف زیر دنبال شد (۱): بررسی اثر تلقیح دو قارچ میکوریز گلوموس موسه آ (*Glomus mosseae*) و گلوموس اتونیکیتوم (*Glomus etunicatum*) بر میزان رشد، جذب عناصری نظیر فسفر، روی و منگنز و تجمع کربوهیدرات در شش ژنوتیپ نعناع سبز و (۲) مقایسه اثر دو گونه قارچ میکوریز بر میزان پارامترهای مذکور در شش ژنوتیپ مختلف نعناع.

مواد و روش‌ها:

کشت ریزوم و تلقیح: شش ژنوتیپ نعناع مورد استفاده متعلق به گونه نعناع سبز از شش شهر اصفهان (۳۸E ۱۰ ۵۶N, ۵۱ ۲۲ ۳۲)، کرمانشاه (۵۱E ۱۲ ۴۷ ,۴N ۲۵ ۳۴)، یزد (۵۰E ۵۳ ,۴۵N ۳۱)، بجنورد (۳۹E ۲۵ ۵۷ ,۵۱N ۲۸ ۳۷)، کاشان (۱E 21 ۵۱ ,25N ۱ ۳۴) و میبد (۳E ۵۴ ,۱۳N ۳۲) و از رویشگاه‌های طبیعی جمع آوری گردید. از ریزوم های این گیاهچه‌ها جهت انجام کشت استفاده گردید. این ریزوم‌ها در مخلوطی از ماسه و خاک رس و در گلدان هایی با دهانه ای به قطر ۲۵ سانتی متر کشت داده شد. آبیاری نمونه‌ها به صورت یک روز در میان انجام گرفت. پس از گذشت یک هفته از کشت نمونه‌ها، اولین نشانه های جوانه زنی در گلدان‌ها ظاهر شد و به دنبال آن با گذشت ۳ الی ۴ ماه ژنوتیپ‌های نعناع وارد مرحله زایشی (گلدهی) شدند. جهت انجام تلقیح از ساقه گیاهچه‌های کاشته شده استفاده شد، به گونه‌ای که ۱۰ الی ۱۵ سانتی متر از قسمت انتهایی ساقه‌ها جدا و به قطعات سه میانگره ای تقسیم گردیدند. این قطعات در میان دستمال نخی تمیز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

و دائماً مرطوب نگهداری شدند. پس از گذشت یک هفته ساقه‌ها وارد مرحله جوانه زنی و پس از حدود دو هفته ساقه‌ها ریزوم دار شدند.

جهت انجام تلقیح با قارچ میکوریزی، ۲۵ گرم از مایه تلقیح (تهیه شده از شرکت زیست فناور توران، سمنان) دو گونه قارچ گلوموس اتونیکیتوم و گلوموس موسه آ در خاک استریل موجود در هر گلدان ریخته شد و تعداد سه عدد از ساقه‌های ریزوم دار به صورت افقی بر سطح خاک قرار داده شد. به همین ترتیب گلدان‌ها یک روز در میان آبیاری و پس از جوانه زنی هر هفته یکبار تحت تیمار محلول غذایی هوگلند حاوی $MgSO_4$ (۰.۷۵ میلی مولار)، KH_2PO_4(۰.۵ میلی مولار)، KNO_3 (۱.۲۵ میلی مولار)، $Ca(NO_3)_2$(۱.۵ میلی مولار)، KCl (۵۰ میکرومولار)، H_3BO_3 (۵۰ میکرومولار)، $MnSO_4$ (۱۰ میکرومولار)، ZnSO4 (۲ میکرومولار)، ($CuSO_4$ 1.5 میکرومولار)، $(NH4)_6Mo_7O_{24}$ (۰.۰۷۵ میکرومولار) و Fe-EDTA (۱۰ میکرومولار) با فسفر ۵۰ درصد قرار گرفتند. پس از گذشت یک دوره‌ی رشد سه ماهه و ورود گیاهچه‌ها به مرحله گلدهی، جهت تشخیص آغشتگی میکوریزی و بررسی میزان رشد و جذب عناصر غذایی به آزمایشگاه منتقل شدند.

تشخیص آغشتگی میکوریزی و تعیین درصد کلونیزاسیون: جهت تشخیص وجود قارچ‌های میکوریز وزیکولار-آربسکولار در ریشه از روش رنگ آمیزی فیلیپس و هیمن (Phillips and Hayman, 1970) استفاده شد. تعیین درصد کلونیزاسیون با استفاده از روش تقاطع شبکه‌ای انجام شد.

سنجش شاخص های رشد: جهت اندازه‌گیری میزان وزن تر، خشک و طول اندام هوایی، ابتدا قسمت‌های هوایی گیاهچه‌ها جدا شد و پس از شست و شو میزان وزن تر و طول اندام هوایی آنها تعیین گردید. جهت اندازه گیری میزان وزن خشک اندام هوایی، نمونه‌ها به مدت ۴ روز درون پاکت‌های مقوایی و به دور از نور آفتاب خشک و وزن آنها تعیین گردید.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید: سنجش میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید موجود در گیاهچه‌ها به روش (Lichtenthaler, 1987) انجام شد. در این روش میزان ۰/۱ گرم از برگ تازه گیاه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در داخل هاون کاملاً ساییده و محلول سبز رنگ حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد. جذب این محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ (برای سنجش کلروفیل a و b) و طول موج ۴۷۰ (برای سنجش کارتنوئید) نانومتر قرائت شد.

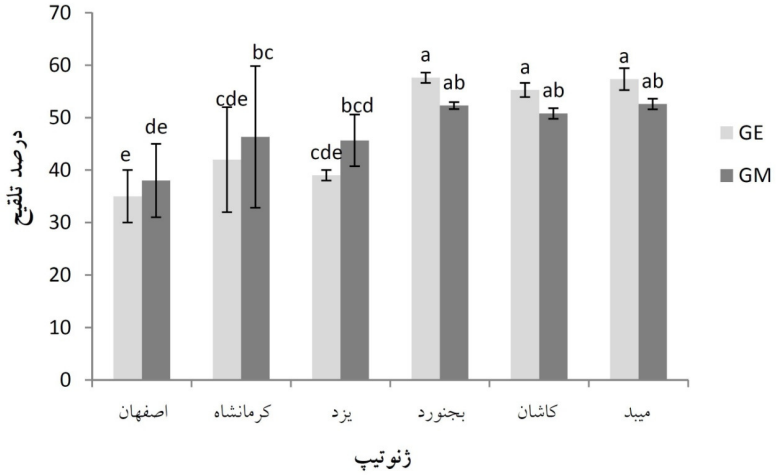
سنجش میزان جذب عناصر غذایی: یک گرم از هر کدام از بافت‌های ساقه و ریشه خشک شده، جهت سوزاندن و به دست آوردن خاکستر درون بوته چینی و به مدت ۵ ساعت در کوره با دمای ۵۵۰ درجه قرار گرفتند. پس از ایجاد خاکستر، جهت عصاره گیری، نمونه‌ها در ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال در دمای ۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت نیم ساعت حرارت داده شده و در نهایت با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. میزان فسفر عصاره ها با روش مولیبدات (Allen, 1989) و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. جهت اندازه گیری میزان عناصر کم نیاز روی و منگنز نیز از دستگاه جذب اتمی استفاده شد.

سنجش کربوهیدرات‌های محلول: اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول با روش Porter و Villar (۱۹۹۷) انجام شد. این روش بر اساس اسپکتروفتومتری و سنجش شدت رنگ ایجاد شده از واکنش قندها با معرف آنترون استوار است. سنجش کربوهیدرات‌های محلول در ۰/۱ گرم اندام هوایی ژنوتیپ‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بدست آمد. مقدار کربوهیدرات نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم در یک کیلوگرم وزن تر گیاه محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: طرح آزمایشی به کار رفته در این مطالعه طرح کاملاً تصادفی و با دو فاکتور میکوریز شامل تلقیح با قارچ‌های گلوموس اتونیکیتوم و گلوموس موسه آ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]



شکل ۱- تاثیر تلقیح قارچی بر میزان درصد کلونیزاسیون ژنوتیپ های نعناع (GE گیاهچه های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم، GM گیاهچه های تلقیح شده با قارچ گلوموس موسهآ). مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) می باشند. حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار بر اساس آزمون LSD (P<0.05) می باشد.

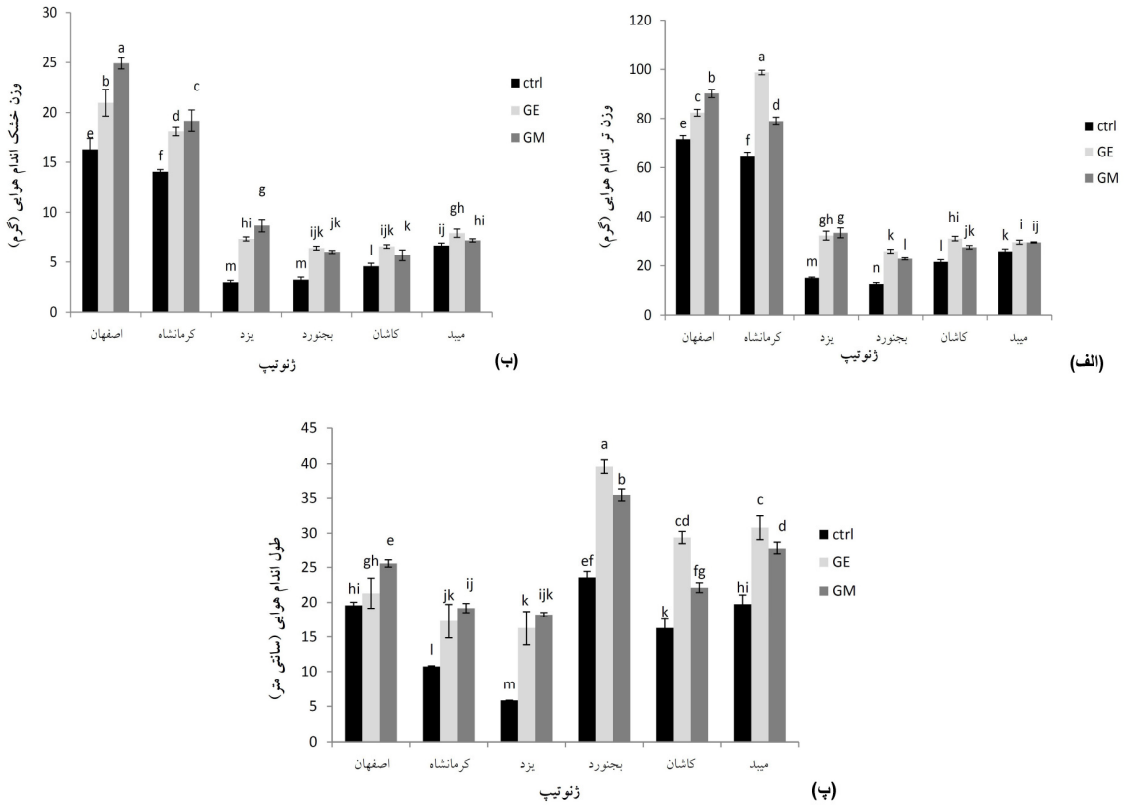
و بدون تلقیح و ژنوتیپ در شش سطح و با حداقل سه تکرار انجام شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SAS و تجزیه واریانس یک‌طرفه با آزمون LSD در نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج:

نتایج حاصل از مقایسه میانگین بین داده‌ها نشان داد که درصد آغشتگی ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود، و هیچ تفاوتی میان ژنوتیپ‌ها در میزان توانایی آنها برای برقراری رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریز مشاهده نگردید. در ژنوتیپ‌های اصفهان، کرمانشاه و یزد گیاهچه‌های تلقیح شده با گلوموس موسه آ و در ژنوتیپ های بجنورد، کاشان و میبد گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم بالاترین درصد کلونیزاسیون را در مقایسه با شاهد نشان دادند ولی با این حال تفاوت معنی داری میان گیاهچه‌های تلقیح شده با دو گونه قارچ مشاهده نشد (شکل ۱). در تمام ژنوتیپ ها گیاهچه‌های تلقیح شده با هر دو گونه قارچ بالاترین میزان وزن تر اندام هوایی را در مقایسه با شاهد ایجاد کردند در حالی که در دو ژنوتیپ یزد و میبد تفاوت میان دو قارچ معنی‌دار نبود (شکل ۲، الف). گیاهچه‌های تلقیح شده با هر دو گونه قارچ در تمام ژنوتیپ‌ها بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی را در مقایسه با شاهد تولید کردند، با این حال بالاترین میزان وزن خشک در سه ژنوتیپ اصفهان، کرمانشاه و یزد در گیاهچه‌های تلقیح شده با گلوموس موسه آ در مقایسه با شاهد حاصل شد ولی تفاوت معنی‌داری میان گیاهچه‌های سه ژنوتیپ بجنورد، کاشان و میبد در تلقیح با دو گونه قارچ مشاهده نشد (شکل ۲، ب). در ژنوتیپ‌های اصفهان، کرمانشاه و یزد گیاهچه‌های تلقیح شده با گلوموس موسه آ و در ژنوتیپ‌های بجنورد، کاشان و میبد گیاهچه‌های تلقیح شده با گلوموس اتونیکیتوم بیشترین میزان طول اندام هوایی را در مقایسه با شاهد تولید کردند، با این حال تفاوت معنی‌داری میان گیاهچه‌های ژنوتیپ کرمانشاه و یزد در تلقیح با دو گونه قارچ مشاهده نشد (شکل ۲، پ). ضریب همبستگی میان درصد کلونیزاسیون و شاخص‌های رشد از جمله وزن خشک اندام هوایی در تمام ژنوتیپ‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

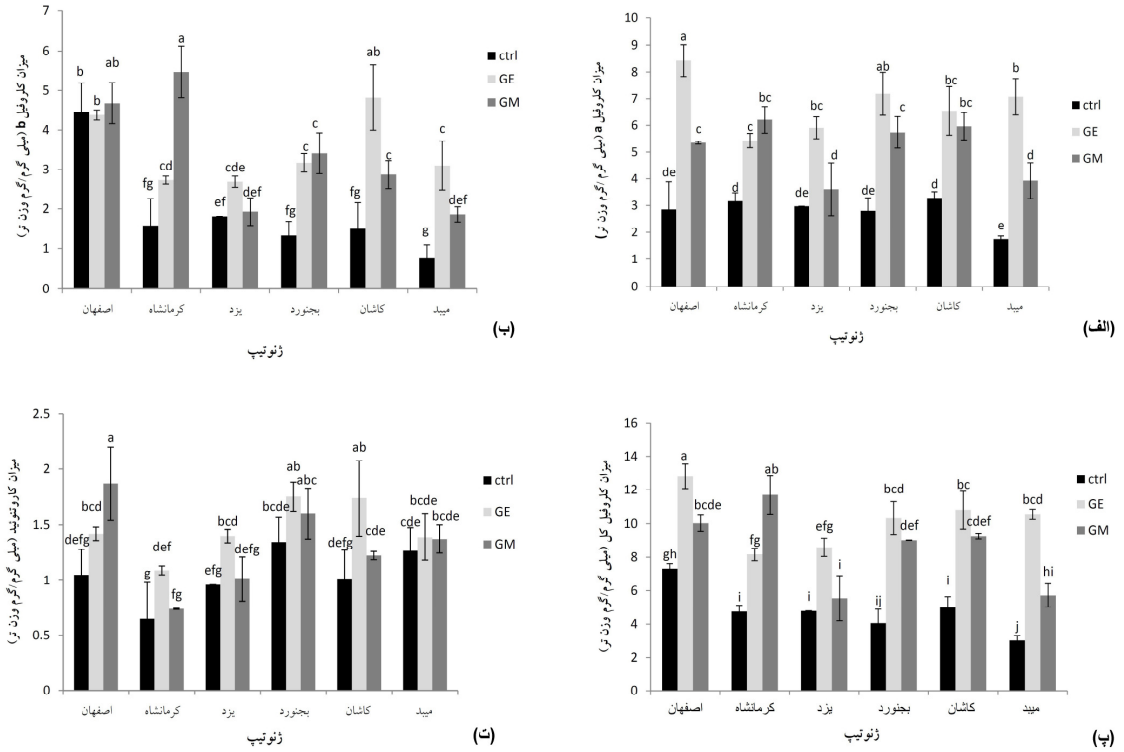


شکل ۲- تاثیر تلقیح قارچی بر میزان وزن تر (الف)، وزن خشک (ب) و طول اندام هوایی (پ) ژنوتیپ‌های نعناع (Ctrl گیاهچه های کنترل، GE گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم، GM گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس موسهآ). مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) می باشند. حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون LSD (P<0.05) می‌باشد.

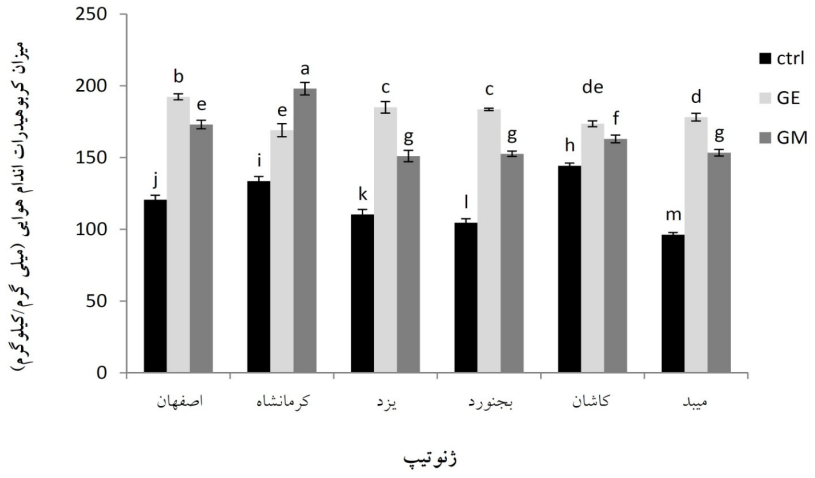
نعناع معنی‌دار بود.

در تمام ژنوتیپ‌ها به جز کرمانشاه، بالاترین میزان کلروفیل a در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم نسبت به شاهد حاصل شد (شکل ۳، الف). میزان کلروفیل b، در تمام ژنوتیپ‌ها به جز اصفهان و یزد افزایش معنی‌داری در گیاهچه‌های تلقیح شده با هر دو گونه قارچ در مقایسه با شاهد نشان داد (شکل ۳، ب). مشابه با میزان کلروفیل a، بیشترین میزان کلروفیل کل در تمام ژنوتیپ‌ها به جز کرمانشاه در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم در مقایسه با شاهد حاصل شد. بیشترین میزان کلروفیل کل در ژنوتیپ کرمانشاه در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس موسه آ مشاهده شد (شکل ۳، پ). در تمام ژنوتیپ‌ها به جز اصفهان، بالاترین میزان کاروتنوئید در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم در مقایسه با شاهد حاصل شد. در ژنوتیپ اصفهان گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس موسه آ بیشترین میزان کاروتنوئید را نشان دادند (شکل ۳، ت). میزان کربوهیدرات اندام هوایی گیاهچه های نعناع در شکل ۴ نشان داده شده است. در تمام ژنوتیپ‌ها به جز کرمانشاه، بالاترین میزان کربوهیدارت محلول در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم نسبت به شاهد حاصل شد. در ژنوتیپ کرمانشاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]



شکل ۳- تاثیر تلقیح قارچی بر میزان کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب)، کلروفیل کل (پ) و کاروتنوئید (ت) ژنوتیپ‌های نعناع (Ctrl گیاهچه‌های کنترل، GE گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم، GM گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس موسه‌آ). مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) می‌باشند. حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون LSD (P<0.05) می‌باشد.



شکل ۴- تاثیر تلقیح قارچی بر میزان کربوهیدرات اندام هوایی ژنوتیپ‌های نعناع (Ctrl گیاهچه‌های کنترل، GE گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم، GM گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس موسه‌آ). مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) می‌باشند. حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون LSD (P<0.05) می‌باشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

جدول ۱- تاثیر تلقیح قارچی بر میزان فسفر، روی و منگنز در اندام هوایی و ریشه ژنوتیپ‌های نعناع بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم.

ژنوتیپ	تیمار	فسفر		روی		منگنز	
		اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه
اصفهان	شاهد	۰/۵۴^{l}	۰/۶۵^{g}	۹/۲^{m}	۹۴/۷^{c}	۴۰/۲^{l}	۱۱۹/۱^{f}
	گلوموس اتونیکیتوم	۰/۹۷^{c}	۱/۵۲^{a}	۱۷/۶^{j}	۸۸/۴^{d}	۳۲^{n}	۹۴/۵^{g}
	گلوموس موسه آ	۰/۹۷^{c}	۰/۸۸^{d}	۲۱/۵^{g}	۴۴^{n}	۴۷/۶^{i}	۳۲/۴^{k}
کرمانشاه	شاهد	۰/۶۸^{j}	۰/۵۱^{i}	۳۲/۳^{b}	۵۵/۹^{l}	۶۵/۳^{f}	۱۲۴/۷^{f}
	گلوموس اتونیکیتوم	۰/۸۲^{h}	۰/۸۳^{e}	۱۶/۵^{k}	۷۳/۶^{g}	۴۶^{j}	۹۵/۵^{g}
	گلوموس موسه آ	۰/۸۶^{f}	۱/۰۲^{c}	۱۸/۸^{i}	۹۷/۲^{b}	۳۵/۶^{m}	۱۲۵/۶^{ef}
یزد	شاهد	۰/۶۱^{k}	۰/۸۲^{e}	۲۰/۷^{h}	۹۷^{b}	۵۲/۷^{h}	۲۴۵/۴^{a}
	گلوموس اتونیکیتوم	۱/۰۲^{a}	۱/۳۳^{b}	۳۸^{a}	۸۲^{f}	۷۰/۸^{e}	۲۰۸/۸^{b}
	گلوموس موسه آ	۰/۹۹^{b}	۱/۰۳^{c}	۲۱/۲^{g}	۸۷/۴^{d}	۲۸/۶^{o}	۱۸۹/۷^{c}
بجنورد	شاهد	۰/۷۱^{i}	۰/۶۴^{gh}	۱۴/۸^{l}	۴۱^{o}	۳۳/۳^{n}	۳۰/۵^{k}
	گلوموس اتونیکیتوم	۰/۹۳^{d}	۰/۸۸^{d}	۲۰/۷^{h}	۴۳/۳^{n}	۱۵۵/۲^{a}	۳۱/۳^{k}
	گلوموس موسه آ	۰/۹۰^{e}	۰/۷۲^{f}	۱۷/۹^{j}	۶۸/۵^{i}	۶۳/۲^{g}	۳۰/۵^{k}
کاشان	شاهد	۰/۶۱^{k}	۰/۶۱^{h}	۲۳^{f}	۸۵/۶^{e}	۴۸/۸^{i}	۶۴/۳^{i}
	گلوموس اتونیکیتوم	۰/۹۱^{e}	۰/۷۲^{f}	۲۲/۶^{d}	۱۰۸^{a}	۹۸/۲^{b}	۱۴۷/۳^{d}
	گلوموس موسه آ	۰/۸۴^{g}	۰/۷۳^{f}	۲۶/۸^{de}	۷۱/۶^{h}	۷۴/۴^{d}	۱۳۷^{de}
میبد	شاهد	۰/۷۱^{i}	۰/۷۰^{f}	۲۶/۷^{e}	۵۲/۱^{m}	۳۹/۲^{l}	۵۰/۲^{j}
	گلوموس اتونیکیتوم	۰/۸۳^{gh}	۰/۹^{d}	۲۸/۳^{c}	۵۸/۱^{k}	۷۸/۴^{c}	۱۲۳^{f}
	گلوموس موسه آ	۰/۹۰^{e}	۰/۸۱^{e}	۲۷/۲^{d}	۶۶/۶^{j}	۴۱/۹^{k}	۷۸/۷^{h}

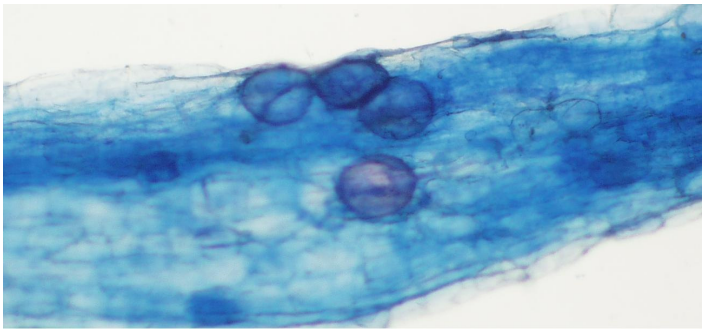
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس موسهآ بیشترین میزان کربوهیدرات را در مقایسه با شاهد ایجاد کرده است. ضریب همبستگی بین میزان کلروفیل کل و کربوهیدرات در ژنوتیپ‌های نعناع معنی‌دار بود.

گیاهچه‌های تلقیح شده با هر دو گونه قارچ در تمام ژنوتیپ‌ها بیشترین میزان فسفر اندام هوایی را در مقایسه با شاهد تولید کردند، با این حال در گیاهچه‌های ژنوتیپ اصفهان تفاوت معنی‌داری میان گیاهچه‌های تلقیح شده با هر دو گونه قارچی مشاهده نشد. مشابه با محتوای فسفر اندام هوایی، در تمام ژنوتیپ‌ها گیاهچه‌های تلقیح شده با هر دو گونه قارچ بیشترین میزان فسفر ریشه را نسبت به شاهد ایجاد کردند. بالاترین میزان فسفر ریشه در تمام ژنوتیپ‌ها به جز کرمانشاه و کاشان، در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم حاصل شد (جدول ۱). میزان روی اندام هوایی در تمام ژنوتیپ‌ها به جز کرمانشاه، افزایش ناچیزی را در گیاهچه‌های تلقیح شده با هر دو گونه در مقایسه با شاهد نشان داد. همچنین میزان روی ریشه در تمام ژنوتیپ‌ها به جز گیاهچه‌های ژنوتیپ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]



شکل ۵- تصویر میکوسکوپی از ریشه های نعناع تلقیح شده با قارچ میکوریز

اصفهان و یزد، در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بالاترین میزان منگنز اندام هوایی موجود در سه ژنوتیپ بجنورد، کاشان و میبد در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ گلوموس اتونیکیتوم در مقایسه با شاهد حاصل شد، در حالی که میزان منگنز در ژنوتیپ کرمانشاه کاهش و در ژنوتیپ‌های اصفهان و یزد افزایش ناچیزی را نسبت به شاهد نشان داد. میزان منگنز ریشه تنها در گیاهچه‌های تلقیح شده ژنوتیپ کاشان و میبد افزایش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان دادند (جدول ۱).

بحث:

رنگ آمیزی ریشه‌های نعناع شش جمعیت به‌کار رفته در این تحقیق نشان داد که هر دو گونه قارچی به‌طور موفقیت آمیزی ریشه‌ها را با تشکیل ساختارهای وزیکولی و هیف های بین سلولی آلوده کرده‌اند (شکل ۵). قارچ‌های میکوریزی، ریشه‌های گیاهان را به درجات مختلف (بدون تأثیر و دارای تأثیر روی رشد گیاه) کلونیزه می‌کنند. این ویژگی ممکن است تحت کنترل ژنتیکی میزبان، قارچ یا به طور محتمل‌تر یک برهمکنش پیچیده بین دو شریک همزیستی باشد (Entry *et al*., 2002). به نظر می‌رسد که هر دو گونه قارچی گلوموس اتونیکیتوم و گلوموس موسه آ دارای سازگاری یکسانی برای همزیستی با هر شش ژنوتیپ نعناع سبز هستند.

مطابق نتایج حاصل در این تحقیق (شکل ۲)، تلقیح دو گونه قارچ میکوریز منجر به افزایش وزن تر، خشک و طول اندام هوایی در شش ژنوتیپ نعناع شده است. افزایش رشد در گیاهان میکوریزی در مقایسه با انواع غیر میکوریزی در گونه‌های زیادی از گیاهان گزارش شده است (Smith and Read, 1997). در تحقیقی افزایش شاخص‌های رشد و بیوماس گیاهچه‌های تلقیح شده زردآلو را به توانایی جذب عناصر غذایی معدنی از خاک نسبت داده‌اند (Dutt, *et al*., 2013). نتایج تحقیق حاضر در رابطه با نعناع در توافق با این گزارش‌هاست. در این تحقیق با برقراری رابطه میکوریزی، سیستم ریشه‌ای به علت نفوذ هیف‌های قارچ در خاک افزایش یافته و ریشه با دسترسی به حجم بیشتری از خاک، منجر به افزایش کارایی جذب عناصر غذایی شده و در نتیجه تولید ماده خشک افزایش یافته است. بهبود جذب عناصر معدنی در گیاهان میزبان اغلب منجر به پاسخ‌های رشدی مثبت در این گیاهان می شود که عمدتاً در سطح اندام هوایی گیاه آشکار است. ارتباط معنی‌دار میان درصد کلونیزاسیون و شاخص های رشد از جمله وزن خشک اندام هوایی در تمام ژنوتیپ‌های نعناع نیز توجیه کننده نقش موثر این قارچ‌ها در جذب عناصر غذایی به خصوص فسفر می‌باشد.

کلونیزاسیون میکوریزی اثرات متفاوتی بر جذب عناصر غذایی (P، Zn و Mn) در ساقه و ریشه گیاهان نعناع تلقیح شده در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داد. هیف‌های قارچی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

با رهاسازی اسیدهای آلی و آنزیم های فسفاتاز موجب انحلال فسفر خاک می‌گردند و به همین دلیل جذب فسفر در خاک‌های فقیر از نظر منبع فسفر قابل جذب مانند خاک هایی که فسفات آهن و آلومینیوم دارند و یا حاوی سنگ فسفات هستند در گیاهان میکوریزی افزایش نشان می‌دهد. با توجه به نتایج مطالعات مختلف، گیاهان میکوریزی و غیر میکوریزی به یک اندازه از فسفر خاک استفاده می کنند، لذا گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریز استفاده بیشتری از فسفر غیر متحرک خاک می‌برند (Bolan, 1991). علاوه بر این به‌نظر می‌رسد افزایش فسفر در گیاهچه‌های نعناع تلقیح شده در این تحقیق به دلیل افزایش طول ریشه های گیاه و ریسه‌های قارچی و در نتیجه افزایش میزان دسترسی به فسفر غیر متحرک در خاک باشد. در همین راستا Chen و همکاران (۲۰۰۳) در تحقیقی بر شبدر قرمز همزیست با قارچ گلوموس موسه به این نتیجه دست یافتند که گیاهان تلقیح شده با میکوریز دارای جذب فسفر بیش از دو برابر در مقایسه با گیاهان شاهد هستند. افزایش روی در گیاهان نعناع میکوریزی در این تحقیق ممکن است به دلیل تخلیه بیشتر خاک از این عنصر بر اثر نفوذ ریسه‌های نازک قارچی در حفرات ریز خاک باشد. در تحقیقی Dutt و همکاران (۲۰۱۳) افزایش عناصر میکرو نظیر روی، مس، منگنز و آهن را در گیاهچه‌های مایکوریزی به میزان بالای کلونیزاسیون ریشه و افزایش سطح جذب عناصر غذایی از ریزوسفر خاک نسبت دادند. میزان منگنز اندام هوایی و ریشه در گیاهچه‌های نعناع تلقیح شده در سه ژنوتیپ اصفهان، کرمانشاه و یزد در مقایسه با شاهد کاهش یافت در حالی که این میزان در سه ژنوتیپ دیگر بجنورد، کاشان و میبد افزایش معنی داری را در مقایسه با شاهد نشان داد. کاهش در غلظت منگنز در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز قبلاً گزارش شده است (Kothari *et al*., 1991). کاهش در غلظت منگنز در گیاهان تلقیح شده با قارچ بطور غیر مستقیم از طریق تاثیر قارچ بر میکروفلور ریزوسفر وساطت می‌شود (Kapoor and Mukerji, 1998). مشخص شده است که همزیستی میکوریزایی اثرات متفاوتی در جذب عناصر کم نیاز در گیاهان میزبان دارد. نوع گیاه میزبان و ویژگی‌های ژنتیکی آن باعث می‌شود که جذب عناصر کم نیاز (مانند روی و منگنز) در گیاهان مختلف متغیر باشد (Kucey and Janzen, 1987). بنابراین چنین استنباط می شود که تفاوت در میزان جذب منگنز در ژنوتیپ‌های مختلف نعناع تلقیح شده در این تحقیق، به دلیل ویژگی های ژنتیکی متفاوتی است که هر گیاه برای جذب منگنز از آن استفاده می‌کند.

همچنین نتایج حاصل در این تحقیق (شکل ۳)، نشان داد که میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در تمام ژنوتیپ-های نعناع به طور مشابهی افزایش یافته است، بنابراین افزایش میزان کلروفیل کل در این ژنوتیپ‌ها را می‌توان به تغییر میزان کلروفیل a نسبت داد. افزایش محتوای فسفر ریشه نیز به طرز مشابهی در تمام ژنوتیپ‌ها هماهنگ با افزایش کلروفیل کل مشهود بود که با نقش اساسی این عنصر در انجام فتوسنتز و افزایش میزان کلروفیل در گیاهان میزبان ارتباط دارد. میزان کاروتنوئید برگ نیز در گیاهچه های نعناع تلقیح شده افزایش معنی داری را در مقایسه با شاهد نشان دادند. محتوای بالای کلروفیل در برگ گیاهان تلقیح شده را می توان به بهبود تغذیه گیاه میزبان به خصوص فسفر نسبت داد، در حالی‌که نیتروژن یک عنصر ضروری برای تشکیل کلروفیل و فسفر نقش مهمی را به عنوان حامل انرژی در طی فتوسنتز ایفا می‌کند. بنابراین به-طور کلی هر چه شرایط تغذیه‌ای و محیطی برای رشد گیاه مناسب تر باشد توان گیاه در تولید کلروفیل و کاروتنوئید در برگ و تولید انرژی بیشتر می‌شود (Baslam *et al*., 2012). طبق گزارش Baslam و همکاران (۲۰۱۲) افزایش کاروتنوئید در گیاه *Luctude sativa* کلونیزه شده با قارچ میکوریز آربسکولار به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی است.

مطابق نتایج حاصل در این تحقیق (شکل ۴)، تلقیح گیاهچه‌های نعناع با هر دو گونه قارچ منجر به افزایش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

معنی‌داری در میزان کربوهیدرات اندام هوایی در مقایسه با شاهد شده است. چنانچه در این نتایج ملاحظه می‌شود افزایش در میزان کربوهیدرات اندام‌هوایی در هر شش ژنوتیپ روند مشابهی را با افزایش محتوای کلروفیل کل و فسفر ریشه نشان می‌دهد. با توجه به مطلب فوق می‌توان چنین بیان کرد که این قارچ ها از طریق افزایش جذب فسفر که عنصری ضروری در فرآیند فتوسنتز بوده، منجر به افزایش میزان فتوسنتز و محتوای کلروفیل و در نتیجه تولید بیشتر کربوهیدرات‌ها در گیاهان نعناع میکوریزی شده است. در همین راستا Demir (۲۰۰۴) بیان داشت که میزان کربوهیدرات‌هایی مثل سوکروز، فروکتوز، آلفاگلوگز، بتاگلوکز و کربوهیدرات کل در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریز افزایش داشته است. ارتباط معنی دار بودن میان میزان کلروفیل کل و کربوهیدرات ژنوتیپ‌های نعناع در این تحقیق نیز توجیه کننده نقش مؤثر این قارچ ها در جذب عناصر غذایی به خصوص فسفر برای تامین احتیاجات کربوهیدراتی خود می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل از این تحقیق گویای اثرات مثبت همزیستی قارچ‌های میکوریز بر فاکتورهای رشد و جذب عناصر غذایی در شش ژنوتیپ گیاه نعناع سبز است. کاهش برخی عناصر از جمله منگنز در برخی ژنوتیپ‌ها را می‌توان به ویژگی‌های ژنتیکی متفاوت موجود در آنها نسبت داد. در این تحقیق استفاده از هر دو گونه قارچ *G. mosseae* و *G. etunicatum* نسبت به شاهد (بدون قارچ مایکوریز) مثبت ارزیابی شد، هر چند که قارچ *G. etunicatum* از عملکرد بهتری برخوردار بود. در نهایت توصیه می‌گردد که جهت استفاده از برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار و بیوماس بیشتر در گیاه نعناع سبز از همزیستی آنها با انواع قارچ های میکوریز به عنوان کودهای زیستی استفاده گردد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله از قطب تنش‌های گیاهی دانشگاه اصفهان تشکر می‌نمایند.

منابع:

آقابابایی ف. (۱۳۹۰) اثر همزیستی میکوریزایی بر جذب عناصر غذایی توسط برخی ژنوتیپ‌های تجاری گیاه بادام در یک خاک شنی. مجله پژوهش خاک (علوم خاک و آب) ۲۵: ۱۳۷–۱۴۷.

امیر آبادی، م.، رجالی، ف.، اردکانی، م. ر. و برجی، م. (۱۳۸۷) تاثیر کاربرد مایه تلقیح ازتوباکتر و قارچ میکوریزی بر جذب برخی عناصر معدنی توسط ذرت علوفه‌ای (رقم سینگل کراس ۷۰۴) در سطوح مختلف فسفر، مجله پژوهش های خاک ۲۳: ۱۰۷–۱۱۵.

زارع ده آبادی، سعید.، اسرار، زهرا. و مهربانی، میترا. (۱۳۸۶) اثر فلز روی بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه نعناع خوراکی، مجله زیست شناسی ایران ۲۰: ۲۳۰–۲۴۱.

Al-Karaki, G. N. (2000) Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza 10:51–54.

Allen, S. E. (1989) Chemical analysis of ecological materials. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, London.

Almedia, P. P., Mezzomo, N. and Ferreria, S. R. S. (2012) Extraction of *Mentha spicata* L. volatile compounds: evaluation of process parameters and extract composition. Food Bioprocess Technology 5: 548-559.

Bagyaraj, D. J. (1991) Ecology of Vesicular-arbuscular Mycorrhizae. In: Handbook of Applied Mycology: Soil and Plants (eds. Arora, D. D., Rai, B., Mukerji, K. J., Knudsen, G. R., and Dekker, M.) pp. 3-34. New York.

Baslam, M., Esteban, R., Garcia-Plazaola J. I. and Goicoechea, N. (2012) Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of major carotenoids, chlorophylls and tocopherol in green and red leaf lettuces. Applied Microbiology and Biotechnology: 1-10.

Calvet, C., Pinochet, J., Hernandez-Dorrego, A., Estan, V. and Camprubi, A. (2001) Field microplot performance of the peach-almond hybrid

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

Karagiannidis, N., Thomidisa, T., Lazarib, D., Panou-Filotheoua, E. and Karagiannidoua, C. (2011) Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. Scientia Horticulturae 129: 329–334.

Kothari, S. K., Marschner, H. and Romheld, V. (1991) Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. Plant and Soil 131: 177–185.

Kucey, R. M. N. and Janzen, H. H. (1987) Effects of VAM and reduced nutrient availability on growth and phosphorus and micronutrient uptake of wheat and field beans under greenhouse conditions. Plant and Soil 104: 71–78.

Lichtenthaler H. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of Photosynthetic biomembranes. Methods of Enzymology, 148: 350-382.

Marschner, H. and Bell, B. (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159: 89-102.

Murthy, N. K., Srinivasan, S. and Warrier, R. K. (1998) Effect of *Azospirillum* and *Phosphobacterium* in improving seed germination and vigour of Amla. Journal of Non Timber Forest Products 6: 34-36.

Phillips, J. M., Hayman, D. S. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 5: 158–160.

Porter H. and Villar R. (1997) The fate of acquired carbon in plants: chemical composition and construction costs. In: Plant Resource Allocation (eds. Bazzaz, F.A. and Grace, J) pp.30-72. Academic Press, USA.

Silveria, S. V., Lorscheiter, R., Barros, I. B. I., Schwraz, S. F. and Souza, P. V. D. (2006) *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. Botucatu 8: 91-97.

Smith, S. E. and Read, D. J. (1997) Mycorrhizal Symbiosis, Academic Press. San Diego. CA.

Sreenivasa, M. N. and Bagyaraj, D. J. (1989) Use of pesticide for mass production of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum. Plant and Soil 119: 127–132.

GF-677 after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. Mycorrhiza 10:295–300.

Chen, B. D., Li, X. L., Christie, P. and Wong, M. H. (2003) The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. Chemosphere 839–846.

Demir, S. (2004) Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal of Biology 28: 85-90.

Dutt, S., Sharma, S. D. and Kumar, P. (2013) Arbuscular mycorrhizas and Zn fertilization modify growth and physiological behavior of apricot (*Prunus armeniaca* L.). Scientia Horticulturae 155: 97-104.

Eftekhari, M., Alizadeh, M. and Ebrahimi, P. (2012) Evaluation of the total phenolics and quercetin content of foliage in mycorrhizal grape (*Vitis vinifera* L.) varieties and effect of postharvest drying on quercetin yield. Industrial Crops and Products 38: 160-165.

Entry, J. A., Ygiewicz, P. T., Watrud, L. S. and Donnelly, P. K. (2002) Influence of adverse soil conditions on the formation and function of Arbuscular mycorrhiza. Advances in Environmental Research 123-138.

Gupta, M. L., Prasad, A., Ram, M. and Kumar, S. (2002) Effect of vesicular- arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology 81: 77-79.

Heydarizadeh, P., Zahedi, M., Sabzalian, M. R. and Ataii, E. (2013) Mycorrhizal infection, essential oil content and morpho-phenological characteristics variability in three mint species. Scientia Horticulturae 153: 136–142.

Kapoor, R., Mukerji, K. G. (1998) Microbial interactions in mycorrhizosphere of *Anethum graveolens* L. Phytomorphology 48: 383–389.

Karagiannidis, N., Bletsos, F., Stavropoulos, N. (2002) Effects of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahlia* kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. Scientia Horticulturae 94: 145-156.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]

Effect of two arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake in different genotypes of *Mentha spicata* L.

Samaneh Bagheri[1], Leila Shabani[2], Massomeh Ahmadi-Khoei[2], Parisa Heydarizadeh[3] and [1]Mohammad Ali Ebrahimi

[1]Department of Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, [2]Department of Biology, Faculty of Science, University of Shahrekord and [3]Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan

(Received: 27 May 2013 ; Accepted: 16 July 2013).

Abstract:

In this experiment, the effect of the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Glomus mosseae* and *G. etunicatum* on root colonization, plant growth and nutrient uptake, chlorophyll content (a, b, total and cartenoid) and carbohydrate content were studied in six genotypes of mint (*Mentha spicata* L.) in pots. The AM inoculation significantly increased the fresh and dry weight of shoot, chlorophyll content, nutrient content (P, Zn and Mn) of the shoots and roots, and the concentration of carbohydrate in leaves as compared to non-inoculated plants. The present results revealed that mint plants inoculated with AMF (*Glomus* sp.) would make higher biomass production than non-mycorrhizal mint plants. However, it was found that the response of the plant was dependent on the genotype. Results also showed that inoculation with *G. etunicatum* proved to be more effective compared to *G. mosseae* regarding the increase in biomass of mint genotypes.

Key words: Carbohydrate, *Mentha*, Mycorrhiza, Phosphorus

* Corresponding author: lshabani@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.4.4.4]