دانشکده کشاورزی
گروه علوم خاک

پایان‌نامه
برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته خاکشناسی
گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

عنوان

تأثیر گونه‌های *Streptomyces* بر تندش اسپور قارچ میکوریز آربوسکولار و کلنیزاسیون ریشه گیاه تره‌فرنگی

استادان راهنما
دکتر ناصر علی اصغرزاد
دکترعلیرضا دهناد

استاد مشاور
دکتر نصرت اله نجفی

پژوهشگر
زهرا پورمیرزائی

شهریور ۹۰

عنوان	فهرست مطالب	صفحه

مقدمه..... ۱

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- گیاه تره‌فرنگی..... ۴

۱-۱-۱- تاریخچه ۴

۱-۱-۲- خصوصیات گیاه‌شناسی ۴

۱-۱-۳- اهمیت غذایی ۴

۱-۱-۴- خصوصیات مورفولوژیکی گیاه تره‌فرنگی ۵

۱-۱-۵- شرایط آب و هوایی..... ۶

۱-۲- همزیستی میکوریزی ۷

۱-۲-۱- مشخصات قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM) ۸

۱-۲-۲- رشد و گسترش AM و ایجاد همزیستی ۹

۱-۲-۲-۱- مرحله اول: تندش اسپور ۹

۱-۲-۲-۲- مرحله دوم: رشد میسیلیوم برون‌ریشه‌ای ۱۱

۱-۲-۲-۳- مرحله سوم: اتصال و نفوذ هیف به درون سلول‌های ریشه و تشکیل همزیستی میکوریزی..... ۱۲

۱-۱-۳- مورفولوژی قارچ‌های AM ۱۴

۱-۲-۳-۱- هیف ۱۴

۱-۲-۳-۲- آربوسکول ۱۵

۱-۲-۳-۳- وزیکول ۱۶

۱-۲-۳-۴- اسپور ۱۷

۱-۲-۳-۵- سلول‌های کمکی ۱۸

۱-۲-۴- عوامل محیطی مؤثر بر تندش اسپور قارچ AM و همزیستی میکوریزی..... ۱۸
۱-۲-۴-۱- pH ۱۸
۱-۲-۴-۲- دما..... ۱۹
۱-۲-۴-۳- co_2 ..... ۲۰
۱-۲-۴-۴- رطوبت ۲۱
۱-۲-۴-۵- نور ۲۱
۱-۲-۴-۶- غلظت عناصر غذایی ۲۲
۱-۲-۵- عامل‌های بیولوژیکی مؤثر بر تندش اسپور و توسعه همزیستی میکوریزی..... ۲۳
۱-۲-۵-۱- ترکیبات ریشه میزبان ۲۳
۱-۲-۵-۲- ترکیبات تولید شده از ریشه گیاهان غیرمیزبان..... ۲۵
۱-۲-۶- ترکیب لیپید در قارچ‌های AM ۲۶
۱-۲-۷- متابولیسم لیپید در قارچ‌های AM و تندش اسپور این قارچ‌ها ۲۷
۱-۲-۸- سنتز لیپید در قارچ‌های AM..... ۲۸
۱-۲-۹- تکثیر درون‌شیشه‌ای قارچ‌های AM..... ۲۸
۱-۲-۹-۱- تاریخچه و اهمیت..... ۲۸
۱-۲-۹-۲- ریشه‌های تراریخته با *Agrobacterium rhizogenese* ۳۱
۱-۳- اکتینومیست‌ها ۳۲
۱-۳-۱- جنس *Streptomyces* ۳۳
۱-۳-۱-۱- خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ۳۳
۱-۳-۱-۲- خصوصیات بیوشیمیایی جنس *Streptomyces*..... ۳۶
۱-۳-۱-۳- خصوصیات اکولوژی جنس *Streptomyces* ۳۶

عنوان | فهرست مطالب | صفحه

۱-۴- برهمکنش قارچ- باکتری در ریزوسفر ۳۷

۱-۴-۱- برهمکنش‌های منفی ۳۸

۱-۴-۲- برهمکنش‌های مثبت و باکتری‌های MHB ۴۰

۱-۵- اثر گونه‌های *Streptomyces* بر قارچ‌های میکوریزی ۴۴

۱-۵-۱- اثرات منفی ۴۴

۱-۵-۲- اثرات مثبت ۴۵

۱-۵-۳- اثر *Streptomyces* تجزیه کننده کیتین بر قارچ میکوریزی و شاخص‌های رشدی گیاه ۴۶

۱-۵-۴- تولید آگزوفوران توسط *Streptomyces* ۴۸

۱-۶-۱- جمعیت سلولی باکتری MHB ۵۱

۱-۶-۲- موقعیت باکتری‌های MHB در ریشه‌های میکوریزی ۵۲

۱-۶-۲-۱- باکتری‌های MHB درون‌سلولی ۵۳

۱-۷- ویژگی‌های مورفولوژیکی اکتینومیست‌های محرک قارچ AM ۵۴

۱-۸- اهداف تحقیق ۵۵

۱-۸-۱- هدف آزمایش درون‌شیشه‌ای ۵۵

۱-۸-۲- هدف آزمایش گلدانی ۵۵

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- تکثیر درون‌شیشه‌ای قارچ AM ۵۶

۲-۲- تکثیر استرپتومایسس‌های مورد آزمایش در محیط کشت Starch Casein Agar ۶۳

۲-۳- بررسی درون‌شیشه‌ای اثر گونه‌های *Streptomyces* بر تندش اسپور و رشد هیف قارچ *G. intraradices* ۶۵
۲-۳-۱- جداسازی اسپورهای قارچ *G. intraradices* از محیط کشت MSR ۶۵
۲-۳-۲- ضدعفونی اسپورهای قارچی جدا شده از محیط کشت MSR ۶۵
۲-۳-۳- نگهداری اسپورهای ضدعفونی شده در آب‌مقطر استریل ۶۵
۲-۳-۴- کشت توأم اسپور قارچ *G. intraradices* و میکروکلنی سه گونه *Streptomyces* ۶۶
۲-۴- پارامترهای مورد اندازه‌گیری در آزمایش درون‌شیشه‌ای ۶۷
۲-۵- طرح آزمایشی و تجزیه آماری (آزمایش درون‌شیشه‌ای) ۶۷
۲-۶- انتخاب و آماده‌سازی خاک ۶۸
۲-۷- تعیین برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده ۶۸
۲-۸- آماده‌سازی مایه‌تلقیح گونه قارچی ۶۸
۲-۹- آماده‌سازی مایه‌تلقیح گونه‌های *Streptomyces* ۶۹
۲-۱۰- آماده‌سازی بذر و جوانه‌دار کردن آن ۷۰
۲-۱۱- استریل کردن خاک و گلدان‌ها ۷۱
۲-۱۲- کشت جوانه‌ها و اعمال تیمارها ۷۱
۲-۱۳- برداشت گیاهان و اندازه‌گیری خصوصیات مورد نظر در گیاه ۷۳
۲-۱۳-۱- وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه ۷۳
۲-۱۳-۲- اندازه‌گیری غلظت فسفر گیاه ۷۳
۲-۱۳-۲-۱- هضم نمونه‌های گیاهی به روش خشک سوزانی ۷۳
۲-۱۳-۲-۲- تعیین درصد ماده خشک گیاه و جذب عناصر ۷۴
۲-۱۳-۲-۳- اندازه‌گیری غلظت فسفر عصاره‌های گیاهی به روش وانادومولیبدوفسفریک‌اسید ۷۴

۲-۱۳-۳- تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه و درصد وزیکول و هیف در ریشه‌های میکوریزی..... ۷۵
۲-۱۴- طرح آزمایشی و تجزیه آماری (آزمایش گلدانی) ۷۶

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- نحوه تندش اسپور قارچ AM..... ۷۷
۳-۲- نتایج آزمایش درون‌شیشه‌ای ۷۷
۳-۲-۱- درصد تندش اسپور قارچ AM ۷۷
۳-۲-۲- سرعت تندش اسپور قارچ AM ۷۹
۳-۲-۳- رشد طولی هیف قارچ AM ۸۰
۳-۲-۴- سرعت رشد طولی هیف قارچ AM..... ۸۲
۳-۳- بحث کلی آزمایش درون‌شیشه‌ای..... ۸۳
۳-۴- نتایج و بحث آزمایش گلدانی ۹۱
۳-۴-۱- خصوصیات خاک مورد آزمایش ۹۱
۳-۴-۲- درصد کلنیزاسیون..... ۹۲
۳-۴-۳- درصد هیف و وزیکول در ریشه میکوریزی..... ۹۷
۳-۴-۴- وزن تر و خشک بخش هوایی ۹۹
۳-۴-۵- وزن تر و خشک ریشه ۱۰۳
۳-۴-۶- غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه..... ۱۰۶
۳-۵- نتیجه گیری کلی ۱۱۰
۳-۶- پیشنهادات..... ۱۱۱
منابع..... ۱۱۲

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۱- مواد غذایی موجود در تره‌فرنگی ۵

جدول ۱-۲- املاح معدنی و ویتامین‌های موجود در تره‌فرنگی ۵

جدول ۲-۱- ترکیب محیط کشت MSR ۵۷

جدول ۲-۲- ترکیب محیط کشت جامد S.C.A برای تهیه یک لیتر از آن.....۶۳

جدول ۲-۳- ترکیب محیط کشت مایع S.C برای تهیه یک لیتر از آن ۶۹

جدول ۳-۱- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* و روش آزمایش بر درصد تندش اسپور قارچ AM ۷۸

جدول ۳-۲- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* و روش آزمایش بر سرعت تندش اسپور قارچ AM ۸۰

جدول ۳-۳- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* و روش آزمایش بر رشد طولی هیف قارچ AM ۸۱

جدول ۳-۴- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* و روش آزمایش بر سرعت رشد طولی هیف قارچ AM ۸۳

جدول ۳-۵- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش ۹۲

جدول ۳-۶- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* بر درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه تره‌فرنگی ۹۶

جدول ۳-۷- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* بر درصد هیف و وزیکول در ریشه میکوریزی تره‌فرنگی ۹۸

جدول ۳-۸- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM بر وزن تر و خشک بخش هوایی تره‌فرنگی ۱۰۲

جدول ۳-۹- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM بر وزن تر و خشک ریشه تره‌فرنگی ۱۰۵

جدول ۳-۱۰- تجزیه واریانس اثر گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM بر غلظت فسفر ریشه و بخش هوایی تره‌فرنگی ۱۰۸

جدول ۳-۱۱- همبستگی ساده (r) بین متغیرهای اندازه‌گیری شده ۱۰۹

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱- طبقه‌بندی قارچ‌های میکوریزی ۹

شکل ۱-۲- تصویرهایی از تندش اسپور قارچ *G.intraradices* از لومن اسپور ۱۰

شکل ۱-۳- تصویری از اپرسوریوم و نفوذ هیف به ریشه ۱۳

شکل ۱-۴- شمای کلی از ساختار قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ۱۴

شکل ۱-۵- الف) تصویر هیف‌های درون‌ریشه‌ای قارچ میکوریز آربوسکولار و ب) هیف‌های برون‌ریشه‌ای قارچ میکوریز آربوسکولار ۱۵

شکل ۱-۶- تصویری از آربوسکول قارچ میکوریز آربوسکولار ۱۶

شکل ۱-۷- تصویری از وزیکول قارچ میکوریز آربوسکولار ۱۶

شکل ۱-۸- تصویری از اسپور *G. mosseae* ۱۷

شکل ۱-۹- تصویری از سلول‌های کمکی قارچ میکوریز آربوسکولار ۱۸

شکل ۱-۱۰- تصویری از ساختار BAS در هیف‌های برون‌ریشه‌ای ۲۴

شکل ۱-۱۱- الف) آگزوفوران و ب) آنتی‌بیوتیک‌های WS-5995B و WS-5995C ۵۱

شکل ۲-۱- مراحل انجام کشت درون‌شیشه‌ای قارچ AM ۵۹

شکل ۲-۲- الف) کشت دو قطعه ریشه تراریخته هویج بر روی محیط MSR ب) ریشه‌های تراریخته رشد کرده در طول ۳ هفته ۶۰
شکل ۲-۳- مراحل انجام کشت همزمان ریشه تراریخته و اسپور تندش کرده قارچ AM ۶۱
شکل ۲-۴- تصویری از قارچ *G. intraradices* تکثیر شده به روش درون‌شیشه‌ای در مدت سه ماه در این آزمایش ۶۲
شکل ۲-۵- الف) تصویری از کلنیزاسیون نوک ریشه تراریخته و ب) هیف‌های درون‌ریشه‌ای قارچ *G. intraradices* تکثیر یافته به روش درون‌شیشه‌ای ۶۲
شکل ۲-۶- تصویر میکروکلنی‌های گونه‌های *Streptomyces* در این آزمایش ۶۴
شکل ۲-۷- روش آب‌آگار یک لایه‌ای ۶۷
شکل ۲-۸- روش آب‌آگار دو لایه‌ای ۶۷
شکل ۲-۹- قطعه ۲×۲ سانتی‌متری از ژل MSR حاوی ریشه‌های میکوریزی، هیف‌های برون‌ریشه‌ای و اسپورهای عاری از آلودگی جنبی ۶۹
شکل ۳-۱- تصویر نحوه تندش اسپور قارچ AM ۷۷
شکل ۳-۲- اثر گونه‌های *Streptomyces* بر درصد تندش اسپور قارچ *G. intraradices* ۷۸
شکل ۳-۳- اثر روش آزمایش بر درصد تندش اسپور قارچ *G. intraradices* ۷۹
شکل ۳-۴- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و روش آزمایش بر سرعت تندش اسپور قارچ *G. intraradices* ۸۰
شکل ۳-۵- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و روش آزمایش بر رشد طولی هیف قارچ *G.intraradices* ۸۲
شکل ۳-۶- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و روش آزمایش بر سرعت رشد طولی هیف قارچ *G.intraradices* ۸۳

شکل ۳-۷- تصاریری از تندش اسپور و رشد هیف قارچ *G. intraradices* در تیمار شاهد و تیمارهای کشت توأم با گونه‌های *Streptomyces* در روش آب‌آگار یک لایه‌ای.....۸۷-۸۸

شکل ۳-۸- تصاویری از تندش اسپور و رشد هیف قارچ *G. intraradices* در تیمار شاهد و تیمارهای کشت توأم با گونه‌های *Streptomyces* در روش آب‌آگار دو لایه‌ای ۸۹-۹۰

شکل ۳-۹- اثر گونه‌های *Streptomyces* بر درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه تره‌فرنگی ۹۶

شکل ۳-۱۰-تصویرهایی از ریشه تره‌فرنگی کلنیزه شده با قارچ *G. intraradices* در این آزمایش ۹۶

شکل ۳-۱۱- اثر گونه‌های *Streptomyces* بر درصد هیف ریشه میکوریزی تره‌فرنگی ۹۸

شکل ۳-۱۲- اثر گونه‌های *Streptomyces* بر درصد وزیکول ریشه میکوریزی تره‌فرنگی ۹۹

شکل ۳-۱۳- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM بر وزن تر بخش هوایی تره‌فرنگی ۱۰۲

شکل ۳-۱۴- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM بر وزن خشک بخش هوایی گیاه.....۱۰۳

شکل ۳-۱۵- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM بر وزن تر ریشه تره‌فرنگی ۱۰۵

شکل ۳-۱۶- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM بر وزن خشک ریشه تره‌فرنگی ۱۰۵

شکل ۳-۱۷- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM برغلظت فسفر بخش هوایی تره‌فرنگی ۱۰۸

شکل ۳-۱۸- اثر متقابل گونه‌های *Streptomyces* و قارچ AM برغلظت فسفر ریشه تره‌فرنگی.....۱۰۹

نام خانوادگی: پورمیرزائی سعدآباد **نام**: زهرا

عنوان پایان‌نامه: تأثیر گونه‌های *Streptomyces* برتندش اسپور قارچ میکوریز آربوسکولار و کلنیزاسیون ریشه گیاه تره‌فرنگی

استادان راهنما: دکتر ناصر علی اصغرزاد و دکتر علیرضا دهناد

استاد مشاور: دکتر نصرت اله نجفی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته**: خاکشناسی **گرایش**: بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

دانشگاه: تبریز **دانشکده**: کشاورزی **تاریخ فارغ التحصیلی**: ۱۳۹۰/۶/۱۹ تعداد **صفحه**: ۱۲۷

کلید واژه‌ها: میکروارگانیسم‌های محرک قارچ‌های AM، استرپتومایسس، متابولیت‌های محرک قارچ‌های AM، تندش اسپور، رشد هیف و تره‌فرنگی.

چکیده:

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM) از دیرباز به عنوان همزیست ریشه گیاهان در بهبود رشد آنها در شرایط فقر غذایی و تنش‌های محیطی، مؤثر شناخته شده است. علی‌رغم فواید بیشمار این همزیستی، تکثیر انبوه این قارچ‌ها به دلیل ماهیت اجباری این همزیستی، تاکنون در محیط‌های مصنوعی امکان‌پذیر نبوده و صرفاً در حضور ریشه زنده تکثیر می‌یابند. شواهدی وجود دارد که حضور برخی میکروارگانیسم‌ها از جمله اکتینومیست-ها یا برخی متابولیت‌های حاصل از آنها، تندش اسپور این قارچ‌ها و رشد هیف‌ها را تحریک می‌کنند. از ترکیبات مهمی که توسط برخی استرپتومایسس‌ها تولید شده و سبب بهبود کلنیزاسیون میکوریزی (اکتومیکوریزی و AM) می‌شود می‌توان به آگزوفوران، MIB (۲-متیل ایزوبورنئول)، ژئوسمین، دی‌اکسیدکربن، هورمون‌های محرک رشد و انواع ویتامین‌ها اشاره کرد. بدین منظور در یک آزمایش درون‌شیشه‌ای اثر سه گونه *Streptomyces* (*S. griseus*، *S.* sp و *S. albogriseus*) در دو روش آب‌آگار یک لایه‌ای و آب‌آگار دو لایه‌ای بر درصد و سرعت تندش اسپور و همچنین رشد طولی و سرعت رشد طولی هیف قارچ *Glomus intraradices* بررسی شد. سپس با استفاده از نتایج آزمایش درون‌شیشه‌ای، آزمایش دیگری به صورت گلدانی در یک خاک لوم‌شنی استریل با گیاه تره‌فرنگی به منظور بررسی اثر سه گونه *Streptomyces* بر درصد کلنیزاسیون میکوریزی و فراوانی اندام‌های قارچی (هیف و وزیکول) در ریشه، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی و غلظت فسفر ریشه و بخش هوایی گیاه تره‌فرنگی میکوریزی شده با قارچ *G. intraradices* انجام شد. در آزمایش

درون‌شیشه‌ای هر سه گونه *Streptomyces* درصد تندش اسپور قارچ AM را به طور معنی‌داری افزایش دادند. به طوری‌که درصد تندش اسپور از ۱۵ درصد در تیمار شاهد (بدون باکتری) به ۸۰، ۷۰ و ۵۳ درصد به ترتیب در کشت توأم با *S.* sp، *S. albogriseus* و *S. griseus* افزایش یافت. همچنین این سه گونه *Streptomyces* سرعت تندش اسپور قارچ AM را به طور معنی‌داری افزایش دادند ولی تنها دو گونه *S.* sp و *S. albogriseus* باعث افزایش معنی‌دار رشد طولی و سرعت رشد طولی هیف قارچ شدند. به طور کلی اثرات تحریکی استرپتومایسس‌ها در روش آب‌آگار یک لایه‌ای به طور معنی‌داری بیشتر از روش آب‌آگار دو لایه‌ای بود و این مطلب نشان دهنده اثر چشمگیرتر متابولیت‌های فرار حاصل از استرپتومایسس‌ها بر تحریک تندش اسپور و رشد هیف قارچ *G. intraradices* بود. در آزمایش گلدانی هر سه گونه *Streptomyces* نسبت به تیمار شاهد (بدون باکتری) باعث افزایش معنی‌دار درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه گردید ($p<۰/۰۱$). این افزایش در گونه *S.* sp، ۶۳/۰۱، در گونه *S. albogriseus*، ۵۶٫۹۱ و در گونه *S. griseus*، ۳۲٫۲۷ درصد بود. همچنین فراوانی اندام‌های قارچی ریشه‌های میکوریزی تره‌فرنگی در تلقیح توأم با هر سه گونه *Streptomyces* به طور معنی‌داری افزایش یافت. تلقیح ریشه‌های میکوریزی تره‌فرنگی با هر سه گونه *Streptomyces* وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی و غلظت فسفر ریشه و بخش هوایی گیاه را به طور معنی‌داری افزایش داد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان به نقش ارزشمند گونه‌های *Streptomyces* در تکثیر قارچ‌های میکوریزی در محیط‌های مصنوعی و طبیعی و افزایش پتانسیل مایه‌تلقیح‌های قارچی و در نتیجه بهبود رشد و عملکرد گیاهان میکوریزی اشاره نمود.

مقدمه

یکی از ارکان مهم در نیل به کشاورزی پایدار، استفاده از روش‌های بیولوژیک در تولید محصولات کشاورزی است. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM) از دیرباز به عنوان همزیست ریشه گیاهان در بهبود رشد آنها در شرایط فقر غذایی و تنش‌های محیطی، مؤثر شناخته شده است. ماهیت همزیست اجباری قارچ‌های AM با ریشه گیاهان مانع مطالعات دقیق فیزیولوژیکی و ژنتیکی این ارگانیسم‌ها در شرایط آزمایشگاه می‌شود. بنابراین، برای بررسی تأثیر همزیستی میکوریزی بر شاخص‌های رشدی گیاه و همچنین تکثیر قارچ‌های AM از اسپورهای تندش یافته[1] این قارچ‌ها برای تلقیح در ریشه گیاهان میزبان استفاده می‌شود (تیلکا و همکاران، ۱۹۹۱). هر چند تندش[2] اسپور قارچ‌های AM در شرایط آزمایشگاهی و همچنین شرایط طبیعی خاک فرآیندی غیرقابل‌پیش‌بینی، آهسته و گاه غیرممکن است و حتی احتمال دارد چندین ماه طول بکشد (مایو و همکاران، ۱۹۸۶؛ ویلسون و همکاران، ۱۹۸۹)، عامل‌های بیولوژیکی و غیربیولوژیکی متعدد از قبیل غلظت عناصرمعدنی، ویتامین‌ها، تهویه، نور، رطوبت، pH، دما، ترشحات ریشه‌ای، ترکیب محیط کشت و همچنین شرایط خود اسپورها، زمان نگهداری آنها و غیره تندش اسپور قارچ‌های AM را در محیط آزمایشگاهی و محیط طبیعی خاک تحت تأثیر قرار می‌دهند (سیکویرا و همکاران، ۱۹۸۵). بنابراین با افزایش سرعت و مقدار تندش اسپور قارچ‌های AM و رشد و توسعه میسیلیوم‌های قارچی می‌توان پتانسیل مایه‌تلقیح قارچ‌های AM را افزایش داد و در نتیجه عملکرد گیاهان میکوریزی را بهبود بخشید. برای این منظور به یک عامل محرک جهت تحریک تندش اسپورها و رشد هیف‌ها نیاز است. با توجه به اینکه برخی از میکروارگانیسم‌های ریزوسفری خاک در برهمکنش با قارچ‌های AM، با تولید متابولیت‌های ویژه خود باعث تحریک و یا بازدارندگی تندش اسپور این قارچ‌ها می‌شوند (تیلکا و همکاران، ۱۹۹۱؛ جوهانسون و فینای، ۲۰۰۴؛ فری-کلیت و همکاران، ۲۰۰۵)، شناخت برهمکنش‌های مثبت بین میکروارگانیسم‌های خاک و قارچ‌های AM پراهمیت می‌باشد. نتایج تحقیقات در این زمینه نشان می‌دهد که گروهی از

[1]- Pregerminated spores

[2]- Germination

باکتری‌های مایکوریزوسفری[1] مانند گونه‌هایی از سودوموناس‌ها، باسیلوس‌ها و باکتری‌های *Burkholderia*، *Rhodococcus*، *Arthrobacter*، *Azosprillum*، *Bradyrhizobium*، *Agrobacterium*، اکتینومیست‌ها و غیره باعث تحریک تندش اسپور و رشد هیف قارچ‌های میکوریزی و توسعه همزیستی‌های میکوریزی در ریشه گیاهان میزبان می‌شوند (شارما، ۲۰۰۸). این باکتری‌های کمک کننده قارچ‌های میکوریزی را باکتری‌های MHB[2] می‌نامند (گاربای، ۱۹۹۴).

استرپتومایسس‌ها که از مهمترین و فراوان‌ترین اکتینومیست‌های موجود در خاک هستند، بواسطه توانایی‌های ویژه خود از قبیل تولید متابولیت‌های متنوع مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، ویتامین‌ها، هورمون‌های محرک رشد گیاه و بخصوص تولید انواعی از متابولیت‌های محرک تندش اسپور و رشد هیف قارچ‌های میکوریزی در حضور و عدم حضور ریشه، به نظر می‌رسد برخی از گونه‌های آنها از مهمترین باکتری‌های MHB باشند که باعث تحریک تندش اسپور قارچ‌های اکتومیکوریزی و AM شده و منجر به افزایش کلنیزاسیون میکوریزی ریشه‌های میزبان می‌شوند (پول و همکاران، ۲۰۰۱).

نکته قابل توجه این است که باکتری‌های MHB گذشته از اینکه باعث تحریک رشد میسیلیوم‌های قارچ‌های میکوریزی و تشکیل همزیستی‌های میکوریزی در ریشه گیاهان میزبان می‌شوند، پتانسیل قارچ‌های میکوریزی را در افزایش توانایی گیاه میزبان در جذب آب، فسفر، نیتروژن و سایر عناصر معدنی بخصوص از منابع غیرقابل دسترس، کنترل بیولوژیکی بیماری‌های گیاهی، مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و غیره به طور قابل توجهی افزایش می‌دهند (تارکا و فری-کلیت، ۲۰۰۸).

از آنجا که گونه‌های متفاوت استرپتومایسس‌های جداسازی شده از خاک، در تلقیح با ریشه‌های گیاهان میکوریزی اثرات متفاوتی خواهند داشت، لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر سه گونه *Streptomyces*. sp، *S. griseus* و *S. albogriseus* بر درصد و سرعت تندش اسپور و رشد و سرعت رشد هیف قارچ *Glomus intraradices* در شرایط درون‌شیشه‌ای و پی بردن به نوع متابولیت‌های محرک

[1]- Mycorrhizosphere

[2]- Mycorrhiza helper bacteria

احتمالی حاصل از آنها و تأثیر این استرپتومایسس‌ها بر کلنیزاسیون میکوریزی ریشه تره‌فرنگی و شاخص‌های رشدی گیاه انجام شد.

بررسی منابع

۱- ۱- گیاه تره‌فرنگی

۱-۱-۱- تاریخچه

تره‌فرنگی بومی نواحی غربی دریای مدیترانه است و در رم قدیم از آن استفاده می‌شد. در صورتی که برخی از دانشمندان آن را بومی شرق دریای مدیترانه می‌دانند. تره‌فرنگی در قرون وسطی به اروپا راه یافت و توسط مهاجرین اولیه اروپایی به شمال آمریکا برده شد (پیوست، ۱۳۸۱). در سال‌های اخیر، این گیاه در مناطقی از ایران، بخصوص در جنوب کشور کشت می‌شود.

۱-۱-۲- خصوصیات گیاه‌شناسی

تره‌فرنگی (*Allium ampeloprasum* L.var. porrum.) جزء سبزی‌های پیازی از دسته گیاهان تک لپه‌ای متعلق به خانواده Liliaceae و جنس *Allium* است و به طور معمول آن را Leek نامند. گیاهی تتراپلوئید و دو ساله است. محور ساقه آن مانند پیاز کوتاه ولی برخلاف آن به جای پیاز تولید ساقه دراز سفید رنگی نموده که با مقداری از برگ‌های سبز و نسبتاً پهن آن مورد استفاده غذایی قرار می‌گیرد و مقدار زیادی ریشه‌های ظریف به رنگ سفید تولید می‌کند که زمین را برای کشت گیاه بعدی به خوبی آماده می‌سازد. این گیاه رابطه تنگاتنگی با سایر گیاهان خانواده Liliaceae نظیر پیاز خوراکی و سیر دارد (پیوست، ۱۳۸۱ و وینسنت و یاماگوچی، ۱۹۹۷).

۱-۱-۳- اهمیت غذایی

تره‌فرنگی یکی از مهمترین سبزی‌های معطر است. مواد آلی گوگرددار باعث طعم ویژه آن شده که همراه با سایر مواد آلی روی اندام‌های گوارشی تأثیر خوبی دارد. کاروتین و ویتامین E موجود در آن بر اهمیت غذایی آن نیز می‌افزاید (جدول‌های ۱-۱ و ۱-۲). طعم و مزه این گیاه مربوط به مواد معدنی (به ویژه پتاسم)، ویتامین‌ها و روغن‌های اتری (آللیل) است (پیوست، ۱۳۸۱). مصرف خام تره‌فرنگی به تنهایی و یا همراه با سایر سبزی‌ها در سالاد و به صورت پخته در غذاهای مختلف در سراسر دنیا به ویژه کشورهای اروپایی معمول است (وینسنت و یاماگوچی، ۱۹۹۷).

جدول ۱-۱- مواد غذایی موجود در تره‌فرنگی (گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) (ووگل، ۱۹۹۶)

آب	پروتئین	چربی	کربوهیدرات	سلولز
۸۹	۲٫۲	۰٫۳	۳٫۲	۲٫۳

جدول ۱-۲- املاح معدنی و ویتامین‌های موجود در تره‌فرنگی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) (ووگل، ۱۹۹۶)

کلسیم	فسفر	آهن	منیزیم	پتاسیم	ویتامین آ	تیامین	ریبوفلاوین	نیاسین	ویتامین ث
۸۵	۴۵	۱	۱۸	۲۲۵	۰٫۰۲	۰٫۱	۰٫۰۶	۰٫۵۳	۳

۱-۱-۴- خصوصیات مورفولوژیکی گیاه تره‌فرنگی

بذر: بذرهای این گیاه عمدتاً به رنگ قهوه‌ای تیره یا سیاه می‌باشند. بذرهای سالم معمولاً دارای ۲۷ درصد پروتئین، ۱۵ درصد چربی و فاقد نشاسته هستند (شکاری و همکاران، ۱۳۸۵). وزن هزار بذر بین ۲/۲ تا ۳/۷۵ گرم متغیر است. حداقل قوه نامیه آنها ۶۵ درصد می‌باشد و برای مدت ۲ تا ۴ سال می‌توانند قوه نامیه خود را حفظ کنند. حداقل رطوبت ۲۵ درصد بالای نقطه پژمردگی برای جوانه‌زنی بذر این گیاه ضروری است. حداقل دمای جوانه‌زنی ۱/۷ درجه سلسیوس و محدوده دمایی قابل کاربرد برای جوانه‌زنی ۳ تا ۱۷ درجه سلسیوس می‌باشد (پیوست، ۱۳۸۱).

ریشه: ریشه‌های این گیاه معمولاً سفید رنگ، ظریف و بسیار منشعب هستند. ریشه‌ها سطحی و تا عمق ۶۷ سانتی‌متری و یا بیشتر در خاک فرو می‌روند. بنابراین نیاز آبی گیاه بالا بوده و با دور کمتری آبیاری می‌شود. ریشه‌های فرعی در محدوده وسیعی از خاک توزیع می‌گردند (پیوست، ۱۳۸۱).

برگ‌ها: تره‌فرنگی دارای برگ‌های پهن، مسطح، بلند و V شکل است. به طور کلی این گیاه جثه بزرگتری نسبت به پیاز خوراکی دارد. برگ‌ها از مریستم انتهایی ساقه اصلی تشکیل می‌شوند و به طور متناوب در ردیف‌های مقابل به صورت قائم یکی در بالای دیگری رشد می‌کنند بطوریکه برگ‌های تازه رشد کرده به صورت قائم قرار گرفته و برگ‌های مسن‌تر به سمت پائین واژگون می‌شوند. در نهایت

تره‌فرنگی با توسعه برگ‌های خارجی به طور پیوسته رشد می‌نماید. ارتفاع گیاه بین ۴۰ تا ۷۵ سانتی‌متر متغیر است (وینسنت و یاماگوچی، ۱۹۹۷).

گل: این گیاه گل‌هایی به رنگ سفید تولید می‌کند. روزهای بلند و دماهای پائین (۱۲ تا ۱۵ درجه سلسیوس) گل‌دهی تره‌فرنگی را افزایش می‌دهند (پیوست، ۱۳۸۱). دمای بالای ۱۸ درجه سلسیوس مانع گل‌دهی این گیاه می‌شود (وینسنت و یاماگوچی، ۱۹۹۷).

۱-۱-۵- شرایط آب و هوایی

تره‌فرنگی گیاهی سازگار به انواع مختلف شرایط آب و هوایی است زیرا به علت سیستم ریشه‌ای کم‌عمق، منشعب و گسترده خود قادر است آب و عناصر غذایی مورد نیاز خود را به آسانی از خاک جذب کند (وینسنت و یاماگوچی، ۱۹۹۷). همچنین این گیاه قادر است برای برطرف کردن شرایط محیطی نامناسب، بذر یا قسمتی از بذر خود را در یک دوره استراحت قرار دهد (پیوست، ۱۳۸۱). تره‌فرنگی در خاکهای نیمه سنگین تا نیمه سبک با هوموس کافی عملکرد خوبی دارد. خاکهای سبک‌تر را نسبت به خاکهای سنگین‌تر ترجیح می‌دهد. درهر صورت زمینی که در آن تره‌فرنگی کشت می‌گردد باید همواره مرطوب باشد. در صورت خشکی خاک به آبیاری مصنوعی نیاز است زیرا نیاز آبی این سبزی بالاست. تره‌فرنگی را می‌توان در هر نوع آب و هوایی کشت نمود ولی تجربه نشان داده است که در آب و هوای معتدل بهترین نتیجه را می‌دهد. مقاومت تره‌فرنگی به دمای پایین و عدم نیاز آن به فتوپریود، کشت آن را در اقصی نقاط دنیا فراهم کرده است. پائین‌ترین دمای متحمل شده توسط تره‌فرنگی ۱۰- درجه سلسیوس گزارش شده است. این گیاه مقاوم به یخبندان بوده و زمستان‌گذرانی خوبی دارد. روند رشد و نمو تره‌فرنگی برعکس پیاز زیاد تابع شرایط آب و هوایی نیست ولی شرایط جوانه‌زنی آن شبیه پیاز است. این گیاه حساس به دمای بالا است. مناسب‌ترین دما برای رشد رویشی آن بین ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس است ولی در محدوده دمایی ۷ تا ۳۰ درجه سلسیوس قادر به رشد می‌باشد. در بعضی ارقام دمای ۲۴ درجه سلسیوس جوانه‌زنی و رشد آن را به تأخیر می‌اندازد. استفاده از کودهای تازه دامی خسارات ناشی از مگس پیاز (*Hylemya antiqua*) را به دنبال دارد. بنابراین تره‌فرنگی در زمینی کشت می‌گردد که یکسال

قبل به آن کود دامی داده باشند. این گیاه نسبت به کمبود مواد غذایی بسیار حساس است و باید قبل از کشت با توجه به مقدار عناصر غذایی موجود در خاک، مقدار کود شیمیایی مورد نیاز را تأمین نمود. معمولاً حدود ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن (در سه مرحله)، ۱۰۰ کیلوگرم P_2O_5 و ۳۰۰ کیلوگرم K_2O در یک هکتار مصرف می‌شود. مقدار محصول در واحد سطح بسته به شرایط آب و هوا، خاک و نوع زراعت منطقه حدود ۲۰ تا ۳۵ تن در هکتار است (پیوست ،۱۳۸۱).

۱-۲- همزیستی میکوریزی

ریشه‌های اکثر گیاهان سالم، در هر دو حالت طبیعی و کشت شده، ذاتاً با یک یا چند گونه قارچ میکوریزی در ارتباط همزیستی هستند، به این ریشه‌های آلوده به قارچ، میکوریز گفته می‌شود (جکسون و ماسون، ۱۹۸۴). واژه میکوریزا (جمع میکوریز، به معنی قارچ‌ریشه) به همزیستی بین ریشه گیاهان و میسیلیوم‌های قارچی اطلاق می‌گردد (آستارایی و کوچکی، ۱۳۷۵). این واژه برای اولین بار توسط فرانک[1] در سال ۱۸۸۵ میلادی به مشارکت بین قارچ و ریشه گیاهان عالی اطلاق گردید. در این مشارکت برخلاف حالت حمله قارچ‌های بیماری‌زا، اندام‌های قارچی وارد سیتوپلاسم سلول‌های پوست ریشه نمی‌شوند و هیچ نوع علامت بیماری مشاهده نمی‌گردد، بلکه با ایجاد روابط همزیستی، بهره مشترک نیز می‌برند (مستأجران و ضوئی، ۱۳۸۵). در مورد گیاهان تثبیت کننده نیتروژن، روابط همزیستی سه جانبه است برای نمونه لگوم متشکل از قارچ‌های میکوریز، گیاهان میزبان و *Rhizobium* می‌باشد (علی‌اصغرزاده، ۱۳۷۶). این همزیستی میکوریزی از رایج‌ترین و قدیمی‌ترین ارتباط‌های همزیستی در سلسله گیاهی است به طوری که اکثر گیاهان (حدود ۹۵ درصد از گونه‌های گیاهان آوندی) حداقل یکی از تیپ‌های میکوریزی را دارا هستند (صالح راستین، ۱۳۷۷). از زمان ظهور گیاهان آوندی در روی زمین، اندام‌های قارچ‌های میکوریزی همواره در ریشه این گیاهان حضور فعال داشته‌اند (فورتین و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعات نشان می‌دهد که حدود ۴۰۰×۱۰^{۶} سال پیش ساختارهای قارچی مشابه گلوموس‌ها در ریشه گیاهان آوندی حضور داشته‌اند (فورتین و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد که همزیستی با قارچ

[1]- Frank