نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، ص. ۲۶۴-۲۵۴

Journal of Agroecology
Vol. 3, No. 2, Summer 2011, p. 254-264

تأثیر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در تغییرات فیتوهورمونی سویا (*Glycine max* L.) با کاربرد انواع قارچ‌کش‌های نانو، بیولوژیک و شیمیایی

سیده مریم سیفی*[۱]، علی کاشانی[۲]، محمد رضا اردکانی[۳]، فرهاد رجالی[۴]، مهدیه تیماج‌چی[۱] و مریم عباسیان[۱]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۸/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۱/۱۷

چکیده

به منظور بررسی واکنش قارچ‌های میکوریزا به انواع قارچ‌کش و تغییر تعادل هورمونی گیاه سویا (*Glycine max* L.)، آزمایشی در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار با دو عامل شامل انواع قارچ‌کش‌ها در چهار سطح: شیمیایی، نانوسیلور، بیولوژیک (*Bacillus subtilis*) و عدم مصرف، سه گونه قارچ میکوریزا شامل *G. mosseae*، *G. etunicatum* و *G. intraradices* و عدم مصرف به عنوان شاهد انجام گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، دو عامل قارچ‌کش وگونه‌های قارچ میکوریزا تأثیر معنی‌دار بر میزان هورمون‌های جیبرلین، اکسین و سیتوکنین و درصد کلونیزاسیون ریشه نشان دادند ($p\leq$۰/۰۱). اثر متقابل قارچ‌کش و میکوریزا در تغییر هورمون‌ها نیز معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود. در تلقیح سویا با هر سه گونه قارچ‌های میکوریزا اکسین، جیبرلین و سیتوکنین افزایش قابل توجهی نسبت به شاهد نشان دادند. درصدکلونیزاسیون نیز با تلقیح گونه *G. intraradices* نسبت به شاهد ۳۵/۳۳ درصد افزایش یافت. با کاربرد انواع قارچ‌کش‌ها سطح هورمون‌ها کاهش معنی‌دار در مقایسه با شاهد نشان داد. کاربرد باکتری *Bacillus subtilis* به عنوان قارچ‌کش بیولوژیک، سبب کاهش کلونیزاسیون ریشه به میزان ۴۴/۱۲ درصد در مقایسه با شاهد شد. با کاربرد هر یک از انواع قارچ‌کش‌ها و تلقیح توام با گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا، غلظت هورمون‌ها کاهش یافت. که ناشی از اثر سوء قارچ‌کش‌ها بر همزیستی میکوریزایی است. با این وجود، گونه *G. intraradices* بیشترین مقاومت را در برابر قارچ‌کش بیولوژیک نشان داد و سطح سیتوکنین در این ترکیب تیماری نسبت به تیمار تلقیح این گونه وعدم مصرف قارچ‌کش دو درصد افزایش داشت. مقدار هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکنین با تلقیح گونه *G. etunicatum* و مصرف قارچ‌کش بنومیل به ترتیب با ۵۳/۵۸، ۶۳ و ۸۵/۲۳ درصد کاهش در مقایسه با تیمار تلقیح این گونه و عدم مصرف قارچ‌کش در پایین‌ترین سطح بود. با کاربرد قارچ‌کش نانوسیلور، گونه *G. mosseae* حساسیت بیشتری را در مقایسه با دو گونه دیگر نسبت به این قارچ‌کش نشان داد. در کل، سنتز فیتوهورمون‌ها در گیاه که به واسطه همزیستی با قارچ میکوریزا تحریک می‌گردد، تحت تنش کاربرد قارچ‌کش‌ها به شدت کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: اکسین، جیبرلین، سیتوکنین،کلونیزاسیون، نانوسیلور

مقدمه

همزیستی میکوریزایی در اکوسیستم‌های طبیعی و کشاورزی به طور گسترده‌ای وجود دارد. پاسخ رشدی گیاه میزبان به همزیستی میکوریزایی ممکن است بسیار قابل توجه باشد، اما تغییرات فیزیولوژیکی مؤثر بر این پاسخ‌ها نسبتاً ناشناخته مانده‌اند (Wayman, 1980). هورمون‌های گیاهی به عنوان سیگنال‌های مولکولی در طول استقرار همزیستی میکوریزایی ایفای نقش می‌کنند (Barker & Tagu, 2000). روابط پیچیده بین ریشه میزبان و قارچ میکوریز آرباسکولار نیاز به تغییر دائم در علائم و سیگنال‌هایی دارد که به نوبه خود تغییرات متابولیکی و نموی را در این رابطه دو جانبه تنظیم می‌کند (Gianinazii-pearson, 1996). بررسی‌ها نشان داده است که قارچ‌های میکوریزا قادر به تولید و آزادسازی هورمون‌های گیاهی از جمله سیتوکنین‌ها می‌باشند که می‌توانند بر رشد گیاهان تأثیر بگذارند و این تأثیر مستقل از اثر این همزیستی روی جذب عناصری مانند فسفر است (Hajiboland et al., 2005). در اثر تلقیح قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار، انتقال مواد فتوسنتزی از اندام هوایی میزبان به سمت ریشه‌ها افزایش می‌یابد. در واقع اندام‌های قارچ به عنوان مخزن دریافت کربوهیدرات‌های فتوسنتزی گیاه عمل کرده که سبب تحریک فعالیت فتوسنتزی به میزان بیشتری می‌گردد که این

۱، ۲، ۳ و ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، استاد مرکز تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور
(*- نویسنده مسئول: (E-mail: maryamseafy@yahoo.com

خود به دلیل افزایش تولید هورمون جیبرلین در گیاه میزبان است (Demir, 2004). اسلنکیز (Slankis, 1973) بیان کرد که تغییرات رشدی گیاه می‌تواند به دلیل تولید فیتوهورمون‌های ترشحی توسط قارچ‌های اکتومیکوریزایی باشد. آلن و همکاران (Allen et al. 1980) گزارش کردند که میزان سیتوکنین در ریشه و برگ‌های گیاه *Bouteloud gracilis* تلقیح شده با میکوریزا افزایش یافت. آلن و همکاران (Allen et al., 1982)، افزایش معنی‌دار در جذب فسفر و آب و فتوسنتز را در گیاه *Bouteloud gracilis* مربوط به اثر همزیستی میکوریزا می‌دانند که بسیاری از این پاسخ‌ها توسط تغییر سطح هورمون‌ها تنظیم می‌شود. در آزمایشی نشان داده شد که غلظت سیتوکنین در گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا افزایش می‌یابد (Tagu & Barker, 2000). در همزیستی تنباکو (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc) با قارچ میکوریزا گونهٔ *Glomus intraradices* دیده شد که غلظت جیبرلین و سیتوکنین تغییر می‌کند (Shaul-Keinan et al., 2002). درآزمایشی نشان داده شد که در یونجه (*Medicago sativa* cv. Aragon) غیر میکوریزایی غلظت هورمون سیتوکنین بالاست، ولی در مواجه با تنش خشکی، مقدار آن به شدت در گیاه کاهش می‌یابد. در حالی که میزان این هورمون در گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا در شرایط تنش خشکی حفظ می‌گردد (Goicoechea et al.,1995). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که در ریشه‌های جوان گیاه *Arabidopsis thaliana* همزیست شده با قارچ میکوریزا، میزان هورمون اکسین بالا می‌باشد، ولی با افزایش سن ریشه گیاه تلقیح شده با قارچ میکوریزا میزان اکسین کاهش می‌یابد که بیانگر اثر قارچ میکوریزا در تبدیل ایندول تری استیک اسید[1] (IAA) به ترکیبات غیرفعال است (Vadossery et al., 2008). در سویا (*Glycine max* L.) سطح ایندول تری استیک اسید در ریشه‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز آرباسکولار نسبت به شاهد بالاتر بود (Meixner et al., 2005). اکسین شکل‌گیری ریشه را کنترل می‌کند و خاصیت ارتجاعی دیواره سلولی را افزایش می‌دهد و تمامی این فعالیت‌ها بر شکل‌گیری و اثرات همزیستی میکوریزا مؤثر است. با روش‌های زیست‌سنجی مشخص شده است که عصاره حاصل از کشت خالص قارچ میکوریزا گونه *G. mosseae* حاوی ترکیبات هورمونی جیبرلین، اکسین و سیتوکنین است. نتایج این آزمایشات در واقع پاسخی به این سئوال بود که بخشی از ترکیبات هورمونی نظیر سیتوکنین ناشی از فعالیت میکوریزا می‌باشد (Barea et al., 1982). با برقراری همزیستی میان گیاه و قارچ میکوریزا تعادل هورمونی جدیدی در پاسخ به همزیستی در گیاه ایجاد می‌شود که این تغییر در تعادل هورمونی جهت تنظیم کلونیزاسیون قارچی برای گیاه ضروری است (Shaul-Keinan et al., 2002). با گسترش کلونیزاسیون قارچ و رشد هیف‌های آن، جذب عناصر و انتقال آنها از خاک به سمت ریشه‌های میزبان افزایش می‌یابد. در این صورت می‌توان انتظار افزایش عملکرد دانه در گیاه را نیز داشت. برخی عوامل نظیر قارچ‌کش‌ها بر متابولیسم گیاه از طرق مختلف اثر می‌گذارند و با تغییر ترشحات ریشه‌ای رابطه همزیستی میکوریزایی با گیاه نیز دستخوش تغییر می‌شود (Hause et al., 2007). عوامل تنش‌زا مانند، تنش خشکی و کاربرد قارچ‌کش‌ها که بر کلونیزاسیون قارچی مؤثرند و می‌توانند ریشه گیاه همزیست را نیز تحت تأثیر قرار دهند، احتمالاً بر تعادل هورمونی گیاه اثرگذار می‌باشند. لذا به منظور بررسی تغییرات هورمونی در اثر کاربرد قارچ‌کش‌ها بر کارایی همزیستی میکوریزایی و واکنش رشدی گیاه سویا آزمایشی مزرعه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی کرج واقع در ماهدشت اجراء شد. عامل اول شامل انواع قارچ‌کش‌ها در چهار سطح شاهد (F_0)، شیمیایی (بنومیلF_1)، نانوسیلور (F_2) و بیولوژیک (F_3) (*Bacillus subtilis*) و عامل دوم شامل قارچ میکوریزا در چهار سطح شاهد (M_0)، *Glomus mosseae* (M_1) و *G. etunicatum* (M_2) و *G. intraradices* (M_3) در نظر گرفته شد. قبل از آماده سازی زمین از عمق ۳۰cm-۰ خاک و برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه‌برداری مرکب انجام گرفت. بافت خاک لوم – شنی با pH=۷/۵ بود. نیتروژن به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع اوره، فسفات به مقدار نصف میزان توصیه شده، ۷۵ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپرفسفات تریپل و پتاسیم به میزان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سولفات پتاسیم، براساس نتایج آزمون خاک، در سطح مزرعه توزیع گردید. هرکرت آزمایشی شامل چهار ردیف کشت سویا به فاصله ۰/۵ و طول شش متر بود. قارچ‌های میکوریزا مورد استفاده در این تحقیق از اراضی گندم دیم کشور جداسازی و در ماسه استریل به مدت چهار ماه در کشت گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) در موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تکثیر و تولید گردید و به میزان دو گرم از زاد مایه (شامل ماسه به عنوان حامل، ریشه آلوده گیاه سورگوم، هیف قارچی و اسپور) به گونه‌ای که به ازای هر بذر ۲۰۰-۱۵۰ اندام فعال قارچ در نظر گرفته شد و در شیارهای مخصوص کاشت بذر در عمق چهار سانتی‌متری قرارداده شد. قارچ‌کش بنومیل (F_1) با غلظت یک در هزار و قارچ‌کش بیولوژیک (F_3) با نام تجاری بیوسوبتیل حاوی باکتری *Bacillus subtilis* به میزان سه درصد در هر لیتر با غلظت دو در هزار و قارچ‌کش نانو (F_2) به صورت کلوئید ۲۰۰۰ لیتری حاوی چهار گرم نانو ذرات نقره در هر لیتر با غلظت ۶۰ppm (میلی‌گرم در کیلوگرم) تهیه و به صورت مصرف بذری، برای هر تیمار جداگانه محاسبه و توسط آب فشان با بذور در سایه کاملاً آغشته گردید. کاشت بذر سویا رقم ویلیامز به صورت دستی با ایجاد

1- Indol-3-acetic acid (IAA)

شیار بر روی پشته در ۲۷ اردیبهشت انجام گرفت. بوته‌ها به فاصله پنج سانتی‌متر روی ردیف در مرحله V_1 و V_2 تنک شدند. کود سرک به میزان ۵۰ و ۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار از منبع اوره در دو نوبت در سطح مزرعه توزیع شد. جهت نمونه برداری برای اندازه‌گیری هورمون‌ها در مرحله گلدهی (R_2) از دو خط وسط هر کرت با حذف یک متر حاشیه، دو بوته به طور تصادفی انتخاب و با ریشه از خاک خارج شد. بوته‌ها به تفکیک ریشه و اندام هوایی داخل کیسه پلاستیکی گذاشته و اتیکت‌گذاری گردید. بلافاصله نمونه‌ها به داخل یخدان منتقل و به آزمایشگاه ارسال شد. جهت تعیین غلظت هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکنین در برگ گیاه از دستگاه کروماتوگرافی مایع[1] (HPLC) استفاده و به روش ایزوکراتیک جداسازی انجام شد. این کار طبق روش شنگجی و مینگیو–دینگ (Shengjie & Mingyu-Ding, 2008) انجام گرفت. برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه در مرحله گلدهی که کلونیزاسیون قارچی به بالاترین سطح می‌رسد نمونه‌برداری صورت گرفت، بعد از آبیاری و رسیدن به ظرفیت زراعی از دومین خط هر کرت با حذف حاشیه، پنج بوته به طور تصادفی انتخاب و پروفیلی به ابعاد ۳۰ سانتی‌متر اطراف ریشه زده شد. خاک اطراف ریشه‌ها به خوبی شسته شد و از پنج بوته هر تیمار از نقاط مختلف سیستم ریشه‌ای، ریشه‌های موئین جدا شد و جهت رنگ آمیزی آنها محلول ۱۰ درصد هیدروکسید پتاسیم (KOH) به آن افزوده و در اتوکلاو با فشار ۱۵ atm و دمای ۱۲۱سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه قرار داده شد. پس از سرد شدن ریشه‌ها، ۸–۶ مرتبه با آب مقطر شسته شدند. عملیات رنگبری با آب اکسیژنه قلیائی به مدت ۱۵ دقیقه صورت پذیرفت، بعد از ۵–۴ بار آبکشی، جهت اسیدی کردن، ریشه‌ها درون محلول اسید کلریدریک (HCl) یک درصد به مدت سه دقیقه فرو برده شد. پس از خالی کردن اسید کلریدریک، ریشه را با محلول رنگ‌آمیزی تریپان بلو با غلظت یک درصد به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه آغشته کرده، سپس ریشه‌ها از رنگ خارج و در محلول لاکتوگلیسرول بدون رنگ غوطه‌ور شد تا رنگ اضافی خارج گردد (Philips & Hyman, 1970). برای تعیین کلونیزاسیون ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شد و ۵۰ قطعه بر روی پتری دیش مشبک شده به ابعاد یک سانتی‌متری به طور تصادفی پخش و با روش Gridline Intersect Method درصد کلونیزاسیون ریشه اندازه‌گیری شد (Giovannetti & Mosse, 1980). تجزیه آماری توسط نرم افزار SAS ver. 9.1 و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر قارچ‌کش‌ها بر درصد کلونیزاسیون ریشه و هورمون‌های رشدی (اکسین، جیبرلین و سیتوکنین) معنی‌دار بود ($p\leq$۰/۰۱). اثر متقابل قارچ‌کش و میکوریزا بر میزان فیتوهورمون‌ها ($p\leq$۰/۰۱) معنی‌دار بود. در حالی که این اثر بر درصد کلونیزاسیون معنی‌دار نبود. میان گونه‌های مختلف قارچ میکوریز نیز اختلاف معنی‌دار از نظر درصد کلونیزاسیون ریشه و میزان فیتوهورمون‌ها مشاهده گردید ($p\leq$۰/۰۱) (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر قارچ میکوریزا و انواع قارچ‌کش بر صفات مورد مطالعه در سویا

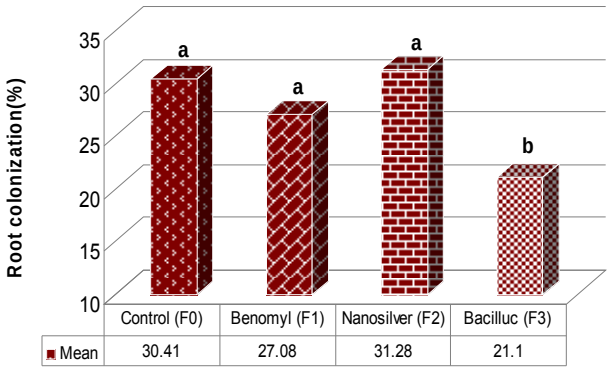
Table 1- Analysis of variance (mean of squares) for mycorrhiza fungi and fungicides on studied traits in soybean

منابع تغییرات S.O.V.	میانگین مربعات MS				
	درجه آزادی df	کلونیزاسیون Colonization	اکسین AX	جیبرلین GA	سیتوکنین CK
بلوک Block (R)	3	28.30 ns	5.140 ns	5.540 ns	1.52 ns
میکوریزا Mycorrhiza (M)	3	256.34**	9626.84**	1135.12**	1347.10**
قارچ‌کش Fungicide (F)	3	340.57**	25886.93**	4099.50**	5671.22**
میکوریزا × قارچ‌کش M×F	9	74.41 ns	831.98 **	112.12**	255.38**
خطای آزمایش Error (E)	45	54.88	47.59	6.49	2.57
ضریب تغییرات C.V. (%)	-	26.96	2.53	2.41	1.72

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار

*,** and ns are significant at 5 and 1% probability levels and non-significant, respectively.

1- High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

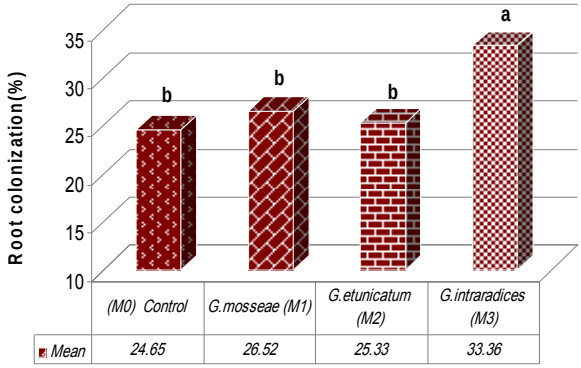


شکل ۱- اثر قارچ کش بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سویا

Fig. 1- Effect of fungicide on soybean root colonization

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.



شکل ۲- اثر قارچ میکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سویا

Fig. 2- Effect of mycorrhiaz fungicide on soybean root colonization

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

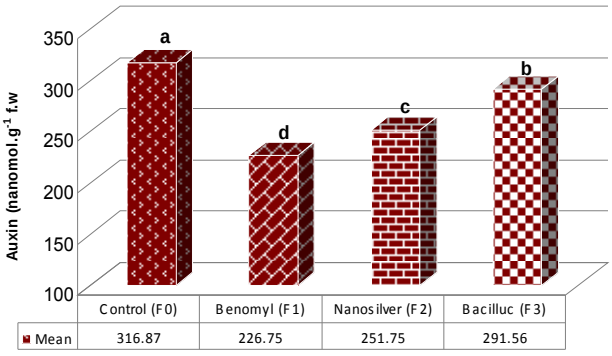
Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

الف) اثر قارچ میکوریزا و قارچ‌کش بر درصد کلونیزاسیون ریشه سویا

در بررسی گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا (شکل ۱) نشان داده شد که درصد کلونیزاسیون ریشه با تلقیح گونه *G. intraradices* نسبت به دو گونه *G. etunicatum* و *G. mosseae* به ترتیب ۳۱/۷۰ و ۲۶/۵۲ درصد بالاتر بود. بین دو گونه *G. etunicatum* و *G. mosseae* نیز از نظر درصد کلونیزاسیون ریشه سویا (*Glycine max* L.) اختلاف معنی‌دار وجود نداشت و براساس نتایج می‌توان چنین اظهار نمود که گونه *G. intraradices* مناسب‌ترین گونه جهت همزیستی با سویا می‌باشد. سایر محققان نیز این نتیجه را تأیید می‌کنند (Subramanian, 1995; Tufenkci et al., 2005). عدم وجود اختلاف آماری بین کلونیزاسیون تیمار شاهد (M_0) و تیمارهای کاربرد گونه‌های *G. mosseae* و *G. etunicatum* بیانگر حضور جمعیت قارچ میکوریزا به صورت بومی در خاک محل آزمایش می‌باشد و این که گونه‌های خالص *G. etunicatum* و *G. mosseae* در مقایسه با آن جمعیت بومی که احتمالاً گونه‌های مخلوط قارچ میکوریزا می‌باشد، در کلونیزه کردن میزبان برتری نداشتند. گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا از لحاظ برقراری همزیستی با ریشه‌های گیاه توانایی متفاوتی را نشان دادند که این موضوع در گزارشات متعددی دیده شده است (Gholami et al., 1999; Boucher et al., 1999). با توجه به خصوصیات پوست و اپیدرم ریشه میزبان، گونه *G. intraradices* به خوبی ریشه سویا را کلونیزه کرده است. البته بر طبق آزمایشات اکامپو و همکاران (Ocampo et al., 1980) برخی ترکیبات بازدارنده در درون سلول‌های ریشه میزبان وجود دارد که از

شکل‌گیری همزیستی میکوریزایی ممانعت می‌کند کـه احتمـالاً گونـه *G. intraradices* حساسیت کمتری به این ترکیبات نشان داده است. البته فاکتورهای فیزیکی ریشه مانند حجم تارهای کشنده و سـاختمان اپیدرم نسبت به فاکتورهای شـیمیایی از قبیـل مـواد ترشـحی نقـش بیشتری دارند، علاوه بر آن عناصر قابل دسـترس، pH خـاک و نـوع میزبان نیز نقش مهمی را در تعیین اثر بخشی گونه‌های مختلف دارد.

با توجه به شـکل ۲ بـا کـاربرد بـاکتری *B. subtilis* بـه عنـوان قارچ‌کش بیولوژیک، کلونیزاسیون ریشه نسبت بـه شـاهد (F_0) ۴۴/۱۲ درصد کاهش یافت، در حالی که اثر قارچ‌کش‌های نانوسیلور و بنومیل بر کلونیزاسیون نسبت به شاهد از لحاظ آماری معنی‌دار نبود و در یک گروه آماری قرار گرفتند. هر چند کاهش ۱۲/۲۹ درصدی کلونیزاسیون قارچی توسط مصرف بنومیل را باید مدنظر قـرار داد. ایـن کـاهش در سایر آزمایشـات نیـز گـزارش شـده اسـت (Samarbakhsh et al., 2009; Aggarwal et al., 2005). قارچ‌کش نانوسیلور اثری منفی بر کلونیزاسیون میکوریزی نداشت. حتی با مصرف آن، کلونیزاسیون سـه درصد نسبت به شاهد (F_0) افزایش در پی داشت، لیکن این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

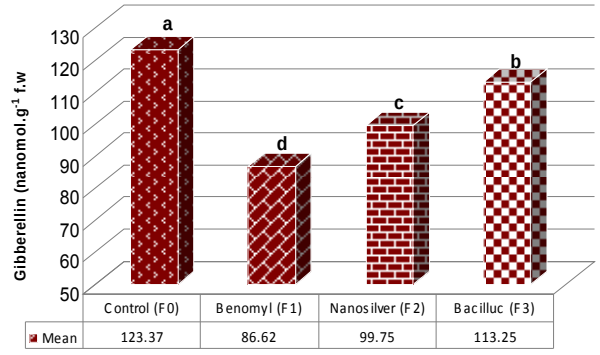


شکل ۳- اثر قارچ کش بر میزان هورمون اکسین در سویا

Fig. 3- Effect of fungicide on auxin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

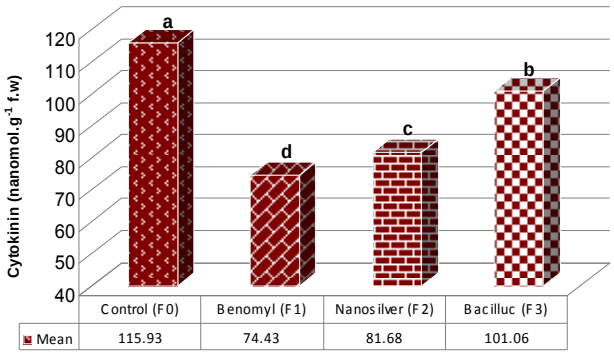


شکل ٤- اثر قارچ کش بر میزان هورمون جیبرلین در سویا

Fig. 4- Effect of fungicide on gibberellin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.



شکل ۵- اثر قارچ کش بر میزان هورمون سیتوکنین در سویا

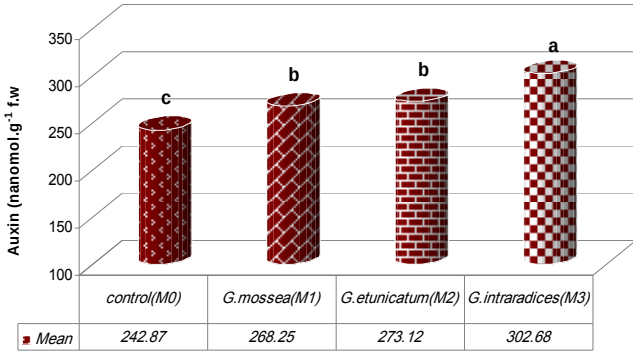
Fig. 5- Main effect of fungicide on cytokinin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

ب) اثر قارچ میکوریزا و قارچکش بر تغییرات فیتوهورمونی سویا

با کاربرد قارچ‌کش‌های مختلف میزان هورمون‌های رشدی در مقایسه با عدم کاربرد قارچ‌کش کاهش یافت، به طوری‌که قارچ‌کش بنومیل بیشترین کاهش را (۳۹/۷۴، ۴۲/۴۲ و ۵۵/۷۵ درصد) در هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکنین نسبت به تیمار شاهد (F_0) نشان داد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵).

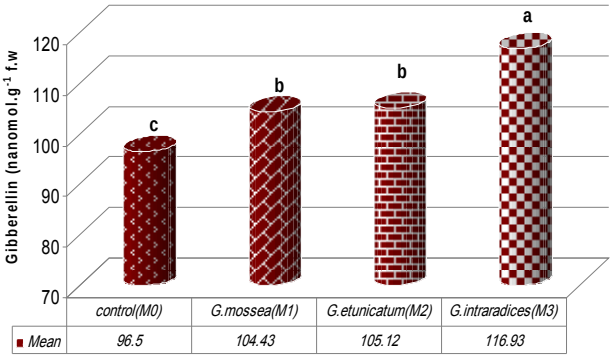


شکل ٦- اثر قارچ میکوریزا بر میزان هورمون اکسین در سویا

Fig. 6- Effect of mycorrhiza fungi on auxin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

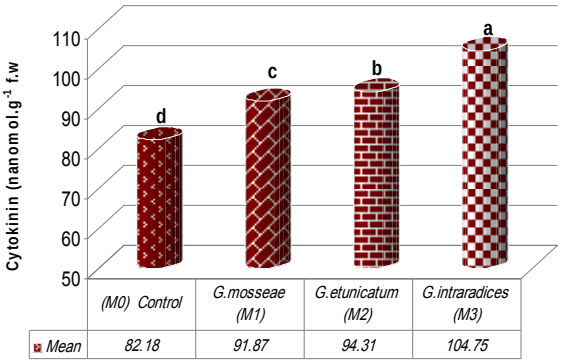


شکل ۷- اثر قارچ میکوریزا بر میزان هورمون جیبرلین در سویا

Fig. 7- Effect of mycorrhiza fungi on gibberellin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.



شکل ۸- اثر قارچ میکوریزا بر میزان هورمون سیتوکنین در سویا

Fig. 8- Effect of mycorrhiza fungi on cytokinin concentration of soybean

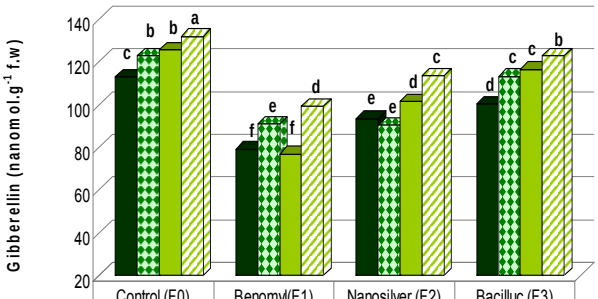
میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا باعث افزایش میزان هورمون‌ها نسبت به شاهد شدند. این در حالی است که بیشترین افزایش در هورمون‌های اکسین و جیبرلین و سیتوکنین توسط تلقیح ریشه با گونه *G. intraradices* به ترتیب به مقدار ۱۷/۶۲، ۲۱/۲۴ و ۲۷/۴۶ درصد نسبت به عدم مصرف میکوریزا ایجاد گردید که محققان دیگر نیز این نتایج را تأیید می‌کنند (Ludwig-Müller et al., 1997؛ Fitze et al., 2005) (شکل‌های ۶، ۷ و ۸).

تلقیح گونه *G. intraradices* و عدم مصرف قارچ‌کش (F_0M_3) بیشترین مقدار هورمون‌های اکسین و جیبرلین و با کاربرد قارچ‌کش بنومیل همراه با گونه *G. etunicatum* (F_1M_2) کمترین مقدار هورمون‌های اکسین و جیبرلین و سیتوکنین را به خود اختصاص دادند. بیشترین مقدار غلظت هورمون سیتوکنین در تیمار تلقیح گونه *G. etunicatum* بدون مصرف قارچ‌کش (F_0M_2) به دست آمد (شکل‌های ۹، ۱۰ و ۱۱).

با کاربرد گونه *G. mosseae* بدون مصرف قارچ‌کش، هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکنین به ترتیب ۱۸/۲۱، ۸/۸۴ و ۲۷/۷۲ درصد و با گونه *G. etunicatum* ۱۹/۰۳، ۱۱/۰۶ و ۳۰/۰۵ درصد و در تلقیح *G. intraradices* ۲۴/۴۹، ۱۶/۸۱ و ۲۲/۷۹ درصد در مقایسه با شاهد (F_0M_0) افزایش یافتند که با یافته‌های سایر محققان منطبق است (Daft & Ramakrishna et al., 2001؛ Allen et al., 1980-1982; Okusanya, 1973).



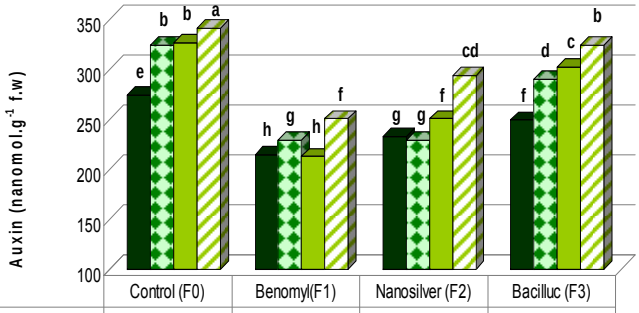
	Control (F0)	Benomyl(F1)	Nanosilver (F2)	Bacilluc (F3)
(M0) control	113	79.25	93.5	100.25
(M1) G.mosseae	123	91	90.5	113.25
(M2) G.etunicatum	125.5	77	101.5	116.5
(M3) G.intraradices	132	99.25	113.5	123

شکل ۹- اثر متقابل قارچ میکوریزا و قارچ کش بر میزان هورمون جیبرلین در سویا

Fig. 9- Interaction effect of mycorrhiza fungi and fungicide on gibberellin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.



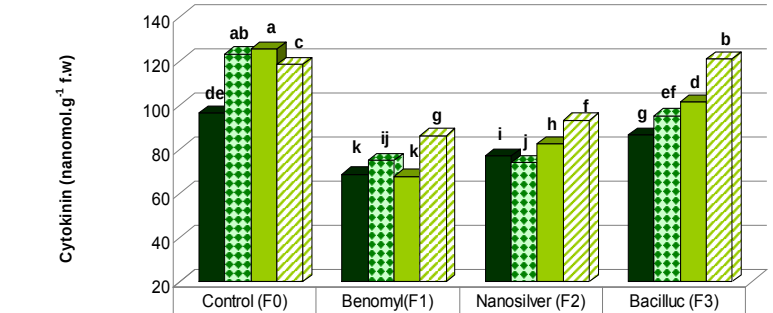
	Control (F0)	Benomyl(F1)	Nanosilver (F2)	Bacilluc (F3)
(M0) Control	274.5	214.75	232.75	249.5
(M1) G.mosseae	324.5	229	229.5	290
(M2) G.etunicatum	326.75	212.75	250.75	302.25
(M3) G.intraradices	341.75	250.5	294	324.5

شکل ۱۰- اثر متقابل میکوریزا و قارچ کش بر میزان هورمون اکسین در سویا

Fig. 9- Interaction effect of mycorrhiza fungi and fungicide on auxin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.



شکل ۱۰- اثر متقابل قارچ میکوریزا و قارچ کش بر میزان هورمون سیتوکنین در سویا

Fig. 10- Interaction effect of mycorrhiza fungi and fungicide on cytokinin concentration of soybean

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

افزایش هورمون‌های رشد به خصوص سیتوکنین با تلقیح قارچ‌های میکوریزا، احتمالاً به دلیل تولید آن توسط قارچ میکوریزا و انتقال آن به سمت میزبان می‌باشد، زیرا قارچ‌های میکوریزا موادی را تولید می‌کنند که جلوی بازدارنده‌های سیتوکنین در گیاه را می‌گیرد و گیاه به دلیل بهتر شدن جذب مواد غذایی و برخی سیگنال‌ها که به علت رابطه همزیستی با قارچ ایجاد می‌گردد مقدار بیشتری سیتوکنین تولید می‌کند (Allen et al., 1980). به علاوه هورمون سیتوکنین باعث افزایش جذب و مصرف فسفر می‌شود و این افزایش میزان فسفر بر درصد کلونیزاسیون میکوریزایی مؤثر است. با کاربرد قارچ‌کش بنومیل، گونه *G. etunicatum* تأثیر معنی‌دار بر میزان هورمون‌ها نسبت به تیمار کاربرد بنومیل بدون تلقیح قارچ میکوریزا (F_1M_0) نداشت. این در حالی است که دو گونه *G. intraradices* و *G. mosseae* همراه با قارچ‌کش بنومیل، اکسین را به میزان ۱۶/۶۴ و ۶/۶۳ درصد و جیبرلین را به میزان ۲۵/۵۳ و ۱۴/۸۲ همچنین سیتوکنین را به مقدار ۲۹/۴۵ و ۹/۰۹ درصد نسبت به تیمار F_1M_0 افزایش دادند که این افزایش توسط گونه *G. intraradices* به میزان بیشتری بود. مصرف قارچ‌کش بنومیل و یا نانوسیلور به تنهایی کاهش میزان هورمون‌ها را نسبت به شاهد (F_0M_0) به دنبال داشت. احتمالاً قارچ‌کش بنومیل با اختلال در شکل‌گیری آرباسکول و کاهش فعالیت متابولیکی قارچ میکوریزا از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز بر تولید هورمون توسط میکوریزا اثر سوء داشته و باعث کاهش آنها گردیده است که برخی از محققین نیز این نظر را بیان داشته‌اند (Kjoller & Rosendahl, 2000; Kough et al., 1987). کاربرد دو گونه *G. etunicatum* و *G. intraradices* همراه با قارچ‌کش نانوسیلور میزان هورمون‌ها را نسبت به تیمار کاربرد قارچ‌کش نانوسیلور بدون تلقیح قارچ میکوریزا (F_2M_0) افزایش داد، در حالی که گونه *G. mosseae* توأم با این قارچ‌کش کاهش ناچیزی را نسبت به تیمار F_2M_0 نشان داد. میزان هورمون‌ها در تیمار کاربرد قارچ‌کش نانوسیلور بدون تلقیح قارچ میکوریزا نسبت به شاهد (F_0M_0) کاهش یافت. احتمالاً کاربرد نانوسیلور در غلظت ۶۰ ppm (میلی‌گرم در کیلوگرم) اثر سوء بر گیاه داشت، ولی با کاربرد دو گونه *G. etunicatum* و *G. intraradices* این اثر تخریبی تا حدی جبران شده، در واقع قارچ میکوریزا به عنوان سد دفاعی برای گیاه عمل کرده است (Rostami & Shahsavar, 2009). با کاربرد قارچ‌کش *B. subtilis* و هر یک از گونه‌های قارچ میکوریزا هورمون‌ها نسبت به تیمار کاربرد قارچ‌کش بیولوژیک بدون تلقیح قارچ میکوریزا (F_3M_0) افزایش یافتند. به طوری که *G. intraradices* بیشترین افزایش به میزان ۳۰، ۲۲/۶۹ و ۳۹/۸۸ درصد وگونه *G. mosseae* کمترین افزایش به میزان ۱۶/۲۳، ۹۶/۱۲ و ۹/۸۲ درصد را به ترتیب در هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکنین سبب شد. بنا به نظر فلاح و همکاران (Fallah et al., 2006) احتمالاً گونه *G. mosseae* نسبت به ترشحات لیپوپپتیدی ضد قارچی و خاصیت آنتی بیوتیکی *B. subtilis* حساسیت بیشتری داشت، به طوری که میزان هورمون‌ها در این ترکیب تیماری نسبت به دو گونه دیگر پایین‌تر می‌باشد. اکسین و جیبرلین در تلقیح هر یک از سه گونه با این باکتری نسبت به حالت عدم تلقیح باکتری کاهش یافت. در حالی که مقدار سیتوکنین در تلقیح همزمان *G. intraradices* و باکتری، در مقایسه با عدم کاربرد باکتری و این گونه قارچ (F_0M_3) افزایش

یافت. کاربرد این قارچ‌کش و عدم مصرف میکوریزا، کاهش هورمون‌ها را نسبت به شاهد (F_0M_0) در پی داشت (شکل‌های ۹، ۱۰ و ۱۱).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق آشکار گردید که با کاربرد گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا، تولید و تجمع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین در برگ‌های گیاه سویا نسبت به شاهد بیشتر شد، به طوری که بالاترین سطح هر سه هورمون با تلقیح گونه *G. intraradices* به دست آمد. بنابراین همزیستی میکوریزایی می‌تواند غلظت هورمون‌های گیاه را از نظر کمی تغییر دهد. از آنجا که ایندول تری بوتیریک اسید[1] (IBA) کلونیزاسیون قارچی را از طریق افزایش تعداد ریشه‌های فرعی که محل مطلوب کلونیزاسیون است، در مراحل اولیه رشد تغییر می‌دهد (Fitze et al., 2005) می‌توان افزایش کلونیزاسیون توسط تلقیح قارچ *G. intraradices* را به افزایش اکسین نسبت داد (Ludwig-Müller & Güther, 2007). کلونیزاسیون ریشه در این تیمار نسبت به شاهد بدون تلقیح قارچ میکوریزا و دو گونه دیگر به میزان بیشتری رخ داد. با گسترش کلونیزاسیون قارچی احتمالاً، جذب عناصر و انتقال آنها از خاک به سمت ریشه‌های میزبان افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، با افزایش تقاضای مخزن، فتوسنتز گیاه جهت تأمین کربوهیدرات بیشتر نیز افزایش می‌یابد که این اثر را می‌توان به دلیل تولید و افزایش سطح سیتوکنین در گیاه مربوط دانست. از آنجایی که قارچ‌های میکوریزا سبب افزایش تقاضای کربوهیدرات توسط ریشه‌ها می‌گردند، لذا جریان کربوهیدرات به سمت ریشه افزایش می‌یابد که علت آن، افزایش تولید جیبرلین در حضور قارچ‌های میکوریزا می‌باشد. کاربرد قارچ‌کش‌ها سبب کاهش غلظت هر سه هورمون گردید. از آنجایی که باکتری *Bacillus subtilis* خود توانایی تولید هورمون‌ها را دارد کاهش سطح هورمون‌ها با تلقیح این باکتری به عنوان قارچ‌کش بیولوژیک به میزان کمتری بود. البته کاهش سطح هورمون سیتوکنین با مصرف این قارچ‌کش نسبت به دو هورمون دیگر بیشتر بود. احتمالاً باکتری با تولید یک سری مواد بازدارنده می‌تواند مانع تولید هورمون در گیاه شود (Xiao et al., 2008). کلونیزاسیون نیز با مصرف این قارچ‌کش نسبت به شاهد و قارچ‌کش‌های نانوسیلور و بنومیل کاهش نشان داد. در صورت مصرف هر نوع از قارچ‌کش‌ها بدون تلقیح قارچ میکوریزا، هر سه هورمون نسبت به شاهد کاهش زیادی داشتند، اما گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا توانستند سبب افزایش سطح هورمون‌ها شوند که بیانگر نقش مهم این قارچ‌ها در حفظ میزان هورمون‌ها در برگ می‌باشد، ولیکن در صورت مصرف بنومیل، گونه *G. etunicatum* و در صورت مصرف نانوسیلور، گونه *G. mosseae* تا حدی حساسیت نشان دادند که سبب کاهش هر سه هورمون در این ترکیبات تیماری گردیده است. هرچند این کاهش در هورمون‌های اکسین و جیبرلین از لحاظ آماری معنی‌دار نبود، به طوری که با شاهد خود در یک گروه آماری قرار گرفتند. به این وسیله می‌توان اظهار داشت که سنتز هورمون‌ها به وسیله گیاه توسط همزیستی میکوریزایی تحریک می‌شود. هر چند این پدیده تحت تأثیر اثرات انواع قارچ‌کش واقع شده است. در صورت تأیید نتایج این تحقیق در مطالعات بعدی می‌توان توصیه نمود که برای ضدعفونی بذر سویا مناسب‌ترین نوع قارچ‌کش، بیولوژیک می‌باشد و در صورتی که با قارچ‌های میکوریزی به خصوص گونه *G. intraradices* به صورت همزمان تلقیح گردد کمترین اثر سوء از نظر کاهش سطح هورمون‌های رشدی در گیاه را در مقایسه با دیگر قارچ‌کش‌ها به دنبال خواهد داشت. هر چند هنوز به درستی نمی‌توان به نقش دقیق قارچ‌کش‌ها بر روابط هورمونی قارچ و گیاه اشاره نمود.

منابع

1- Aggarwal, A., Sharma, D., Parkash, V., Sharma, S., and Gupta, A. 2005. Effect of bavistin and dithane M-45 on the mycorrhizae and rhizosphere microbes of sunflower. Helia 28(42): 75-88.

2- Allen, M.F., Moore Jr., T.S., and Christensen, M. 1980. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Cytokinin increases in the host plant. Canadian Journal of Botany 58: 371–374.

3- Allen, M.F., Moore Jr., T.S., and Christensen, M. 1982. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II. Altered levels of gibberellin-like substances and Abscisic Acid in the host plant. Canadian Journal of Botany 60: 468–471.

4- Barea, J.M., and Azcon-Aguilar, C. 1982. Production of plant growth regulating substances by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Applied Environmental Microbiology 43: 810–813.

5- Barker, S.J., and Tagu, D. 2000. The roles of Auxins and Cytokinins in mycorrhizal symbiosis. Journal of Plant Growth Regulation 19: 144–154.

6- Boucher, A., Delpe, Y., and Charest, C. 1999. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization of four species of *Glomus* on physiological responses of maize. Journal of Plant Nutrition 22(485): 783-797.

1- Indol-3-butric acid

7- Daft, M.J., and Okusanya, B.O. 1973. Effect of endogene mycorrhiza on plant growth. New Phytologist 72: 1333-1339.
8- Demir, S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameter of pepper. Turkish Journal of Biology 28: 85-90.
9- Fallah, A., Besharati, H., and Khosravi, H. 2006. Soil microbiology. Aeej Publication, Iran. 179 pp. (In Persian)
10- Fitze, D., Wiepning, A., Kaldorf, M., and Ludwig-Müller, J. 2005. Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in miaze. Journal of Plant Physiology 162: 1210–1219.
11- Gholami, A., Koochaki, A., Mazaheri, D., and Ghalavand, A. 1999. Evaluating the effect of different species of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) on growth characteristic of *Zea mays*. Iranian Journal of Crop Sciences 1(3): 47-54. (In Persian with English Summary)
12- Gianinazzi-Pearson, V. 1996. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. Plant and Cell 8: 1871-1883.
13- Giovannetti, M., and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques to measure Vesicular-arbuscular infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.
14- Goicoechea, N., Dolezal, K., Antolin, M.C., Strnad, M., and Sanchez-Diaz, M. 1995. Influence of mycorrhiza and *Rhizobium* on Cytokinin content in drought – stressed alfalfa. Journal of experimental Botany 46(291): 1543-1549.
15- Hajibolandi, R., Barzegar, R., and Asgharzadeh, N.A. 2005. Studying the effect of mycorrhiza on root morphology and rhizosphere's pH in rice with rizobox system. The Proceeding of 9th Iranian Soil Science Congress, Tehran, 28-31 August. (In Persian with English Summary)
16- Hause, B., Mrosk, C., Isayenkov, S., and Strack, D. 2007. Jasmonates in arbuscular mycorrhizal interactions. Phytochemistry 68: 101–110.
17- Hayman, D.S. 1980. Mycorrhiza and crop production. Nature (London) 287: 487-488.
18- Kjoller, R., and Rosendahl, S. 2000. Effect of fungicides on arbuscular mycorrhizal fungi: different responses in alkaline phosphatase activity of external and internal hyphe. Biological Fertility of Soils 31: 361-365.
19- Kough, J.L., Gianinazzi- Pearson, V., and Gianianazzi, S. 1987. Depress metabolic activity of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi after fungicide applications. New Phytologist 106: 707-715.
20- Ludwig-Müller, J., Kaldorf, M., Sutter, E.G., and Epstein, E. 1997. Indole-3-butyric acid (IBA) is enhanced in young maize (*Zea mays* L.) roots colonized with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. Plant Science 125: 153–162.
21- Ludwig-Müller, J., and Güther, M. 2007. Auxins as signals in arbuscular mycorrhiza formation. Plant Signaling and Behavior 2(3): 194–196.
22- Meixner, C., Ludwig-Müller J., Miersch, O., Gresshoff, P., Staehelin, C., and Vierheilig, H. 2005. Lack of mycorrhizal auto regulation and phytohormonal changes in the supernodulating soybean mutant nts1007. Planta 222: 709–715.
23- Ocampo, J.A., Martin, J., and Hayman, D.S. 1980. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection. I. Host and non-host plants grown together. New Phytologist 84: 27-35.
24- Philips, J., and Hayman, D.S. 1970. Improved procedure for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55: 158-161.
25- Ramakrishna, T.V., Hegde, V., and Sreenivasa, M.N. 2001. Induction of rooting and root growth in black pepper cutting (*Piper nigrum* L.) with the inoculation of arbuscular mycorrhiza. Scientia Horticulture 92: 339-346.
26- Rostami, A.A., and Shahsavar, A. 2009. Nano-silver particles eliminate the in vitro contamination of olive mission explants. Journal of Plant Science 8: 505-509.
27- Samarbakhsh, S., Rejali, F., Ardakani, M.R., Paknejad, F., and Mir-Ansari, M. 2009. The combined effects of fungicides and arbuscular mycorrhiza on corn (*Zea mays* L.) growth and yield under field conditions. Journal of Biological Science 9(4): 372-376.
28- Shaul-Keinan, O., Gadkar, V., Ginzberg, I., Grünzweig, J.M., Chet, I., Elad, Y., Wininger, S., Belausov, E., Eshed, Y., Atzmon, N., Ben-Tal, Y., and Kapulnik, Y. 2002. Hormone concentrations in tobacco roots change during arbuscular mycorrhizal colonization with *Glomus intraradices*. New Phytologist 154: 501–508.
29- Shengjie, H., and Mingyu Ding, J.Z. 2008. Simultaneous determination of gibberellic acid, Indol-3-acetic acid and abscisic acid in wheat extract by solid- phase extraction and liquid chromatography. Talonta 76: 798-802.
30- Subramanian, K.S. 1995. Influence of arbuscular mycorrhizae on the metabolism of maize under drought stress. Mycorrhiza 5: 273-278.
31- Tufenkci, S., F., Sonmez, R.I., and Gaziolgu, S. 2005. Effects of arbuscular mycorrhiza fungus inoculation and phosphorous and nitrogen fertilization on some plant growth parameters and nutrient content of chickpea. Journal of Biological Science 5(6): 738-743.
32- Vadassery, J., Ritter, C., Venus, Y., Camehl, I., Varma, A., Shahollari, B., Novak, O., Strnad, M., Ludwig-Muller, J., and Oelmuller, R. 2008. The role of Auxins and Cytokinins in the mutualistic interaction between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. The American Phytopathological Society 21(10): 1371-1383.
33- Xiao, X., Chen, H., Chen, H., Wong, J., Ren, C., Wu, L. 2008. Impact of *Bacillus subtilis* JA, a biocontrol strain of fungal plant pathogens, on arbuscular mycorrhiza formation in *Zea mays*. World Journal or Microbial Biotechnology 24: 1133-1137.