



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. intraradices* و *G. etunicatum mosseae* و عدم مصرف به عنوان شاهد انجام گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، دو عامل قارچ‌کش و گونه‌های قارچ میکوریزا تأثیر معنی‌دار بر میزان هورمون‌های جیبرلین، اکسین و سیتوکینین و درصد کلونیزاسیون ریشه نشان دادند ($P \leq 0.01$). اثر متقابل قارچ‌کش و میکوریزا در تغییر هورمون‌ها نیز معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود. در تلقیح سویا با هر سه گونه قارچ‌های میکوریزا اکسین، جیبرلین و سیتوکینین افزایش قابل توجهی نسبت به شاهد نشان دادند. درصد کلونیزاسیون 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 توأم 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 سیتوکینین در این ترکیب تیماری نسبت به تیمار تلقیح این گونه و عدم مصرف قارچ‌کش دو درصد افزایش داشت. مقدار هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکینین 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، سیتوکینین، کلونیزاسیون، نانوسیلور

مقدمه

(Barker & Tagu, 2000). روابط پیچیده بین ریشه میزبان و قارچ میکوریزا 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 سیتوکینین‌ها 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

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

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

(E-mail: maryamseafy@yahoo.com)

(*- نویسنده مسئول)

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 (بنومیل F_1)، نانوسیلور (F_2) و بیولوژیک (F_3) (*Bacillus subtilis*) و عامل دوم شامل قارچ میکوریزا در چهار سطح شاهد (M_0)، (M_1) *Glomus mosseae* و (M_2) *G. etunicatum* و (M_3) *G. intraradices* در نظر گرفته شد. قبل از آماده سازی زمین از عمق ۳-۳۰ cm خاک و برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه‌برداری مرکب انجام گرفت. بافت خاک لوم - سنی با $pH=7/5$ 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. هر کرت 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 ۶۰ ppm (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

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 سیتوکینین 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 سیتوکینین در گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا افزایش می‌یابد (Tagu & Barker, 2000). در همزیستی تنباکو (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc) با قارچ میکوریزا گونه *Glomus intraradices* دیده شد که غلظت جیبرلین و سیتوکینین تغییر می‌کند (Shaul-Keinan et al., 2002). در آزمایشی نشان داده شد که در یونجه (*Medicago sativa* cv. Aragon) غیر میکوریزایی غلظت هورمون سیتوکینین بالاست، ولی در مواجهه 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^۱ (IAA) به ترکیبات غیرفعال است (Vadosery et al., 2008). در سویا (*Glycine max* L.) سطح ایندول تری استیک اسید در ریشه‌های تلقیح شده با قارچ میکوریزا 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 سیتوکینین است. نتایج این آزمایشات در واقع پاسخی به این سؤال بود که بخشی از ترکیبات هورمونی نظیر سیتوکینین 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

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 رنگ آمیزی 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 رنگ آمیزی شده به قطعات یک سانتی متری برش داده شد و ۵۰ قطعه بر روی پتری دیش مشبک شده به ابعاد یک سانتی متری 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 ($p \leq 0.01$). اثر متقابل قارچ‌کش و میکوریزا بر میزان فیتوهورمون‌ها ($p \leq 0.01$) 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 ($p \leq 0.01$) (جدول ۱).

شیار بر روی پشته در ۲۷ اردیبهشت انجام گرفت. بوته‌ها به فاصله پنج سانتی متر روی ردیف در مرحله V₁ و V₂ 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 (R₂) 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^۱ (HPLC) استفاده و به روش ایزوکراتیک جداسازی انجام شد. این کار طبق روش شننجی 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 سانتی متر 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 ۱۲۱ سانتی‌گراد 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

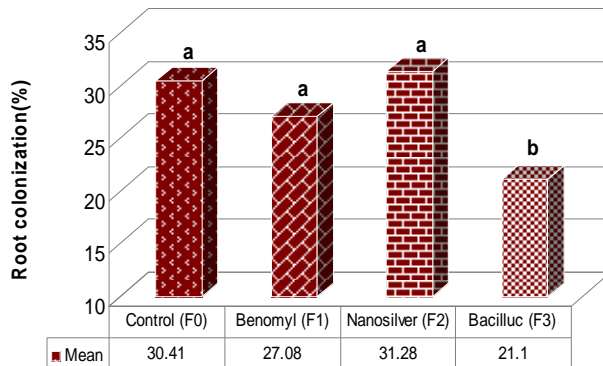
جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر قارچ میکوریزا و انواع قارچ‌کش بر صفات مورد مطالعه در سویا

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

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS			
		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

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

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

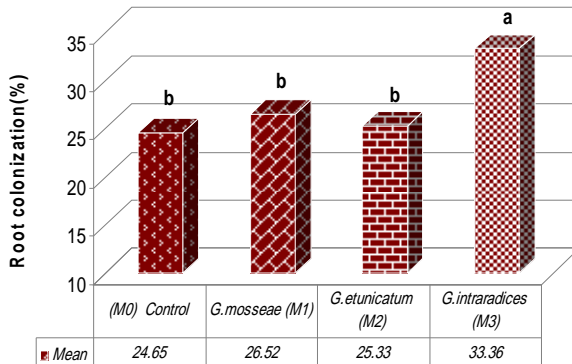


شکل ۱- اثر قارچ کش بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سویا

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 mycorrhizal 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.

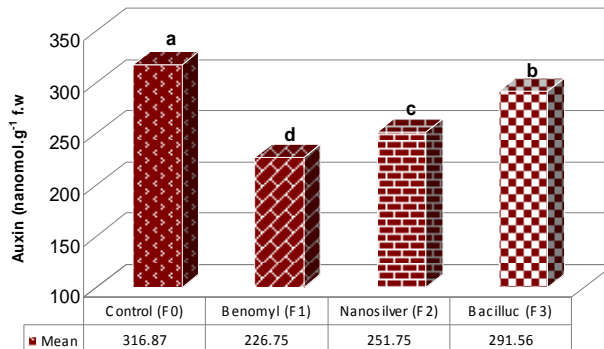
تیمارهای کاربرد گونه‌های *G. etunicatum* و *G. mosseae* بیابانگر حضور جمعیت قارچ میکوریزا به صورت بومی در خاک محل آزمایش می‌باشد و این که گونه‌های خالص *G. etunicatum* و *G. mosseae* در مقایسه با آن جمعیت بومی که احتمالاً گونه‌های مخلوط قارچ میکوریزا می‌باشد، در کلونیزه کردن میزبان برتری نداشتند. گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا از لحاظ برقراری همزیستی با ریشه‌های گیاه توانایی متفاوتی را نشان دادند که این موضوع در گزارشات متعددی دیده شده است (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

الف) اثر قارچ میکوریزا و قارچ کش 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

بر کلونیزاسیون نسبت به شاهد از لحاظ آماری معنی‌دار نبود و در یک گروه آماری قرار گرفتند. هر چند کاهش ۱۲/۳۹ درصدی کلونیزاسیون قارچی توسط مصرف بنومیل را باید مدنظر قرار داد. این کاهش در سایر آزمایشات نیز گزارش شده است (Samarbakhsh et al., 2005; Aggarwal et al., 2009). قارچ‌کش نانوسیلور اثری منفی بر کلونیزاسیون میکوریزی نداشت. حتی با مصرف آن، کلونیزاسیون سه درصد نسبت به شاهد (F₀) افزایش در پی داشت، لیکن این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

شکل‌گیری همزیستی میکوریزی ممانعت می‌کند که احتمالاً گونه *G. intraradices* حساسیت کمتری به این ترکیبات نشان داده است. البته فاکتورهای فیزیکی ریشه مانند حجم تارهای کشنده و ساختمان اپیدرم نسبت به فاکتورهای شیمیایی از قبیل مواد ترش‌حی نقش بیشتری دارند، علاوه بر آن عناصر قابل دسترس، pH خاک و نوع میزبان نیز نقش مهمی را در تعیین اثر بخشی گونه‌های مختلف دارد. با توجه به شکل ۲ با کاربرد باکتری *B. subtilis* به عنوان قارچ‌کش بیولوژیک، کلونیزاسیون ریشه نسبت به شاهد (F₀) ۴۴/۱۲ درصد کاهش یافت، در حالی که اثر قارچ‌کش‌های نانوسیلور و بنومیل

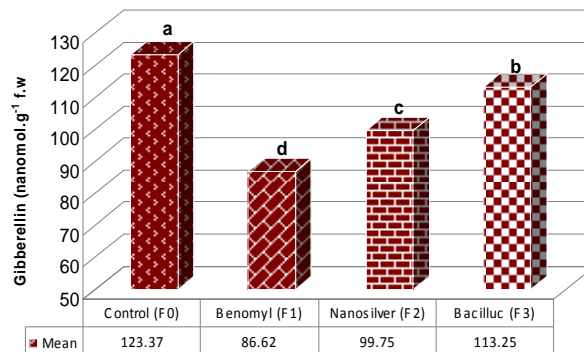


شکل ۳- اثر قارچ‌کش بر میزان هورمون اکسین در سویا

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.

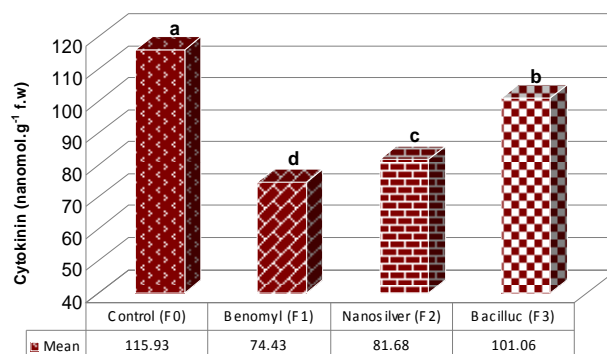


شکل ۴- اثر قارچ‌کش بر میزان هورمون جیبرلین در سویا

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 سیتوکینین در سویا

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

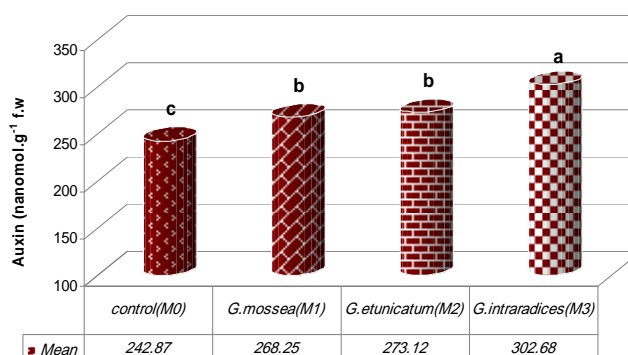
میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

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

بنومیل بیشترین کاهش را (۳۹/۷۴، ۴۲/۴۲ و ۵۵/۷۵ درصد) در هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکینین نسبت به تیمار شاهد (F₀) نشان داد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵).

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 طوری که قارچ‌کش

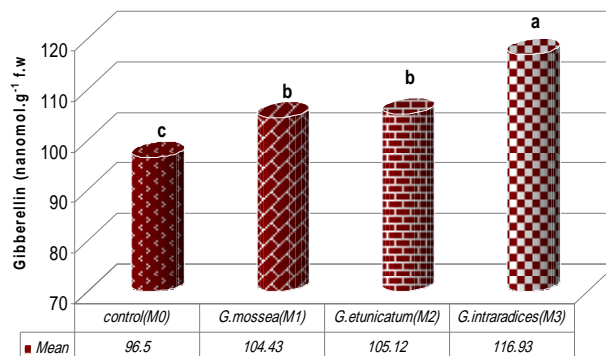


شکل ۶- اثر قارچ میکوریزا بر میزان هورمون اکسین در سویا

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.

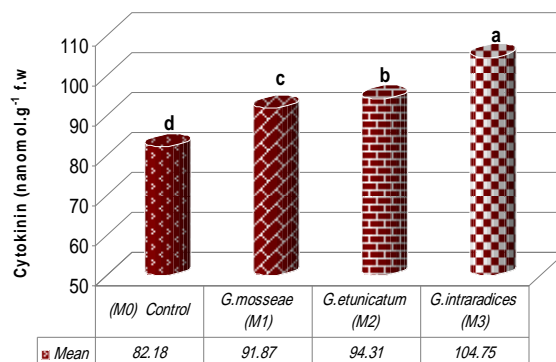


شکل ۷- اثر قارچ میکوریزا بر میزان هورمون جیبرلین در سویا

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 سیتوکینین 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.

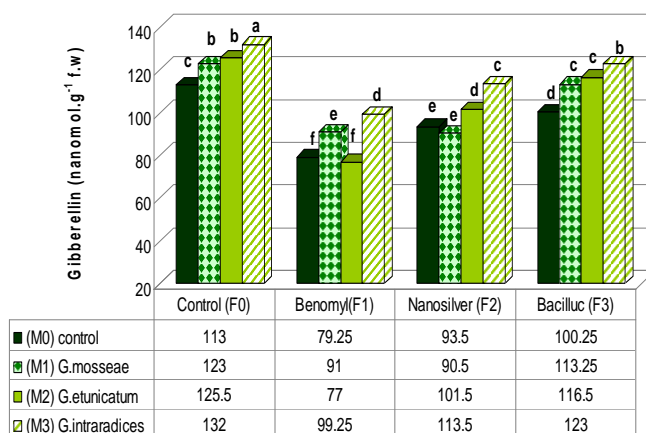
Means with the same letters in each component haven't significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

بیشترین مقدار غلظت هورمون سیتوکینین 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 سیتوکینین به ترتیب ۱۸/۸۴، ۳۰/۰۵ و ۱۱/۰۶ درصد و با گونه *G. etunicatum* ۱۹/۰۳، ۲۴/۴۹ و ۱۶/۸۱ درصد در تلقیح *G. intraradices* 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).

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 سیتوکینین 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 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 سیتوکینین را به خود اختصاص دادند.

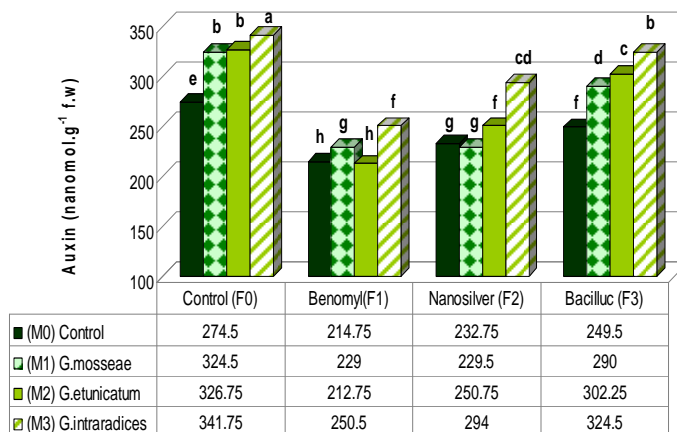


شکل ۹- اثر متقابل قارچ میکوریزا و قارچ کش بر میزان هورمون جیبرلین در سویا

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.

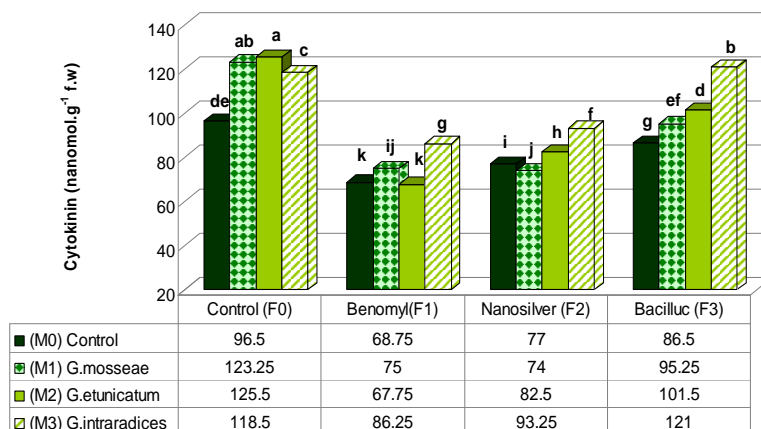


شکل ۱۰- اثر متقابل میکوریزا و قارچ کش بر میزان هورمون اکسین در سویا

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 سیتوکینین 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.

قارچ کش نانوسیلور میزان هورمون‌ها را نسبت به تیمار کاربرد قارچ کش 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 قارچ کش 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. intraradices* و *G. etunicatum* این اثر تخریبی تا حدی جبران شده، در واقع قارچ میکوریزا به عنوان سد دفاعی برای گیاه عمل کرده است (Rostami & Shahsavari, 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 و گونه *G. mosseae* کمترین افزایش به میزان ۱۶/۲۳، ۹۶/۱۲ و ۹/۸۲ درصد را به ترتیب در هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکینین سبب شد. بنا به نظر فلاح و همکاران (Fallah et al., 2006) احتمالاً گونه *G. mosseae* نسبت به ترشحات لیپوپپتیدی ضد قارچی و خاصیت آنتی‌بیوتیکی *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 سیتوکینین در تلقیح همزمان *G. intraradices* و باکتری، در مقایسه با عدم کاربرد باکتری و این گونه قارچ (F_0M_3) افزایش

افزایش هورمون‌های رشد به خصوص سیتوکینین 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 سیتوکینین 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 سیتوکینین تولید می‌کند (Allen et al., 1980). به علاوه هورمون سیتوکینین 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 سیتوکینین 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. intraradices* و *G. etunicatum* همراه با

توانایی تولید هورمون‌ها را دارد کاهش سطح هورمون‌ها با تلقیح این باکتری به عنوان قارچ کش بیولوژیک به میزان کمتری بود. البته کاهش سطح هورمون سیتوکینین با مصرف این قارچ کش 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 قارچ کش 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. هر چند 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.

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 سیتوکینین 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^۱ (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 سیتوکینین 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

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.

- 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 maize. *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 hyphae. *Biological Fertility of Soils* 31: 361-365.
- 19- Kough, J.L., Gianinazzi-Pearson, V., and Gianinazzi, 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., Grünzweig, J.M., Chet, I., Elad, Y., Winer, 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. *Talanta* 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-Müller, J., and Oelmüller, 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 of Microbial Biotechnology* 24: 1133-1137.