

The Symbiosis Study of Arbuscular Mycorrhizal Fungi with some Annual Herbaceous Plants and the Morphological Identification of Dominant Species of these Fungi in Kerman Province

Narges Hatami

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, narges.hatamy123@gmail.com

Eidi Bazgir*

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, bazgir.ei@lu.ac.ir

Ebrahim Sedaghati

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Vali-e- Asr University of Rafsanjan, Iran, sedaghati@vru.ac.ir

Mostafa Darvishnia

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, arvishnia.m@lu.ac.ir

Abstract

Introduction: Among the mycorrhizal fungi, arbuscular mycorrhizal fungi are the most common symbiotic species with plants. Root colonization by these fungi increases plant resistance to biotic and abiotic stresses, enhances growth through increasing elements uptake, improves the water connection of plants, and protects plants against diseases.

Materials and methods: In this study, eight plants were selected from Joupar and Mahan regions of Kerman province and were sampled from 0 to 30 cm depth of rhizosphere of each plant, which included thin soils and roots, to calculate the frequency of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil, identify spores, and determine the percentage of root colonization. For staining the roots, Philips and Hayman's method was used and root colonization percentage was determined. Spore density in soil samples was obtained after the extraction of spores from 10 grams of the soil sample by the wet sieve method and existing spores and also dominant spores in the soil of each plant were determined and then the data were statistically analyzed.

Results: All the examined root samples showed a symbiotic relationship with arbuscular mycorrhizal fungi. The percentage of colonization in evergreen, oregano, chicory, safflower and castor plants was 100% and in purslane, gall and chamomile were 98%, 95%, and 88%, respectively. The average number of spores per 10 grams soil was 18, 62, 16, 34, 3, 15, 25, and 7 respectively. Based on statistical analysis, it was found that there is a direct relationship between the number of spores and the percentage of mycorrhizal colonization in most plants. Then, the available spores as well as the dominant spores in the soil of each plant were identified.

Discussion and conclusion: High spores per 10 grams of soil and the high percentage of mycorrhizal colonization in the study area indicated that such climates are the valuable natural repository for plant species, animals, and microorganisms.

Key words: Spore, Soil, Rhizosphere, Colonization, Mycorrhizae

* Corresponding author

Received: November 29, 2019/ **Accepted:** March 15, 2020

فصلنامه علمی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها (نوع مقاله: پژوهشی)

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۹، صفحه ۴۱-۵۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۰۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۵

Doi: [10.22108/BJM.2020.120148.1242](https://doi.org/10.22108/BJM.2020.120148.1242)

مطالعه همزیستی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با برخی گیاهان دارویی علفی یک‌ساله و شناسایی ریخت‌شناختی گونه‌های غالب این قارچ‌ها در استان کرمان

نرگس حاتمی: دانشجوی دکتری گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران، narges.hatamy123@gmail.com
عیدی بازگیر*: دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران، bazgir.ei@lu.ac.ir
ابراهیم صدقاتی: استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، ایران، sedaghati@vru.ac.ir
مصطفی درویش‌نیا: دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران، darvishnia.m@lu.ac.ir

چکیده

مقدمه: میکوریز آربوسکولار رایج‌ترین نوع همزیستی با گیاهان را در بین انواع مختلف قارچ‌های میکوریز تشکیل می‌دهد. کلونیزاسیون ریشه با این قارچ‌ها سبب افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده، افزایش رشد از طریق افزایش جذب عناصر، بهبود یافتن رابطه آبی گیاهان و حفاظت از گیاهان در برابر بیماری‌ها می‌شود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، هشت گیاه از مناطق جوپار و ماهان استان کرمان انتخاب شدند و نمونه برداری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری ناحیه ریزوسفر هر گیاه شامل خاک و ریشه‌های نازک به منظور محاسبه فراوانی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در خاک، شناسایی اسپورها و تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه انجام شد. روش فیلپس و هایمن برای رنگ‌آمیزی ریشه‌ها استفاده و درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها تعیین شد. تراکم اسپور در نمونه‌های خاک پس از جداسازی اسپورها از ۱۰ گرم نمونه خاک به روش الک مرطوب به دست آمد و اسپورهای موجود و همچنین اسپور غالب در خاک هر گیاه بررسی و سپس بررسی آماری داده‌ها انجام شد.

نتایج: تمام نمونه‌های ریشه بررسی شده رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار داشتند. درصد کلونیزاسیون در گیاهان همیشه‌بهار، پونه، کاسنی، تخم‌شربتی و کرچک ۱۰۰ درصد و در خرفه، گالوک و بابونه به ترتیب ۹۸، ۹۵ و ۸۸ درصد تعیین شد؛ میانگین تعداد اسپور در ۱۰ گرم خاک نیز به ترتیب ۱۸، ۶۲، ۱۶، ۳۴، ۳، ۱۵، ۲۵ و ۷ برآورد شد و بر اساس تحلیل‌های آماری مشخص شد در بیشتر گیاهان، رابطه مستقیمی بین تعداد اسپور و درصد کلونیزاسیون میکوریزایی وجود دارد؛ سپس اسپورهای موجود و همچنین اسپور غالب در خاک هر گیاه شناسایی شد.

بحث و نتیجه‌گیری: زیاده‌بودن تعداد اسپور در ۱۰ گرم خاک و درصد درخور توجه کلونیزاسیون میکوریزایی در منطقه مطالعه‌شده نشان می‌دهد چنین اقلیم‌هایی ذخیره‌گاه طبیعی ارزشمندی برای گونه‌های گیاهی، جانوری و ریزموچودات به شمار می‌آیند.

واژه‌های کلیدی: اسپور، خاک، ریزوسفر، کلونیزاسیون، میکوریز

* نویسنده مسئول مکاتبات

Copyright©2020, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

گیاهان دارویی در زمینه حفظ اکوسیستم‌ها، توسعه اقتصادی، امنیت غذایی، ذخایر ژنتیکی و خودکفایی دارویی اهمیت فراوانی دارند. ویژگی‌های دارویی این گیاهان عمدتاً از وجود متابولیت‌های ثانویه‌ای ناشی می‌شود که در محیط رشد طبیعی و در شرایط خاصی از تنش از جمله رقابت با گونه‌های هم‌جوار به غلظت آنها افزوده می‌شود؛ چنین شرایطی جز در محیط طبیعی (نه زراعی) حاصل نمی‌شود (۱). کشت زراعی گیاهان دارویی به دلایل مختلف از جمله سرعت رشد کم، نیازهای محیطی خاص، سرعت جوانه‌زنی کم، خواب بذر و حساسیت به برخی آفت‌ها و بیماری‌ها چندان ساده و گاهی امکان‌پذیر نیست (۲ و ۳).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند در اکوسیستم‌های طبیعی، ۹۰ درصد ریشه گیاهان با قارچ‌های میکوریز همزیستی دارند (۴)؛ در این همزیستی، قارچ در راستای جذب و انتقال عناصر غذایی به گیاه میزبان فعالیت می‌کند و قارچ همزیست ترکیبات کربنه حاصل از فتوسنتز گیاه میزبان را دریافت می‌کند (۵). باتوجه به اینکه بیشتر قارچ‌های میکوریز میزبان اختصاصی ندارند، جمعیت زیادی از گیاهان با این قارچ‌ها رابطه همزیستی برقرار می‌کنند (۶-۸). در سال ۱۸۸۵، فرانک که در پی بررسی راهکارهایی برای کشت قارچ‌های خوراکی در منطقه جنگلی پروسیا (Prussia) بود، ساختمان حاصل از فعالیت مشترک ریشه گیاه میزبان و قارچ‌های میکوریز همزیست را شناسایی کرد و اصطلاح میکوریز (Mycorrhizae) را برای این قارچ‌ها به کار برد که از دو بخش یونانی «Mikes» به معنای قارچ و «Rhiza» به معنای ریشه تشکیل شده است (۹). تقریباً ۲۴۰ گونه از قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

(AMF) با استفاده از ریخت‌شناسی اسپورهایشان شناسایی شده‌اند و در صورت وجودداشتن اسپور، وجود اندام‌های قارچی درون‌ریشه‌ای مانند آربوسکول و وریکول و نیز ویژگی‌های ساختمانی آنها بهترین ابزار شناسایی به شمار می‌آیند (۱۰). همزیستی با قارچ‌های میکوریز آثار سوء ناشی از فقر عناصر غذایی و تنش‌های خشکی و شوری را کاهش و برگشت‌پذیری پس‌از تنش گیاه را افزایش می‌دهد (۱۱ و ۱۲). نتایج بررسی رای^۱ و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند همزیستی با قارچ‌های میکوریز علاوه بر افزایش شاخص‌های رشد، مراحل نمو گیاه را تسریع می‌کند (۱۳)؛ همچنین همزیستی میکوریزی با گیاهان موجب افزایش سرعت توالی در طبیعت می‌شود و ابزار مفیدی برای احیای اکوسیستم‌های نیمه‌خشک و مناطقی است که خاک سطحی و پوشش گیاهی آنها تخریب شده است (۱۴)؛ همچنین قارچ‌های میکوریز آربوسکولار سبب افزایش بیوستز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند (۱۵). هماشنگاگام^۲ و سلوارچ^۳ (۲۰۱۱) اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار روی رشد، تغذیه و محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاهچه گیاه دارویی *Solanum viarum* را بررسی کردند (۱۶). زوبک^۴ و همکاران (۲۰۱۳) فراوانی و تنوع این گروه قارچی را در پنج کولتوار گیاه دارویی بررسی و تأثیر سه‌ساله تک سویه‌های میکوریزی و گونه‌های غیرمیکوریزی گیاهان دارویی را مطالعه کردند (۱۷).

تاکنون گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربوسکولار از مناطق مختلف ایران گزارش شده‌اند. نخستین بار مهرآوران^۵ و میناسیان^۶ (۱۹۸۴) تعداد ده گونه از جمله گونه‌های *Rhizophagus fasciculatus* و *Gigaspora margarita* را از باغ‌های مرکبات شمال و

گیاه با قارچ‌های میکوریز سبب افزایش معنادار عملکرد آن نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده می‌شود (۲۳).

هدف پژوهش حاضر، بررسی میزان همزیستی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با تعدادی از گیاهان دارویی در دو منطقه از استان کرمان و شناسایی گونه‌های غالب این قارچ‌ها بود تا بتواند راهگشایی برای گسترش بیشتر و استفاده‌های آتی از آنها در تولید گیاهان دارویی باشد و زمینه مطالعه‌های بعدی درباره تأثیر این قارچ‌ها بر متابولیت‌های گیاهان یادشده را فراهم کند.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، هشت گیاه دارویی علفی یک‌ساله با فراوانی زیاد از مناطق جوپار و ماهان استان کرمان انتخاب شدند (جدول ۱). نمونه‌برداری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری ناحیه ریزوسفر هر گیاه شامل خاک و ریشه‌های نازک و موین در فصل بهار انجام شد و به‌منظور اثبات رابطه همزیستی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با گیاهان دارویی، رنگ‌آمیزی ریشه‌ها و جداسازی اسپور از خاک انجام شد.

جنوب کشور جداسازی کردند (۱۸). صدروی^۷ (۱۹۹۹) قارچ‌های میکوریز آربوسکولار همزیست ریشه گندم، جو، ذرت و سورگوم را مطالعه و ۲۹ گونه را جداسازی و شناسایی کرد (۱۹). صداقتی^۸ (۲۰۰۵) تعداد ۱۲ گونه قارچ میکوریز آربوسکولار از جمله *R. fasciculatus*, *Septoglomus Funneliformis coronatus*, *Glomus F. geosporus deserticola*, *R. F. mosseae*, *G. aggregatum macrocarpum*, *G. rubiformis*, *G. sinuosum intraradices* و *G. liquidambaris coremioides* را با استفاده از روش‌های ریخت‌شناختی و مورفومتریکی از باغ‌های انگور در استان‌های خراسان و قزوین گزارش کرد (۲۰). زنگنه و همکاران (۲۰۰۴) پنج گونه را بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی از ریزوسفر مرکبات ایران گزارش کردند (۲۱). الیاس^۹ (۲۰۱۳) قارچ‌های میکوریز را در برخی گیاهان دارویی همدان بررسی و درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها را مطالعه کرد (۲۲). در پژوهشی که مقدسیان^{۱۰} و همکاران (۲۰۱۶) روی گیاه دارویی همیشه‌بهار انجام دادند، نقش قارچ‌های میکوریز در تحمل به خشکی این گیاه بررسی شد و نتایج نشان دادند مایه‌زنی

جدول ۱- نام علمی و ویژگی‌های جغرافیایی محل جمع‌آوری گیاهان مطالعه‌شده

نام فارسی	نام علمی	محل جمع‌آوری	ارتفاع	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
همیشه‌بهار	<i>Calendula officinalis</i>	جوپار	۱۸۱۹	۵۰۶۰۵۵	۳۳۳۲۳۸۵
کاسنی	<i>Cichorium intybus</i>	جوپار	۱۸۱۹	۵۰۶۰۵۵	۳۳۳۲۳۸۵
تخم‌شربتی	<i>Salvia hispanica</i>	ماهان	۱۹۰۱	۵۲۷۶۷۹	۳۳۲۲۱۴۵
خرفه	<i>Portulaca oleracea</i>	جوپار	۱۸۱۹	۵۰۶۰۵۵	۳۳۳۲۳۸۵
بابونه	<i>Anthemis tinctoria</i>	ماهان	۱۹۰۱	۵۲۷۶۷۹	۳۳۲۲۱۴۵
گالوک	<i>Scorzonera paradoxa</i>	ماهان	۱۹۰۱	۵۲۷۶۷۹	۳۳۲۲۱۴۵
پونه	<i>Mentha longifolia</i>	ماهان	۱۹۰۱	۵۲۷۶۷۹	۳۳۲۲۱۴۵
کرچک	<i>Ricinus communis</i>	جوپار	۱۸۱۹	۵۰۶۰۵۵	۳۳۳۲۳۸۵

جداسازی اسپورها از خاک و ریشه: به‌منظور تعیین

تراکم اسپورهای موجود در هر ۱۰ گرم خاک، ابتدا ۱۰ گرم خاک (در سه تکرار) با ترازوی آزمایشگاه وزن شد و سپس اسپورهای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به روش الک مرطوب و سانتریفیوژ به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در ثانیه در محلول شکر از خاک جداسازی و به کاغذ صافی مدرج منتقل شدند و شمارش اسپورها زیر استریومیکروسکوپ انجام شد (۲۴). به‌منظور شناسایی اسپورها، اسپورهای قارچ‌های میکوریز با استفاده از لوپ بسیار کوچک یا سمپلر از سوسپانسیون خاک که به روش پیش آماده شده بود، برداشته و به‌منظور شستن اسپورها، درون شیشه ساعت حاوی چند قطره آب مقطر استریل قرار گرفتند. به‌منظور بررسی‌های ظاهری اولیه و تعیین رنگ اسپورها در آب، مطالعه‌های ریخت‌شناختی اولیه زیر استریومیکروسکوپ انجام شدند و سپس، اسپورها با سوزن برداشته و به قطره‌های (polyvinyl alcohol-lactic acid-glycerol/PVLG) همراه با معرف ملزر (melzer's reagent) روی اسلاید میکروسکوپی منتقل و زیر میکروسکوپ نوری فاز کنتراست مجهز به سیستم نومارسکی (Nikon-ECLIPSE-80i) مشاهده و بررسی شدند؛ به این منظور از مخلوط حجمی PVLG و معرف ملزر به نسبت ۱:۱ استفاده شد. به‌منظور تهیه PVLG، مقدار ۱/۷ گرم پلی‌وینیل‌الکل در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و به مدت ۳ تا ۶ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا محلول همگن ایجاد شود و سپس ۱۰ میلی‌لیتر لاکتیک‌اسید و ۱۰ میلی‌لیتر گلیسرول به آن افزوده شد. به‌منظور تهیه معرف ملزر نیز ۱۰۰ گرم کلرال‌هیدرات، ۱/۵ گرم ید، ۵

گرم یدیدپتاسیم و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر باهم مخلوط شدند.

رنگ آمیزی ریشه‌ها: رنگ آمیزی ریشه‌ها به روش فیلپس^{۱۱} و هایمن^{۱۲} (۱۹۷۰) انجام شد (۲۵). به‌منظور تهیه اسلاید دائمی، ریشه‌های رنگ‌بری شده همراه با یک قطره لاکتوگلیسرول روی لام میکروسکوپی منتقل شدند و در هر اسلاید، ۲۰ قطعه یک سانتی‌متری ریشه قرار داده شد. بررسی کلونیزاسیون بخش‌های مختلف ریشه ابتدا با استریومیکروسکوپ (نیکون مدل SMZ1000) با بزرگ‌نمایی ۱۲۵ برابر و سپس زیر میکروسکوپ نوری کالیبره و مجهز به میکرومتر مدرج انجام شد. کلونیزاسیون آربوسکولی، وژیکولی، ریشه‌ای، کلونیزاسیون کل و تعداد اسپور در واحد طول ریشه و ۱۰ گرم خاک تعیین شد.

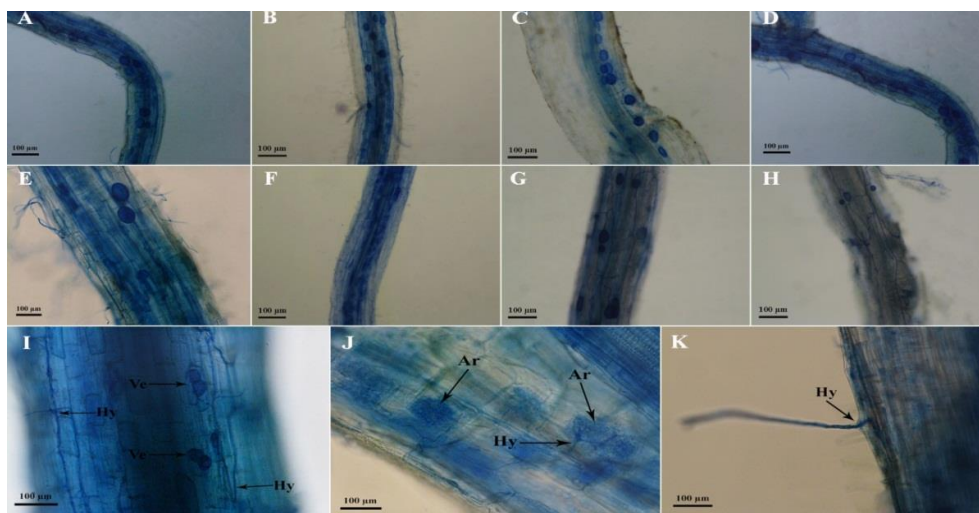
شناسایی ریخت‌شناختی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار: تاکسونومی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به‌طور کلاسیک بر اساس ریخت‌شناسی اسپورها پایه‌ریزی شده است. جنس‌ها و خانواده‌ها عمدتاً بر اساس شیوه اتصال ریشه به اسپور و همچنین شیوه تشکیل اسپور تشخیص داده می‌شوند؛ درحالی‌که ریزساختارهای دیواره اسپور از جمله رنگ لایه‌های دیواره، تعداد و ضخامت لایه‌های دیواره و وجود داشتن یا نداشتن لایه‌های قابل ارتجاع تندشی نقش مهمی در تشخیص گونه‌ها دارند. به این منظور از کلیدهای شناسایی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، سایت‌های اینترنتی معتبر و بین‌المللی <http://fungi.invam>، <http://www.zor.zut.edu.pl> و مقاله‌های کلیدی استفاده شد (۲۶ و ۲۷).

نتایج

رنگ آمیزی ریشه: نتایج رنگ آمیزی ریشه‌ها به منظور تعیین کلونیزاسیون نشان دادند تمام گونه‌های گیاهی بررسی شده رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار دارند (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور مقایسه تعداد اسپور خاک و درصد کلونیزاسیون ریشه بین نمونه‌های مختلف مطالعه شده با نرم افزار SPSS و به روش One-way ANOVA انجام شد.

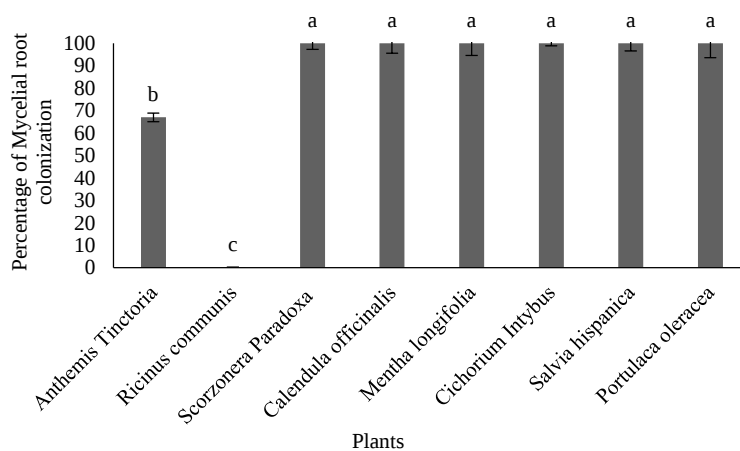


شکل ۱- تصویر میکروسکوپی قطعه‌های ریشه رنگ آمیزی شده به منظور تشخیص کلونیزاسیون گیاهان مطالعه شده؛ A. کرچک، B. همیشه بهار، C. کاسنی، D. بابونه، E. گالوک، F. خرفه، G. تخم شربتی، H. پونه، Ar. آربوسکول، Ve. وزیکول، Hy. هیف (ریشه)

کلونیزاسیون در ریشه گیاه بابونه کاهش یافت و گیاه کرچک کمترین مقدار درصد کلونیزاسیون میسلومی را در ریشه داشت ($P < 0.001$).

بررسی کلونیزاسیون میسلومی ریشه: نتایج نشان

دادند درصد کلونیزاسیون میسلومی ریشه بین گیاهان گالوک، پونه، تخم شربتی، خرفه، کاسنی و همیشه بهار تفاوتی ندارد (شکل ۲)؛ علاوه بر این، میزان

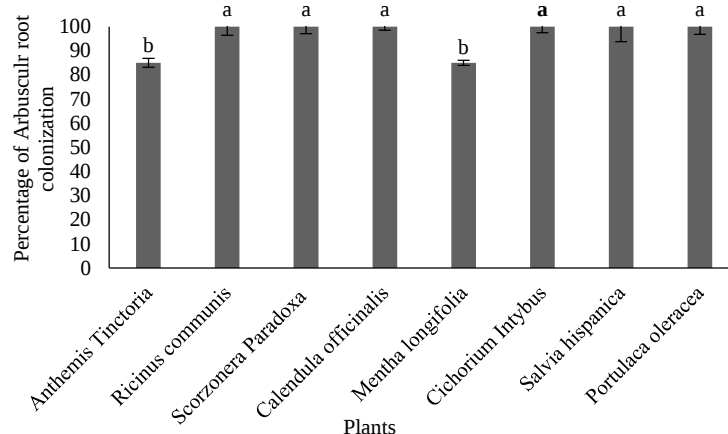


شکل ۲- نمودار بررسی معناداری تفاوت درصد حضور ریشه گیاهان بررسی شده. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک، تفاوت معناداری از نظر آماری ندارند. نتایج به شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($P < 0.001$).

درصد کلونیزاسیون آربوسکولی ریشه: نتایج نشان

دادند اختلاف معناداری در درصد کلونیزاسیون آربوسکولی بین گیاهان کاسنی، همیشه‌بهار، گالوک، تخم‌شربتی و خرفه وجود ندارد، ولی اختلاف معناداری

بین گیاهان بابونه و پونه نسبت به دیگر گیاهان مشاهده شد و کمترین درصد کلونیزاسیون آربوسکولی را داشتند ($P < 0.001$) (شکل ۳).

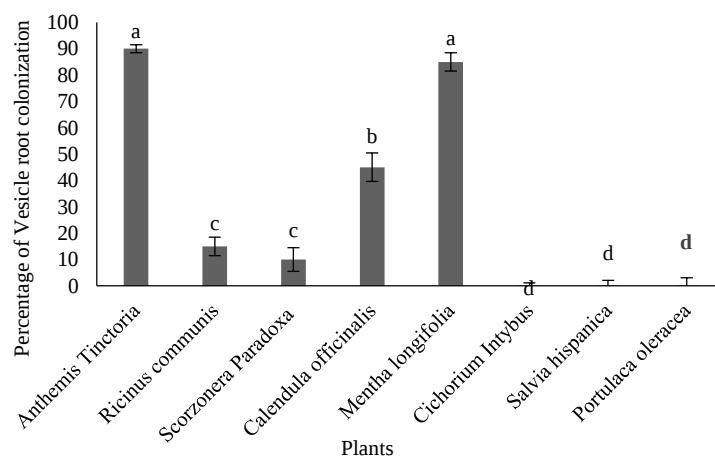


شکل ۳- نمودار بررسی معناداری تفاوت درصد حضور آربوسکول در ریشه گیاهان بررسی شده. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک، تفاوت معناداری از نظر آماری ندارند. نتایج به شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($P < 0.001$).

درصد کلونیزاسیون وزیکولی ریشه: نتایج نشان

دادند گیاهان کاسنی، تخم‌شربتی و خرفه از نظر درصد کلونیزاسیون وزیکولی ریشه اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند، ولی اختلاف معناداری بین بابونه و

گالوک نسبت به سایر گیاهان مشاهده شد. در گیاهان بررسی شده، کاسنی، تخم‌شربتی و خرفه کمترین درصد کلونیزاسیون وزیکولی را داشتند ($P < 0.001$) (شکل ۴).

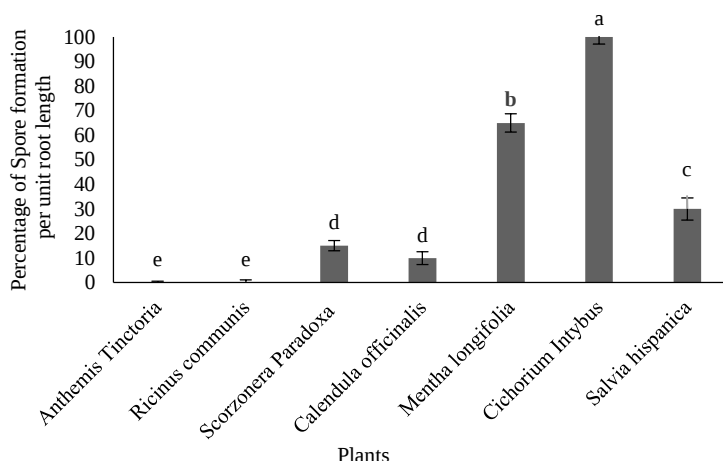


شکل ۴- نمودار درصد کلونیزاسیون وزیکولی ریشه در گیاهان بررسی شده. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک، تفاوت معناداری از نظر آماری ندارند. نتایج به شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($P < 0.001$).

درصد تشکیل اسپور در واحد طول ریشه گیاهان: بر

اساس نتایج (شکل ۵) مشخص شد درصد کلونیزاسیون وزیکولی در گیاه کاسنی نسبت به سایر گیاهان از نظر

آماري بیشتر است؛ از سوی دیگر، کمترین درصد کلونیزاسیون وزیکولی در گیاهان کرچک و بابونه مشاهده شد ($P < 0.001$).

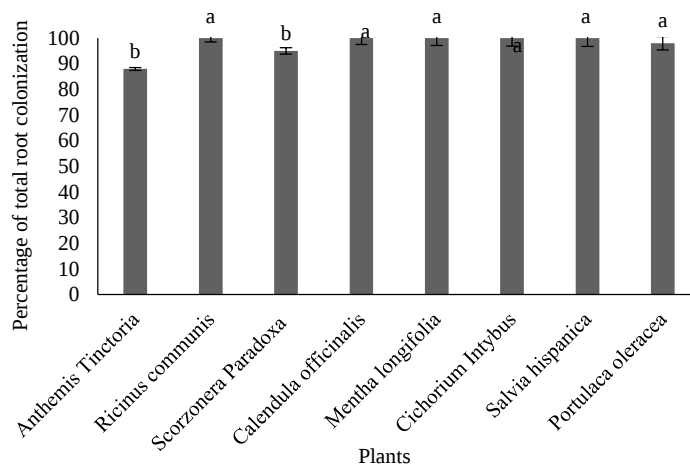


شکل ۵- نمودار بررسی معناداری تفاوت درصد تشکیل اسپور در واحد طول ریشه گیاهان بررسی شده. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک، تفاوت معناداری از نظر آماری ندارند. نتایج به شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($P < 0.001$).

درصد کلونیزاسیون کل ریشه در گیاه: نتایج نشان

دادند درصد کلونیزاسیون کل ریشه در گیاهان همیشه بهار، کاسنی، پونه، کرچک، تخم شربتی و خرفه اختلاف معناداری ندارد و این گیاهان بیشترین میزان

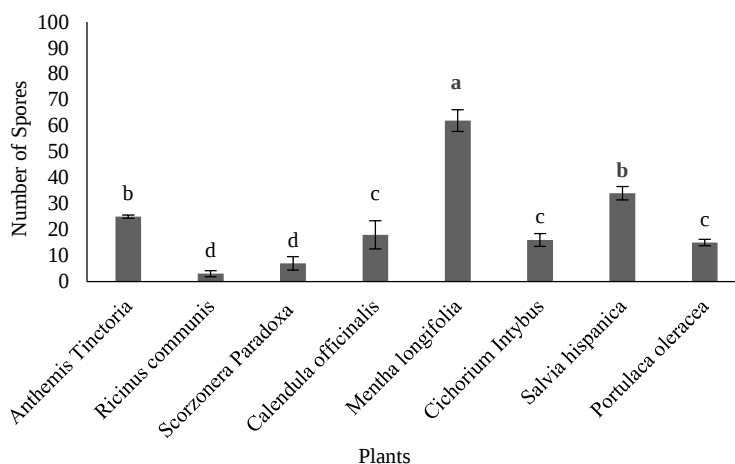
کلونیزاسیون ریشه را دارند. در گیاهان بررسی شده، کمترین درصد کلونیزاسیون کل ریشه در گیاهان بابونه و گالوک مشاهده شد ($P < 0.001$) (شکل ۶).



شکل ۶- نمودار بررسی معناداری تفاوت درصد کلونیزاسیون کل ریشه گیاهان بررسی شده. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک، تفاوت معناداری از نظر آماری ندارند. نتایج به شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($P < 0.001$).

تعداد اسپور در گرم خاک گیاهان: نتایج تعداد اسپور در گرم خاک (شکل ۷) نشان دادند اختلاف معناداری بین گیاهان کاسنی، خرفه و همیشه‌بهار از نظر

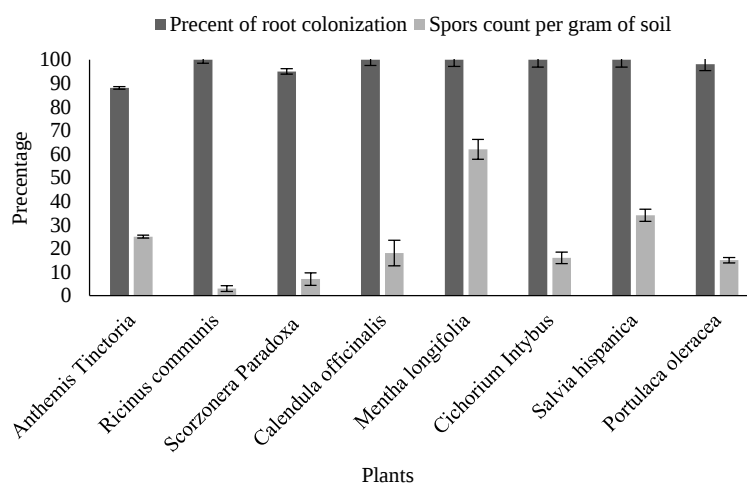
تعداد اسپور وجود ندارد. در گیاهان بررسی‌شده، گیاه پونه دارای بیشترین و گیاه کرچک دارای کمترین تعداد اسپور در گرم خاک بودند ($P < 0.001$).



شکل ۷- نمودار بررسی معناداری تفاوت تعداد اسپور در گرم خاک گیاهان بررسی‌شده. ستون‌های دارای حرف‌های مشترک، تفاوت معناداری از نظر آماری ندارند. نتایج به‌شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($P < 0.001$).

رابطه درصد کلونیزاسیون ریشه با تعداد اسپور در ۱۰ گرم خاک: در پژوهش حاضر، ارتباط بین درصد کلونیزاسیون ریشه و تعداد اسپور در ۱۰ گرم خاک برای هریک از گیاهان مطالعه‌شده به‌شکل جداگانه ارزیابی و

بررسی شد (شکل ۸). بر اساس نتایج، در تمام گیاهان بررسی‌شده همبستگی مثبتی بین تعداد اسپور موجود در ۱۰ گرم خاک و درصد کلونیزاسیون ریشه وجود دارد.



شکل ۸- نمودار بررسی معناداری تفاوت درصد کلونیزاسیون ریشه با تعداد اسپور در گرم خاک قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در ۱۰ گرم خاک گیاهان بررسی‌شده. نتایج به‌شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($P < 0.001$).

همیشه‌بهار، کاسنی و پونه؛ *Funneliformis mosseae* گونه غالب خرفه و تخم‌شربتی و *Septoglosum constrictum* گونه غالب بابونه، کرچک و گالوک شناسایی شدند (شکل ۹).

ویژگی‌های ریخت‌شناسی گونه‌های غالب:

Claroideoglosum etunicatum دارای اسپور منفرد، زرد تا نارنجی‌رنگ، کروی و به ضخامت ۱۲۵ تا ۱۶۰ میکرومتر است. دیواره اسپور دولایه‌ای و به ضخامت ۸ تا ۱۳ میکرومتر است: لایه اول (L1) موسیلاژی و صورتی مایل به قرمز و لایه دوم (L2) ورقه‌ای با زیرلایه‌های به هم چسبیده و زردرنگ است (شکل ۹).

Funneliformis mosseae دارای اسپور منفرد، کروی، زرد مایل به قهوه‌ای و به قطر ۱۹۵ تا ۲۰۵ میکرومتر است که در هنگام بلوغ تیره می‌شود. دیواره اسپور از سه لایه تشکیل شده است: لایه اول (L1) ناپایدار و موسیلاژی، لایه دوم (L2) نیمه‌ارتجاعی و قهوه‌ای مایل به قرمز و لایه سوم (L3) ورقه‌ای و زرد مایل به قهوه‌ای است. رشد لایه سوم به درون هیف متصل به اسپور ادامه می‌یابد و باعث بسته‌شدن روزنه (SE) می‌شود. هیف استوانه‌ای تا قیفی است و دیواره آن از دولایه تشکیل شده است (شکل ۹).

Septoglosum constrictum دارای اسپور منفرد، قرمز تا قهوه‌ای تیره، کروی و به قطر ۱۵۳ تا ۱۸۲ میکرومتر است. لایه اول دیواره (L1) شفاف و ناپایدار و لایه دوم آن (L2) ورقه‌ای و قرمز مایل به قهوه‌ای است. هیف متصل به اسپور، زرد مایل به قهوه‌ای، مستقیم یا خمیده و در محل اتصال، باریک شده است (شکل ۹). روزنه ابتدا نازک و سپس با افزایش سن، ضخیم و با یکی از لایه‌های داخلی لایه دوم بسته (SE) می‌شود.

شناسایی گونه قارچ میکوریز آربوسکولار موجود در

خاک هر گیاه: پس از شمارش و محاسبه تعداد اسپورهای موجود در خاک ریزوسفر هر گیاه، اسلاید دائمی از اسپورها تهیه و سپس شناسایی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی انجام شد (جدول ۲).

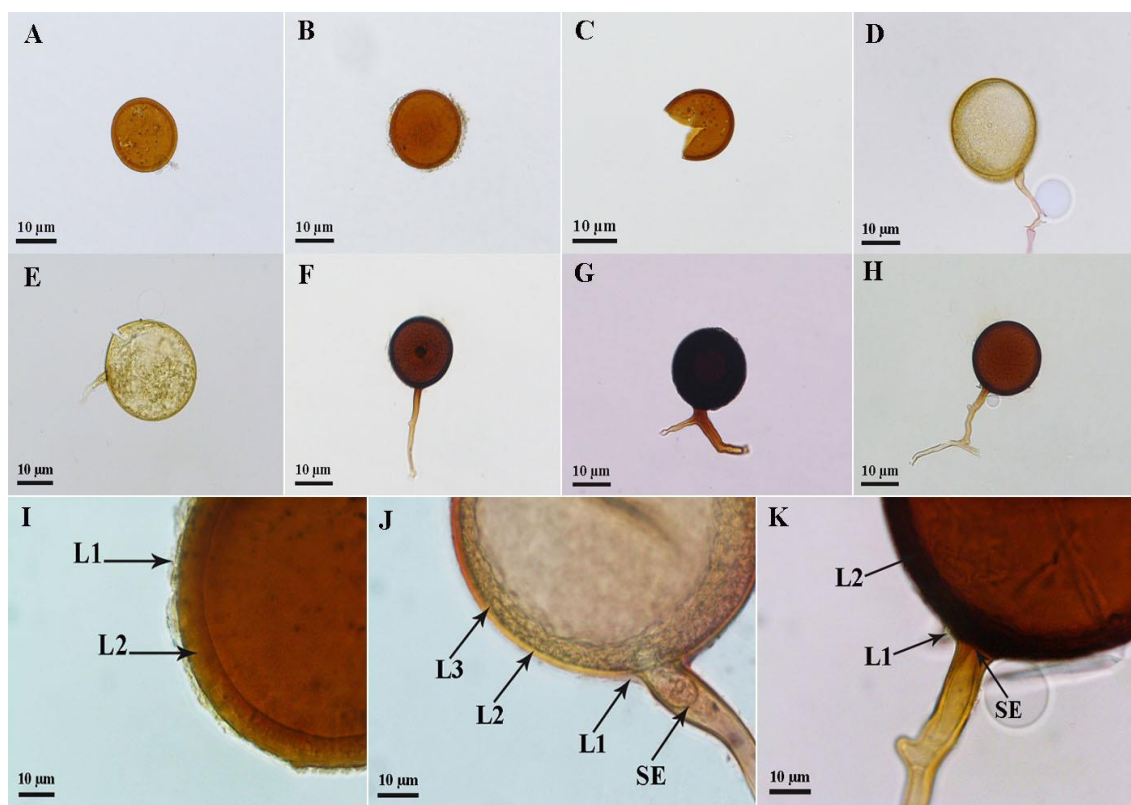
جدول ۲- گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار شناسایی شده در

خاک هر گیاه

گیاه میزبان	گونه‌های شناسایی شده
همیشه‌بهار	<i>Claroideoglosum etunicatum</i> <i>C. claroideum</i> <i>F. mosseae</i> <i>F. geosporum</i> <i>Rhizoglosum clarum</i>
کاسنی	<i>Septoglosum constrictum</i> <i>F. mosseae</i>
تخم‌شربتی	<i>Se. constrictum</i> <i>C. etunicatum</i> <i>F. mosseae</i>
خرفه	<i>F. mosseae</i> <i>Viscospora viscos</i>
بابونه	<i>C. etunicatum</i> <i>Se. constrictum</i> <i>Se. deserticola</i> <i>F. mosseae</i> <i>F. caledonium</i> <i>R. clarum</i> <i>V. viscosa</i>
گالوک	<i>C. etunicatum</i> <i>Diversispora spurca</i> <i>Se. constrictum</i> <i>R. clarum</i>
پونه	<i>S. constrictum</i> <i>F. mosseae</i> <i>C. etunicatum</i> <i>F. caledonium</i> <i>C. claroideum</i> <i>Se. africanum</i> <i>R. irregularis</i>
کرچک	<i>Se. constrictum</i> <i>Se. turnauae</i> <i>Se. africanum</i> <i>C. etunicatum</i> <i>D. eburnea</i>

شناسایی گونه غالب قارچ میکوریز آربوسکولار

موجود در خاک هر گیاه: پس از شناسایی گونه‌های میکوریز آربوسکولار موجود در ناحیه ریزوسفر هر گیاه، گونه غالب بررسی و شناسایی شد. بر این اساس، *Claroideoglosum etunicatum* گونه غالب



شکل ۹- تصویر میکروسکوپی گونه‌های غالب میکوریز آربوسکولار شناسایی شده از ناحیه ریزوسفر گیاهان مطالعه شده؛ A، B و D. *Cladoideoglossum etunicatum*، C و F، *Funneliformis mosseae*، G و H، *Septoglomus constrictum*، I، J و K. لایه‌های دیواره اسپور، شکل اتصال هیف روزنه هیف اتصال، SE. L3 و L2، L1 شیوه انسداد روزنه هیف اتصال، *Septoglomus constrictum* و *Funneliformis mosseae*

بحث

اواخر فصل رشد مشاهده شده است؛ به عبارت دیگر، چنانچه نمونه‌برداری در اواخر زمستان و اوایل بهار انجام شود، امکان دستیابی به تعداد اسپور فراوان با تنوع زیاد در خاک و وجود ریشه‌های خارج‌ریشه‌ای زیاده‌تر، بیشتر است (۲۹ و ۳۰)؛ بر همین اساس، نمونه‌برداری پژوهش حاضر در اوایل فصل بهار انجام شد.

در پژوهش حاضر، سه گونه *C. etunicatum*، F. *mosseae* و *S. constrictum* گونه‌های غالب میکوریزای همزیست با گیاهان مطالعه شده شناسایی شدند. تفاوت اسپورهای *C. etunicatum* با گونه‌های دیگر این جنس در ساختار دیواره اسپور دو لایه‌ای است که گونه *C. etunicatum* دارای دیواره اسپور دو لایه‌ای است (۳۱)؛

حدود ۹۰ درصد گیاهان آوندی به‌طور طبیعی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار رابطه همزیستی مفید دارند (۲۸). در پژوهش حاضر، مشاهده اندام‌های قارچی میکوریز آربوسکولار (آربوسکول، وزیکول، ریشه و اسپور) در ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده و همچنین وجود اسپورهای این گروه قارچی در ناحیه ریزوسفر گیاهان دارویی مطالعه شده، همزیستی میکوریزی را نشان داد. پژوهشگران مختلف تأثیر تغییرات فصلی بر میزان جمعیت اسپور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در ریزوسفر گیاهان را بررسی کرده‌اند. در اغلب این پژوهش‌ها، معمولاً بیشترین تعداد اسپور در اواسط یا

متوسط تعداد اسپور در هر ۱۰ گرم خاک برابر ۶ و ۳۹ بود. گیاهان بررسی‌شده در زیستگاه‌های طبیعی اغلب ریشه‌های سطحی‌تری نسبت به گیاهان درختی دارند؛ بنابراین، متفاوت بودن تعداد اسپور در گرم خاک محتمل است. در خاک‌های کشاورزی معمولاً تعداد اسپور بیشتر، اما تنوع کمتر است که این امر احتمالاً به علت خاک‌ورزی و عملیات کشاورزی در خاک و کشت گونه‌های گیاهی مختلف با قابلیت متفاوت میزبانی قارچ‌های میکوریز است.

پژوهشگران بسیاری همبستگی بین جمعیت اسپور میکوریزی و میزان کلونیزاسیون ریشه را گزارش کرده‌اند (۳۶ و ۳۷). بررسی‌های اخیر نشان می‌دهند حضور و جمعیت اسپورهای قارچ میکوریز آربوسکولار ارتباط مستقیمی با توانایی کلونیزاسیون ریشه‌های گیاهان ندارد (۳۸). در پژوهش حاضر، نتایج درصد کلونیزاسیون ریشه و تعداد اسپور در هر گرم خاک ثابت کرد اگرچه مقادیر کاملاً متفاوتی از اسپور در خاک گیاهان مطالعه‌شده مشاهده می‌شود، این گیاهان توانایی ۱۰۰ درصدی در کلونیزاسیون ریشه نشان می‌دهند. گیاه کرچک با کمترین میزان اسپور خاک (۳ اسپور در هر ۱۰ گرم خاک) و کلونیزاسیون ۱۰۰ درصدی دارای بیشترین قدرت کلونیزاسیون بود؛ در حالی که گیاه بابونه باوجود ۲۵ عدد اسپور در هر ۱۰ گرم خاک قادر به کلونیزاسیون ۱۰۰ درصدی ریشه نبود (شکل ۸). نتایج بررسی مافازیا^{۱۷} و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند گیاهان خانواده Asteraceae درصدهای کلونیزاسیون متفاوتی در خاک‌های مختلف دارند که این مطلب بیان می‌کند نوع و ویژگی‌های خاک تا حد زیادی بر درصد کلونیزاسیون ریشه مؤثر است؛ همچنین مشخص شده است اسپور تنها یک بار منبع اینوکولوم میکوریزی است

این گونه در ایران از مرکبات، سویا، زیتون، غلات، آفتابگردان و مزارع نیشکر گزارش شده است (۳۲). ابعاد، رنگ اسپورها، شکل ریشه در محل اتصال و عرض گونه *F. mosseae* با توصیف‌های گردمان^{۱۳} و نیکلسون^{۱۴} (۱۹۶۳) مطابقت دارد (۳۳). نزدیک‌ترین گونه به *F. mosseae*، گونه *F. coronatus* است، ولی دیواره اسپور *F. coronatus* دولایه‌ای است. صداقتی این گونه را از پسته و همچنین از مرکبات، سویا، آفتابگردان، یونجه، زیتون، نیشکر و غلات گزارش کرده است (۳۴). گونه *S. constrictum* به علت رنگ متمایزکننده آن و همچنین باریک شدن هیف در محل اتصال به اسپور به آسانی از سایر گونه‌ها شناخته می‌شود؛ این گونه در ایران از مرکبات، گیلاس، کنجد، زیتون و مزارع غلات شناسایی و گزارش شده است (۳۴).

باتوجه به شرایط محیطی و اقلیم معتدل و کوهپایه‌ای مناطق جویبار و ماهان، گونه‌های یادشده برای همزیستی با گیاهان این مناطق نسبت به سایر گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار مناسب‌ترند. نوع گونه‌های میکوریزی و جمعیت آنها در خاک با عوامل متعددی از جمله فعالیت میکروبی خاک، درجه حرارت، عملیات خاکی انجام‌شده، نور و حاصلخیزی خاک ارتباط دارد؛ از سوی دیگر، اختصاصیت میزبانی بین اعضای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با گیاهان میزبان وجود ندارد، ولی ترجیح میزبانی یا رابطه ترجیحی بین گونه‌های خاص قارچ‌ها با میزبان‌های گیاهی مشخصی اثبات شده است (۲۸ و ۳۲). حاجیان شهری^{۱۵} و عباسی^{۱۶} (۲۰۰۵) در بررسی تغییرات جمعیت قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در جنگل‌های طبیعی پسته در استان خراسان نشان دادند متوسط تعداد اسپورها در هر گرم خاک برابر ۱۰ تا ۱۲ است (۳۵). در پژوهش حاضر،

و سایر منابع مانند ریشه‌های قارچی داخل و خارج ریشه‌ای احتمالاً نقش مهم‌تری در محیط‌های طبیعی دارند (۳۹).

در میان گونه‌های غالب شناسایی شده، گونه C. *etunicatum* که مترادف با *G. etunicatum* است، گونه غالب در خاک ریزوسفر سه گونه گیاهی شناسایی شد که علاوه بر کلونیزاسیون صد درصدی ریشه این گیاهان، درصد اسپور خاک آنها نیز مقادیر درخور توجهی داشت. بررسی مطالعه‌های پیشین نشان می‌دهد جنس *Glomus* و جنس‌های جداشده از آن مانند *Claroideoglomus*، *Rhizophagus* و *Funneliformis* بیشترین مقدار و تراکم را در خاک‌های مختلف دارند. از آنجا که *Glomus* همزیست عمومی با بیشتر میزبان‌های گیاهی شناخته شده است، پتانسیل کلونیزاسیون گستره‌ای از گیاهان مختلف را دارد؛ همچنین به علت مقاومت زیاد در برابر عوامل محیطی، در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها حضور دارد (۳۹).

نتایج مایه‌زنی دو خانواده نعناعیان (Lamiaceae) و فرفونیان (Euphorbiaceae) با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نشان داد هر دو خانواده میزبان‌های مناسبی برای این گروه قارچی‌اند و بهبود رشد و افزایش تجمع فسفر در آنها مشاهده می‌شود. طبق نتایج این پژوهش، گیاهان خانواده نعناعیان نسبت به فرفونیان میزبان‌های بهتری‌اند (۳۳). نتایج پژوهش اخیر با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارند و گیاهان تخم‌شربتی و پونه درصد کلونیزاسیون بیشتری نسبت به خرفه نشان می‌دهند. باتوجه به نتایج پژوهش‌های اخیر و شناسایی گونه غالب قارچ میکوریز آربوسکولار همزیست با این گیاهان

می‌توان با خالص‌سازی و تکثیر این قارچ‌ها و استفاده از آنها در تولید کودهای زیستی، گام مؤثری در تولید پرورش گیاهان دارویی برداشت (۴۰).

در پژوهش ده‌ه‌ه‌ای^{۱۸} و همکاران (۲۰۱۵)، میزان کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریز آربوسکولار همزیست با گیاهان خانواده کاسنی، تعداد اسپور موجود در خاک، تنوع گونه‌های این گروه قارچی و ارتباط آنها با شرایط خاک منطقه بررسی شد. مقایسه نتایج پژوهش یادشده با بررسی حاضر نشان داد درصد کلونیزاسیون گیاهان خانواده کاسنی در عربستان نسبت به ایران کمتر است، ولی تشابه‌های گونه‌ای بین دو کشور وجود دارد و این مقایسه می‌تواند تأثیر آب‌وهوا و شرایط محیطی بر میزان کلونیزاسیون را تأیید کند (۴۱). در پژوهش القراوی^{۱۹} (۲۰۱۲)، میزان کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در گیاهان مختلف بررسی شد. در گیاه همیشه‌بهار، میزان کلونیزاسیون نسبت به سایر گیاهان بررسی‌شده بیشتر بود و میزان کلونیزاسیون کل ۹۷ درصد، کلونیزاسیون میسیلیومی ۹۰ درصد، کلونیزاسیون وزیکولی ۶۷ درصد و کلونیزاسیون آربوسکولی ۶۳ درصد گزارش شد که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد. در پژوهش انجام شده نیز گیاه همیشه‌بهار میزان کلونیزاسیون زیادی داشت و کلونیزاسیون کل، میسیلیومی و آربوسکولی ۱۰۰ درصد برآورد شد که نشان می‌دهد گیاه همیشه‌بهار میزبان مناسبی برای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار است (۴۲).

نتیجه‌گیری

درمجموع، عوامل تأثیرگذار بر همزیستی قارچ‌های میکوریز تا حد وسیعی، حتی در زیستگاه‌های مشابه، متفاوتند. شواهد به‌دست آمده در پژوهش حاضر نشان

- Weinberg P., Abbo S. Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. *Journal of Archaeological Science* 2007; 34(8): 1289-1293.
- (4) Brundrett MC. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 2002; 154(2): 275-304.
- (5) Harley JL., Smith SE. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd ed. Massachusetts: Academic Press; 2008.
- (6) Johnson C., Menge J., Schwab S., Ting I. Interaction of photoperiod and vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and metabolism of sweet orange. *New Phytologist* 1982; 90(4): 665-669.
- (7) Leake J., Johnson D., Donnelly D., Muckle G., Boddy L., Read D. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany* 2004; 82(8): 1016-1045.
- (8) Lee EH., Eo JK., Ka KH., Eom AH. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems. *Mycobiology* 2013; 41(3): 121-125.
- (9) Frank A. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze Berichte der Deutschen. *Botanischen Gesellschaft* 1885; 3(3): 28-45.
- (10) Schenck NC., Perez Y. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. 3rd ed. Florida: Synergistic Publications Gainesville; 1990.
- (11) Franken P. The plant strengthening root endophyte *Piriformospora indica*: potential application and the biology behind. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2012; 96(6): 1455-1464.
- (12) Sasanelli N., Anton A., Takacs T., D'Addabbo T., Bíró I., Malov X. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the nematocidal properties of leaf extracts of *Thymus vulgaris* L. *Helminthologia* 2009; 46(4): 230-240.
- دادند در اکوسیستم‌های طبیعی و زیستگاه‌هایی با شرایط رویشی مشابه، قارچ‌های میکوریز رفتار متفاوتی از نظر تنوع گونه، جمعیت اسپوری و درصد کلونیزاسیون ریشه نشان می‌دهند. نتایج پژوهش حاضر و پژوهش‌های مشابه نشان دادند کلونیزاسیون ریشه‌ها تحت تأثیر عوامل خاکی، محیطی و میزبان قرار دارد؛ بنابراین، تلاش بیشتر برای شفاف‌سازی و درک ارتباط بین عوامل خاکی و محیطی تأثیرگذار بر نقش این قارچ‌ها در رشد گیاهان ضروری به نظر می‌رسد.
- باتوجه به اهمیت تولید گیاهان دارویی و استقبال روزافزون دنیا برای مصرف داروهای گیاهی و اینکه گیاهان دارویی پوشش بسیاری از مراتع را تشکیل می‌دهند، همزیستی با قارچ‌های میکوریز علاوه بر افزایش شاخص‌های رشدی، مراحل نمو گیاه را نیز تسریع می‌بخشد؛ بنابراین می‌توان از پژوهش‌های همزیستی میکوریز با گیاهان برای افزایش سرعت توالی در طبیعت و به شکل ابزاری مفید برای احیای اکوسیستم‌های نیمه‌خشک بهره برد. اداره‌های منابع طبیعی و جهاد کشاورزی نیز می‌توانند از نتایج پژوهش حاضر استفاده کنند و می‌توان با شناسایی میکوریزهای همزیست، اقدام به تجاری‌سازی و تولید انبوه قارچ‌های میکوریز کرد و از آنها برای بهره‌وری بهتر تولید گیاهان دارویی در مزارع استفاده کرد.

References

- (1) Uniyal RC., Uniyal MR., Jain P. *Cultivation of medicinal plants in India*. Dehli: TRAFFIC-India; 2000.
- (2) Hamilton A. Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodiversity and Conservation* 2004; 13(8): 1477-1517.
- (3) Kerem Z., Lev-Yadun S., Gopher A.,

- (13) Rai M., Acharya D., Singh A., Varma A. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza* 2011; 11(3): 123-128.
- (14) White JA., Tallaksen J., Charvat I. The effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation at a roadside prairie restoration site. *Mycologia* 2008; 100(1): 6-11.
- (15) Zubek S., Mielcarek S., Turnau K. Hypericin and pseudohypericin concentrations of a valuable medicinal plant *Hypericum perforatum* L. are enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 2012; 22(2): 149-156.
- (16) Hemashenpagam N., Selvaraj T. Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) fungus and plant growth promoting rhizomicroorganisms (PGPR's) on medicinal plant *Solanum viarum* seedlings. *Journal of Environmental Biology* 2011; 32(5): 579.
- (17) Zubek S., Błaszowski J., Seidler-Łożykowska K., Bąba W., Mleczko P. Arbuscular mycorrhizal fungi abundance, species richness and composition under the monocultures of five medicinal plants. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 2013; 12: 127-141.
- (18) Mehravaran H., Minassian H. Study of mycorrhizal citrus in Iran. Proceedings of the 9th Iranian Congress of Medicinal Plants. University of Tehran, Tehran, Iran 1984; 91.
- (19) Sadrravi M. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi of wheat, barley, maize and sorghum in Tehran and Khuzestan provinces [Dissertation]. Tehran: Tarbiat Modares University; 1999.
- (20) Sedaghati E. Isolation and identification of arbuscular mycorrhizal fungi in the Khorasan and Qazvin provinces [Dissertation]. Tehran: Tarbiat Modares University; 2005.
- (21) Zangeneh S., Shirvani A., Alian Y. Introducing new species of arbuscular-mycorrhizal fungi from the Iranian citrus rhizosphere. *Vegetables* 2004; 6: 8-77.
- (22) Elias Y. Coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi in some medicinal plants and vegetables of Hamadan [Dissertation]. Hamedan: University of Bu Ali Sina; 2013.
- (23) Moghadasan SH., Safipour Afshar A. The role of mycorrhiza in drought tolerance of Marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Crop Ecophysiology* 2016; 9(4): 121-125.
- (24) Gerdemann J., Nicolson TH. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 1963; 46(2): 235-244.
- (25) Phillips JM., Hayman D. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 1970, 55(1): 118-158.
- (26) Oehl F., Silva GA., Goto BT., Sieverding E. Glomeromycota: Three new genera and glomoid species reorganized. *Mycotaxon* 2011; 116(1): 75-120.
- (27) Schenck NC., Perez Y. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi* .3rd ed. Florida: Synergistic Publications Gainesville; 1990.
- (28) Menge J., Steirle D., Bagyaraj D., Johnson E., Leonard R. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. *New Phytologist* 1978; 80(3): 575-578.
- (29) Giovannetti M. Seasonal variations of vesicular-arbuscular mycorrhizas and endogonaceous spores in a maritime sand dune. *Transactions of the British Mycological Society* 1985; 84(4): 679-684.
- (30) Sylvia DM. Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Uniola paniculata* in Florida foredunes. *Mycologia* 1986; 78(5): 728-734.
- (31) Stürmer SL., Morton JB. Developmental

- patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. *Mycologia* 1997; 89(1): 72-81.
- (32) Ross J. Effect of nontreated field soil on sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with soybean. *Phytopathology* 1980; 70(12): 1200-1205.
- (33) Gerdemann J., Nicolson TH. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 1963; 46(2): 235-244.
- (34) Ershad J. *Iranian Fungi*. Tehran: Research Organization Publication; 2008.
- (35) Hajian Shahri M., Abbasi MV. Variation of spores vesicular- arbuscular mycorrhiza population in pistachio natural forest soil in north of Khorassan. *Isfahan University of Technology* 2005; 8(4): 77-86.
- (36) Stürmer S., Bellei M. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catarina, Brazil. *Canadian Journal of Botany* 1994; 72(3): 359-363.
- (37) Trappe J. Three new *Endogonaceae*: *Glomus constrictus*, *Sclerocystis clavispora*, and *Acaulospora scrobiculata* [Fungi]. *Mycotaxon* 1977; 120-125.
- (38) Clapp J., Young J., Merryweather J., Fitter A. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist* 1995; 130(2): 259-265.
- (39) Mafaziya F., Madawala S. Abundance, richness and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in natural and semi-natural land use types at upper Hantana. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)* 2015; 44(1): 25-34.
- (40) Sonivaldo RB., Rayane MS., Emerson LB., Odair A. Meta-analysis of *Lamiaceae* and *Euphorbiaceae* medicinal plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Australian Journal of Crop Science* 2019; 13(4): 588-598.
- (41) Dhar P., AL-Qarwi A., Mridha M. Arbuscular mycorrhizal fungal association in *Asteraceae* plants growing in the arid lands of Saudi Arabia. *Journal of Arid Land* 2015; 7(5): 676-686.
- (42) Al-Qarawi AA., Mridha MAU., Alghamdi OM. Diversity of structural colonization and spore population of arbuscular mycorrhizal fungi in some plants from Riyadh, Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 2012; 6(3): 1119-1125.

-
- ¹- Rai
²- Hemashenpagam
³- Selvaraj
⁴- Zubek
⁵- Mehravaran
⁶- MinassianH
⁷- Sadrravi
⁸- Sedaghati
⁹- Elias
¹⁰- Moghadasan
¹¹- Phillips
¹²- Hayman
¹³- Gerdemann
¹⁴- Nicolson
¹⁵- Hajian Shahri
¹⁶- Abbasi
¹⁷- Mafaziya
¹⁸- Dhar
¹⁹- Al-Qarawi