بررسی تأثیر تلقیح قارچ میکوریز بر سطوح مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی و کیفیت تولید ریزغده در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

Evaluation the Effect of Mycorrhizal Inoculums on Plant Growth Regulator Levels and Quality of Minituber Production in Potato Plantlets

خسرو پرویزی[۱]، فرشاد دشتی[۲*]، محمود اثنی‌عشری[۳]، فرهاد رجالی[۴] و مسعود بوجار[۵]

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۴/۲۳

چکیده

گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت از دو رقم سیب‌زمینی (رقم‌های آگریا و سانته) در هنگام انتقال به گلخانه با دو گونه قارچ میکوریز (*Glomus mosseae* و *G. etunicatum*) به‌صورت مجزا و در مخلوط با هم در قالب آزمایش فاکتوریل و در چهار تکرار مایه‌کوبی شدند. هشت هفته پس از تلقیح درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاهچه‌ها تعیین شد و همچنین از مواد تنظیم‌کننده رشد داخلی شامل اکسین، سایتوکینین و جیبرلین اندازه‌گیری به عمل آمد. پس از برداشت، ریزغده‌های تولیدی توزین شده عملکرد کل برآورد گردیده و درصد ماده‌ی خشک ریزغده نیز تعیین شد. نتایج نشان داد که مایه‌ی تلقیح قارچ بر درصد کلونیزاسیون، کیفیت تولید ریزغده و میزان مواد تنظیم‌کننده رشد داخلی (اکسین، سایتوکینین و جیبرلین) در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌دار داشت. اثرات متقابل رقم در ارتباط با عملکرد کل در سطح احتمال ۱ درصد و تولید جیبرلین و درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. با مقایسه میانگین صفات مشخص شد که تلقیح با گونه‌ی *G. etunicatum* و مخلوط دو گونه بر سطوح هر سه ماده‌ی تنظیم‌کننده رشد، همچنین بر شدت کلونیزاسیون ریشه و تعداد ریزغده‌ی تولیدی اثرات مثبت‌تری نسبت به گونه‌ی *G. mosseae* داشتند. بیشترین میزان ریزغده در تلقیح با مخلوط دو گونه میکوریز (متوسط تعداد ۱۳/۸۱ عدد ریزغده و وزن متوسط ۴۰/۵۹ گرم در گیاهچه) حاصل گردید که نسبت به کاربرد دو گونه به‌تنهایی و تیمار شاهد در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار داشت. با کاربرد جداگانه هر دو گونه قارچ و نیز مخلوط آنها میزان درصد ماده خشک ریزغده افزایش پیدا کرد که تفاوت‌ها با تیمار شاهد در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار شد.

واژه‌های کلیدی: گیاهچه سیب‌زمینی، همزیستی میکوریزی، مایه‌کوبی، فیتوهورمون، عملکرد

۱. دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان
۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده‌کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان
۳. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان
۴. استادیار مؤسسه خاک وآب، بخش بیولوژی خاک، کرج
۵. دانشیار گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی، دانشگاه تربیت معلم، تهران
*: نویسنده مسئول Email: dashti1350@yahoo. com

این مقاله بخشی از رساله دکتری نویسنده اول می‌باشد که در دانشگاه بوعلی‌سینا اجرا شده است.

مقدمه

رشد و نمو گیاهان وابستگی کامل به میزان مواد تنظیم‌کننده رشد داخلی[1] و تعادل آنها دارد که به‌عنوان فیتوهورمون[2] در گیاهان شناسایی شده‌اند. افزایش سطوح هورمون‌های گیاهی سایتوکینین، اسیدآبسیزیک و مواد شبه‌جیبرلینی در بافت‌های گیاهان میزبان پس از کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریز در برخی گیاهان به اثبات رسیده است (*آلن*[3] و همکاران، 1980 و 1982؛ *بارآ*[4]، 1986 و *جنتسچل*[5] و همکاران، 2007) . مشخص شده است که ریسه‌های قارچ و اسپورهای ثانویه در گونه *G. mosseae* قادر به تولید دو ماده شبه‌جیبرلینی، چهار ماده شبه سایتوکینینی و همچنین چند ماده شبه‌اکسینی بوده‌اند (*بارآ و آزکون- آولر*[6]، 1982). *ادریس*[7] و همکاران (1984) دریافتند که که در مرکبات بدون ارتباط با میزان فسفر سطوح سایتوکینین در برگ‌های گیاهان میکوریزی افزایش می‌یابد.

در گیاهان حاصل از کشت بافت معمولاً مرحله سازگاری[8] نیاز به مدیریت خاص داشته و چنانچه با تدابیر کافی انجام نشود ممکن است استقرار گیاهچه‌ها را به تأخیر انداخته و توسعه و نمو آنها را با مشکل مواجه کند و در مواردی حتی منجر به مرگ آنها بشود. اغلب در این مرحله شوک ناشی از انتقال[9] توقف رشد ایجاد کرده و از کارآیی و راندمان نهایی محصول می‌کاهد. گزارش شده است که در حدود ۱۰ تا ۱۴ درصد از محصولات گل و سبزی که از طریق کشت بافت تولید می‌شوند در مرحله انتقال آسیب‌دیده و یا به استاندارد تجاری قابل عرضه به بازار نمی‌رسند. مشکل اساسی به‌دلیل عدم بازیافت توسعه سیستم ریشه‌ای کارآمد در آنها می‌باشد (*کلرک و بروگ*[10]، 1992). این مشکل از طریق به‌کارگیری قارچ‌های میکوریز در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در چندین محصول باغی مرتفع شده است (*کیرمن*[11] و همکاران، 1984؛ *راوولانیرینا*[12] و همکاران، 1989؛ *اسچلنباوم*[13] و همکاران، 1991؛ *اوسوکاینن و وستبرگ*[14]، 1994؛ وستبرگ *و استوم*[15]، 1994؛ *وارما و اسچوپ*[16]، 1995 و هبتی و همکاران[17]، 2001)

در سیب‌زمینی هرچند پژوهش‌های کمتری در تلقیح میکوریز بر گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت انجام شده اما نتایج آنها در کارآیی فتوسنتز و توسعه فاکتورهای رشد و عملکرد نهایی مؤثر و مثبت بوده است (*نیمیرا*[18] و همکاران، 1995؛ *گراهام*[19] و همکاران، 1996؛ *دوفی*[20] و همکاران، 1999؛ *الیزابت*[21] و همکاران، 2000 و *یاو*[22] و همکاران، 2002).

تا زمان انجام این پژوهش نگارندگان به یافته‌ای در ارتباط با اثر کاربرد قارچ میکوریز بر سطوح هورمون‌های درون‌زاد در سیب‌زمینی و به‌ویژه در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت دسترسی پیدا نکردند. بنابراین لازم است همراه با اندازه‌گیری راندمان تولید ریزغده و عملکرد نهایی، تغییرات مواد هورمونی گیاهی و چگونگی تأثیر سیستم همزیستی بر این فاکتورها نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد دو گونه قارچ میکوریز *G. mosseae* و *G.etunicatum* بر سطوح مواد تنظیم‌کننده رشد داخلی و همچنین عملکرد کمی و کیفی گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت سیب‌زمینی انجام شد. محل اجرای پژوهش آزمایشگاه کشت بافت و گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی همدان بود. اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا انجام شد. در این آزمایش تلقیح قارچ میکوریز در گلخانه و در زمان انتقال گیاهچه‌های حاصل از رشد تک‌گره‌ها به گلدان‌ها انجام گرفت. طرح آزمایشی مورد استفاده آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کامل تصادفی بود که دو گونه‌ی قارچ میکوریز به‌صورت مجزا و در مخلوط با هم به‌همراه شاهد در چهار سطح در قالب یک فاکتور و نوع رقم (سانته و آگریا) به‌عنوان فاکتور دیگر در دو سطح مدنظر قرار گرفت. هر تیمار آزمایشی در چهار تکرار انجام شد و در هر تکرار هم تعداد ۱۶ گیاهچه در هر سینی کاشت با تراکم ۸۰ گیاهچه در مترمربع

1. Endogenous plant growth regulators
2. Phytohormone
3. Allen *et al*.
4. Barea
5. Jentschel *et al*.
6. Barea and Azcon. Auilar
7. Edriss *et al*.
8. Acclimation
9. Translate shoke
10. Klerk and Brug
11. Kierman *et al*.
12. Ravolanirina *et al*.
13. Schllenbaum *et al*.
14. Usoukainen and Vestberg
15. Vestberg and Estuan
16. Varma and Schuepp
17. Habte *et al*.
18. Niemira *et al*.
19. Graham *et al*.
20. Duffy *et al*.
21. Elizabeth *et al*.
22. Yao *et al*.

به‌صورت جداگانه کشت شدند. بدین‌منظور گیاهچه‌های انتخابی از دو رقم آگریا و سانته با مایه تلقیح از دو گونه قارچ آربوسکولار میکوریز (*G. mosseae* و *G. etunicatum*) به‌صورت مجزا و همچنین مخلوط با هم تلقیح شدند. جدایه‌ی مایه تلقیح از کلونیزه شدن دو گونه قارچ با ریشه گیاهان سویا و ذرت در گلخانه مؤسسه تحقیقات آب و خاک تهیه گردید. در هنگام کاشت گیاهچه‌ها، مقدار ۱ گرم از ریشه‌های کلونیزه شده هر گونه قارچ و یا اختلاط آنها به‌عنوان مایه تلقیح در محل کاشت و در مجاورت ریشه‌ها قرار گرفت. محیط‌کشت که ترکیبی از پیت و پرلایت (به نسبت ۲:۱) بود به‌وسیله دستگاه ضدعفونی خاک (با استفاده از بخار آب) ضدعفونی گردید. عملیات داشت و مراقبت از گیاهچه‌ها در تیمارهای شاهد (بدون استفاده از مایع تلقیح) و تیمارهای تلقیح شده به‌صورت یکسان انجام شده و تغذیه گیاهچه‌ها با محلول غذایی کامل فلورال به غلظت ۳ در هزار و به‌صورت محلول با حجم یکسان (۲۰۰ cc در هر جعبه کاشت) در هر ۱۲ روز صورت پذیرفت.

هشت هفته پس از تلقیح گیاهچه‌هایی به‌صورت تصادفی برداشت شده و جهت ارزیابی شدت کلونیزاسیون ریشه از روش *فیلیپس و هیمن*[1] (1970) استفاده شد. درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها بر اساس روش *بیرمن و لیندرمن*[2] (1980) محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری تغییرات سطوح هورمون‌های درون‌زاد جیبرلین، اکسین و سایتوکنین در شاخساره پس از جمع‌آوری در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه گروه علوم زیست‌شناسی دانشگاه تربیت معلم تهران منتقل و بلافاصله در داخل فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. استخراج و خالص‌سازی نمونه‌ها بر اساس روش *یوکاتا*[3] *یوکاتا*[3] و همکاران (1994) و به شرح زیر صورت گرفت.

محلول استخراج شامل ۰/۲۵ گرم بوتیلات‌هیدروکسی تولوئن[4] و ۰/۵ گرم آسکوربات‌سدیم در متانول با درجه‌ی HPLC به حجم یک لیتر بود. مقدار یک گرم از ماده گیاهی را با اضافه کردن ۲۰ میلی‌لیتر از این محلول در داخل آون چینی خرد نموده و نمونه‌ها به‌مدت ۱۶ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌ها سپس از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شده و باقیمانده سه مرتبه با محلول استخراج شستشو داده شدند. نمونه‌ها به دستگاه تبخیرکننده گردان منتقل شده و متانول اضافی در دمای ۳۵ درجه تبخیر گردید و سپس هم حجم محلول باقیمانده بافر فسفات ۰/۵ مولار اضافه شد و با اضافه کردن پتاس ۰/۲ نرمال pH محلول به ۸/۵ تنظیم شد. به محلول حاصل به‌میزان برابر اتیل استات اضافه نموده و پس از ورتکس کردن فاز بالایی محلول دور ریخته و باقیمانده در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. pH بخش آبی را توسط اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال به ۲/۵ رسانده و دوباره به میزان برابر اتیل‌استات اضافه نموده و این بار فاز اتیل‌استات را نگه داشته و فاز آبی حذف گردید. فاز اتیل‌استات مجدداً به دستگاه تبخیرکننده گردان منتقل شده و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. باقیمانده بلافاصله در ۴ میلی‌لیتر متانول حل گردید. نمونه‌ها از فیلتر تترافلوئور و اتیلن ۰/۴۵ میکرون عبور داده شده و سپس مقدار ۲۵ میکرولیتر از نمونه به ستون HPLC با ستون C18 و شدت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه تزریق گردید. حلال شستشو حاوی نسبت مساوی آب دیونیزه و متانول فوق خالص به‌همراه ۰/۲٪ اسیدفورمیک بود. محلول استاندارد هر یک از هورمون‌ها با غلظت ۱ گرم بر لیتر در متانول ۲۰٪ با اضافه کردن ۱٪ اسیدفورمیک تهیه شد و در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

در هنگام برداشت، ریزغده‌های تولیدی توزین و شمارش شده و عملکرد ریزغده در هر گیاهچه مشخص شد. جهت اندازه‌گیری ماده خشک ریزغده سه نمونه تصادفی از هر تکرار جدا شده و کاملاً شسته شده و خشک شده و سپس توزین شدند. برش‌هایی به‌صورت چیپس از آنها تهیه شد و در آون در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. چند نوبت توزین شده پس از رسیدن به وزن ثابت، درصد ماده خشک آنها از تقسیم وزن نهایی بر وزن اولیه و ضرب عدد حاصل در ۱۰۰ تعیین شد.

نتایج

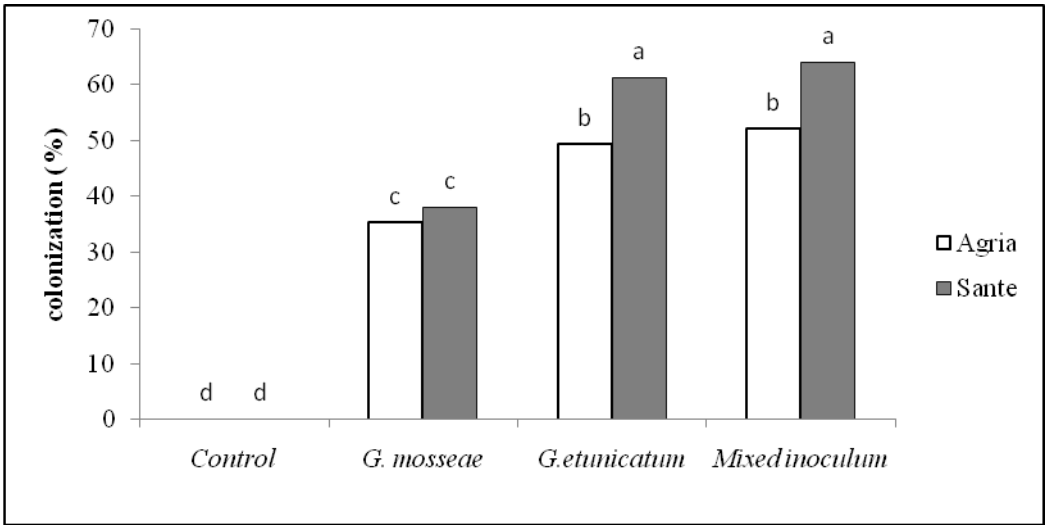
با تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش مشخص شد که اثر قارچ‌های میکوریز بر شدت کلونیزاسیون و همچنین بر سطوح هر سه نوع ماده‌ی تنظیم‌کننده رشد داخلی در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است. اثر نوع رقم بر درصد کلونیزاسیون و نیز سطوح داخلی هر سه نوع ماده‌ی تنظیم‌کننده‌ی رشد در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. اثرات متقابل رقم و قارچ میکوریز صرفاً بر مقدار جیبرلین و درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح ۵٪ معنی‌دار شد (شکل‌های ۱ و ۲).

تلقیح با قارچ میکوریز بر وزن متوسط ریزغده و نیز تعداد کل ریزغده‌ی تولیدی در سطح احتمال ۱٪ تأثیر معنی‌دار داشت. وزن خشک ریزغده نیز تحت تأثیر کاربرد با قارچ

1. Phillips and Hayman
2. Bierman and Linderman
3. Yokata *et al*.
4. Butylated hydroxytoluen

میکوریز قرار گرفت و تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ حاصل شد. اثر نوع رقم و همچنین اثر متقابل رقم و قارچ میکوریز در تولید اندازه ریزغده همچنین وزن کل ریزغده در گیاهچه در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. اما اثر متقابل رقم و قارچ میکوریز در درصد ماده خشک ریزغده معنی‌دار نشد (جدول۱).

با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که بیشترین میزان درصد کلونیزاسیون در گیاهچه‌های سیب‌زمینی در تلقیح با مخلوط دو گونه‌ی قارچ حاصل شد که با متوسط ۵۸ درصد نسبت به کاربرد گونه *G. etunicatum* با متوسط ۵۵/۲۸ درصد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ نشان نداد اما با گونه *G. mosseae* (با متوسط ۳۶/۶۲ درصد) تفاوت‌ها در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. از طرفی واکنش دو رقم در پاسخ به شدت کلونیزاسیون در تیمارهای مختلف میکوریزایی روند مشابهی نداشت و رقم سانته نسبت به رقم آگریا به شیوه‌ای مؤثرتر تحت تأثیر تلقیح با مخلوط دو گونه و نیز تلقیح با گونه *G. etunicatum* قرار گرفت (شکل ۱).



شکل۱: مقایسه میانگین درصد کلونیزاسیون ریشه بر اثر تلقیح با قارچ میکوریز در گیاهچه‌های سیب‌زمینی (*میانگین‌هایی که دارای حروف غیر مشابه هستند از نظر آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار هستند)

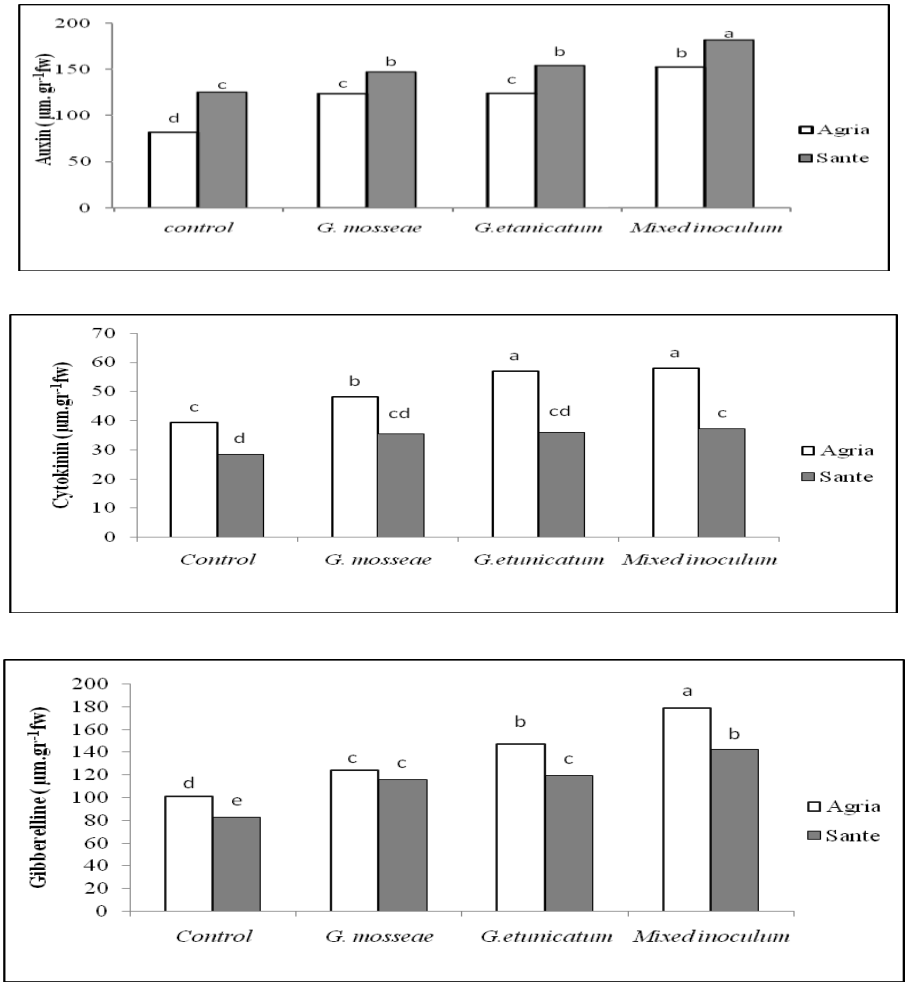
Fig. 1: Mean analysis of colonization percentage affected by mycorrhizal inoculants in potao plantlets (* labels with different letters are significantly different at 5% by DMRT)

با کاربرد قارچ میکوریز سطح اُکسین داخلی در گیاهچه‌ها افزایش معنی‌دار پیدا کرد. بیشترین میزان اُکسین داخلی در تلقیح با مخلوط دو گونه حاصل شد. که با متوسط ۱۶۷/۰۵ میکرومول در گرم وزن‌تر گیاهچه با سایر تیمارهای میکوریز و نیز شاهد تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ نشان داد. تفاوت معنی‌داری در سطح اُکسین با کاربرد جداگانه‌ی دو گونه قارچ به‌وجود نیامد اما با تیمار شاهد تفاوت‌ها در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. بیشترین میزان سایتوکینین داخلی در تیمار تلقیح با مخلوط دو گونه قارچ به‌دست آمد که با متوسط ۴۷/۷۲۵ میکرومول در گرم وزن‌تر با کاربرد جداگانه گونه *G. etunicatum* (متوسط ۴۶/۴۵۰ میکرومول در گرم) اختلاف معنی‌دار نداشت اما با تیمار شاهد و نیز گیاهچه‌های تلقیح شده با گونه *G. mosseae* تفاوت‌ها معنی‌دار شد. دو رقم در سطوح اُکسین و سایتوکینین داخلی در تیمارهای شاهد و نیز کاربرد قارچ میکوریز روند تغییرات نسبتاً ثابتی داشتند و عموماً رقم سانته در میزان اُکسین و رقم آگریا در میزان سایتوکینین داخلی در اکثر تیمارها سطح بالاتری داشتند. مقدار جیبرلین هم با کاربرد قارچ میکوریز در هر دو رقم افزایش پیدا کرد اما روند تغییرات آن در دو رقم مشابه نبود. بیشترین مقدار جیبرلین داخلی در رقم آگریا و با تلقیح مخلوط دو گونه (با متوسط ۱۷۹/۱۷۵ میکرومول در گرم وزن تازه) به‌دست آمد که با کاربرد مخلوط قارچ در رقم سانته و سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ نشان داد. سطح جیبرلین داخلی در هر دو رقم با تیمار شاهد در کمترین میزان بود که با تیمارهای مختلف کاربرد قارچ میکوریز در هر دو رقم تفاوت‌ها در سطح ۵٪ معنی‌دار شد (شکل ۲).

تلقیح با قارچ میکوریز در هر دو رقم سبب افزایش معنی‌دار در وزن متوسط و تعداد ریزغده‌ی تولیدی شد. هر چند پاسخ دو رقم متفاوت بود. در مجموع دو رقم بیشترین تعداد کل ریزغده و وزن متوسط ریزغده در گیاهچه را در تلقیح با مخلوط دو گونه قارچ میکوریز تولید کردند که در رقم سانته با وزن متوسط ۴۰/۲۲ گرم و تعداد ۱۹/۰۲ عدد و در رقم

آگریا با وزن متوسط ۴۰/۶۶ و تعداد ۸/۶۰ عدد در هر گیاهچه تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها نشان داد (جدول ۱).

با تلقیح گیاهچه‌ها توسط قارچ‌های میکوریز درصد ماده خشک ریزغده به‌صورت قابل توجهی افزایش پیدا کرد به‌طوری‌که میانگین درصد ماده خشک ریزغده در هر دو رقم در تیمارهای میکوریزایی تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ با تیمار شاهد نشان داد. میزان افزایش ماده خشک ریزغده در هر دو رقم در گیاهچه‌های تلقیح شده با گونه *G. etunicatum* و مخلوط دو گونه بیشتر از میزان آن در تلقیح با گونه *G. mosseae* بود. هر چند تفاوت‌ها در سطح ۵٪ معنی‌دار نشد. وضعیت تغییر ماده‌ی خشک در هر دو رقم در تیمارهای مختلف روند مشابهی داشت. در مجموع میزان تولید ماده خشک ریزغده در رقم آگریا نسبت به رقم سانته بیشتر بود و تفاوت دو رقم در سطح ۵٪ با آزمون دانکن معنی‌دار شد (جدول ۱).



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر قارچ‌های میکوریز بر سطوح هورمون‌های داخلی در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت سیب‌زمینی

(*میانگین‌هایی که دارای حروف غیر مشابه هستند از نظر آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار هستند)

Fig. 2: Mean analysis of mycorrhizal fungi effect on level of endogenous hormones in potao plantlets (* labels with different letters are significantly different at 5% by DMRT)

بحث

افزایش سنتز فیتوهورمون‌های گیاهی در گیاهچه‌های سیب‌زمینی در نتیجه تلقیح با قارچ میکوریز از دست‌آوردهای مهم این تحقیق بود که تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته بود. تغییرات سطوح هورمون‌های گیاهی و تعادل آنها در سیب‌زمینی، رشد و توسعه شاخ و برگ را متأثر نموده و عامل عمده‌ای در تنظیم فرآیند غده‌سازی می‌باشد (جکسون[1]، 1999). در این پژوهش با به‌کارگیری میکوریز در تمامی تیمارها میزان سنتز هر سه نوع تنظیم‌کننده رشد افزایش پیدا

1. Jackson

کرد. افزایش سنتز آنها به‌طور قطع عامل عمده‌ای در استقرار مطلوب‌تر، تحریک رشد و افزایش عملکرد نهایی در گیاهچه‌ها بوده است. نقش هورمون‌های جیبرلین (GA3)، کاینتین و ایندول‌استیک‌اسید (IAA) در توسعه شاخساره، سطح برگ، تعداد برگ و استولون و نیز عملکرد کمی و کیفی غده با پژوهش *کومار*[1] و همکاران (1981) نیز مورد بررسی قرار گرفته است. با نتایج پژوهش ایشان مشخص شد که جیبرلین اثر معنی‌داری بر توسعه سطح برگ افزایش تعداد برگ، استولون و تعداد غده داشته است. اگر چه با مصرف جیبرلین وزن خشک ساقه و غده کاهش پیدا کرد. در مقابل با مصرف اکسین IAA و کاینتین وزن خشک ساقه و برگ افزایش پیدا کرد اما از تعداد برگ و سطح آن کاسته شد. اکسین IAA در ترکیب با جیبرلین و یا به‌تنهایی عملکرد غده را به‌صورت معنی‌دار افزایش داد. قند کل با استعمال جیبرلین به‌تنهایی و در ترکیب با دو هورمون دیگر افزایش معنی‌دار داشت. اما با کاربرد جیبرلین از میزان نشاسته غده‌ها کاسته شد در حالی‌که مصرف دو هورمون اکسین و کاینتین مقدار نشاسته کل را افزایش دادند. با این وصف و با توجه به نقش انکارناپذیر مواد تنظیم‌کننده رشد در فرآیند رشد و نمو و غده‌زایی در سیب‌زمینی، به نظر می‌رسد که در پژوهش اخیر افزایش سطوح هر سه هورمون در نتیجه تلقیح با میکوریز در برهمکنش با همدیگر عمل کرده و ضمن تقویت رشد و تحریک تشکیل استولون بیشتر، شانس تولید ریزغده را افزایش داده و اثری قابل‌توجه در افزایش نسبت تکثیر و عملکرد نهایی در گیاهچه‌ها داشته‌اند. در تحقیق دیگر نقش سیگنالی اکسین در ایجاد رابطه همزیستی قارچ میکوریز با گیاه پامچال به اثبات رسیده است (*جنتسچل* و همکاران، 2007). همچنین با پژوهش‌های *کالدورف و لودویگ*[2] (2000) و میکسنر[3] و همکاران (2005) افزایش میزان اُکسین در نتیجه کلونیزاسیون قارچ میکوریز به‌ترتیب در گیاهان ذرت و سویا نیز گزارش شده است. در این پژوهش ثابت شد که استفاده از مخلوط دو نوع قارچ در تحریک سنتز مواد تنظیم‌کننده رشد داخلی بسیار مؤثرتر از کاربرد جداگانه دو گونه قارچ می‌باشد. متعاقب این تحریک در سنتز هورمون‌های داخلی، عملکرد و ظرفیت تولید ریز غده در تیمارهای میکوریزایی افزایش پیدا کرد و متناسب با افزایش سطوح هورمون‌های درون‌زاد درصد ماده خشک ریزغده نیز افزایش پیدا کرد. بنابراین می‌توان استنباط نمود که در ایجاد رابطه همزیستی، دو گونه قارچ بر همدیگر همکنش مثبت داشته و با تقویت اثر همدیگر پاسخ سیگنالی مؤثرتری را در جهت استقرار بر ریشه در گیاهچه‌های سیب‌زمینی به‌وجود می‌آورند. اثرات مثبت به‌کارگیری مخلوط قارچ‌های میکوریز در ایجاد رابطه همزیستی در گیاهچه‌های سیب‌زمینی قبلاً با پژوهش *الیزابت* و همکاران (2000) نیز مورد تأیید قرار گرفته است.

از نتایج دیگر این آزمایش افزایش قابل‌توجه در ضریب تکثیر گیاهچه‌ها در تیمارهای میکوریزایی و به‌ویژه در استفاده از مخلوط قارچ نسبت به تیمارهایی شاهد بود که در مواردی حتی تا بیش از دو برابر نسبت تکثیر را افزایش داد. با برآوردهای انجام گرفته هزینه تهیه مایه تلقیح قارچ میکوریز برای ۲۰۰۰ گیاهچه، حدود ۶۰ هزار تومان می‌باشد. بنابراین بهره‌گیری از قارچ همزیست میکوریز در برنامه تولید بذر سیب‌زمینی با توجه به موفقیت‌آمیز بودن اثر میکوریز در افزایش چشمگیر نسبت تکثیر، ضمن اینکه از نظر اقتصادی قابل توجیه می‌باشد به‌عنوان روشی جدید و کارآمد در روند توسعه کشاورزی پایدار نیز می‌تواند مدنظر قرار گیرد.

1. Kumar *et al*.
2. kaldorf and Ludwig
3. Meixner *et al*.

جدول ۱: مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات اصلی رقم، قارچ‌های میکوریز و نیز اثرات متقابل آنها بر تولید ریزغده و وزن خشک آن در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

Table 1: Mean comparisons of main effect of cultivar and mycorrhizal fungi and their interactions on minituber yield and dry matter in potato plantlets

Minituber dry matter % وزن خشک ریزغده	Minituber No (No/plantlet) تعداد ریزغده (تعداد در گیاهچه)	Minituber weight (gr/plantlet) وزن ریزغده (گرم در گیاهچه)	**cultivar رقم**
19.81 a	6.56 b	28.68 a	Agria آگریا
18.64 b	14.81 a	25.52 b	Sante سانته
			Mycorrhiza levels سطح میکروریز
17.90 b	6.97 d	15.57 d	Control (non inoculated) شاهد
19.36 a	10.72 c	23.98 c	Inoculated with *G. mosseae* تلقیح شده با *G. mosseae*
19.79 a	11.25 b	28.27 b	Inoculated with *G. etunicatum* تلقیح شده با *G. etunicatum*
19.83 a	13.81 a	40.59 a	Mixed inoculums تلقیح مخلوط
			Cultivar× Mycorrhiza levels رقم× سطح میکروریز
18.49 dc	4.62 g	18.13 e	Control (non inoculated)×Agria شاهد × آگریا
20.01 ab	5.82 f	24.45 c	Inoculated with *G. mosseae*×Agria تلقیح شده با *G. mosseae* × آگریا
20.40 a	7.20 e	31.80 b	Inoculated with *G. etunicatum* ×Agria تلقیح شده با *G. etunicatum* × آگریا
20.32 a	8.60 d	40.66 a	Mixed inoculums×Agria تلقیح مخلوط × آگریا
17.32 d	9.32 c	13.32 f	Control (non inoculated)×Sante شاهد × سانته
18.71 bc	15.61 b	23.52 d	Inoculated with *G. mosseae*×Sante تلقیح شده با *G. mosseae* × سانته
19.17 abc	15.29 b	24.73 c	Inoculated with *G. etunicatum* ×Sante تلقیح شده با *G. etunicatum* × سانته
19.35 abc	19.02 a	40.22 a	Mixed inoculums×Sante تلقیح مخلوط × سانته

در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشد

Within each column means followed by the different letters are significantely different at 5% by DMRT

منابع

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

Allen, M. F., Moore, T. S. and Christensen, M. 1982. Phytochrome changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II. Altered levels of gibberelin-Iike substances and abscisic acid in the host plant Canadian. Journal of Botany, 60: 468-471.

Barea, J. M. 1986. Importance of hormones and root exudates in mycorrhizal phenomena. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae (eds. Gianinazzi-pearson, V. and Gianinazi, S) Paris: INRA, pp, 177-187.

Barea, J. M. and Azcon-Aguilar, C. 1982. Production of plant growth regulating substances by the vesicular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Applied Environmental Microbiology, 43: 810-913.

Bierman, B. and Linderman, R. G. 1980. Quantifying vesicular arbuscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization. New. Phytology, 87:63-67.

Duffy, E. M., Hurley, E. M. and Casseles, A. C. 1999. Weaning performance of potato microplants following bacterization and micorrhization. Potato Research, 42, 521-527.

Edriss, M. H., Davis, R. M. and Burger, D. W. 1984. Influence of mycorrhizal fungi on cytokinin production in sour orange. Journal. American. Society. Horticultural Science, 109: 587-590.

Elizabeth, M., Duffy, A. and Cassele, C. 2000. The effect of inoculation of potato microplant with arbuscular mycorrhizal fungi on tuber yield and tuber size distribution. Applied Soil Ecology, 15: 137-144.

Graham, S. O., Green, N.E. and Hendrix, J. W. 1996. The influence of vesicular- arbuscular mycorrhiza on growth and tuberization of potatoes. Mycology Journal, 68, 925-929.

Habte, M., Miyasaka, S. C. and Matsuyama, D. T. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi improve early forest tree establishment. Plant nutrition Food security and sustainability of agro-ecosystems. Kluwer Academic Publishers. Netherland, pp, 644-645.

Jackson, D. S. 1999. Multiple signaling pathways control tuber induction in potato plant. Plant Phytology J, 119: 1-8.

Jentschel, K., Thiel, D., Rehn, F. and Ludwig-Muller, J. 2007. Arbuscular Mycorrhiza enhances Auxin levels and alters Auxin biosynthesis in *Tropaeolum majus* during early stage of colonization. Physiology Plantarum,129: 320-333.

Kaldorf, M. and Ludwig-Muller, J. 2000. AM fungi might affect the root morphology of maize by increasing indol-3-butyric acid biosynthesis. Physiology Plantarum, 109: 58-67.

Kierman, J. M., Hendrix, J. W., Soltz, L. P. and Moronek, D. M. 1984. Characterization of strawberry plants produced by tissue culture and infected with specific mycorrhizal fungi. Horticultural science, 19: 883-885.

Klerk, G. I. and Brugge, J. 1992. Factors affecting adventitious root formation in microcuttings of Malus. Agronomy. Journal, 12: 747-755.

Kumar, P. A., Rao, P. and Baijal, B. D. 1981. Effect of some growth regulators on plant growth, tuber initiation, yield chemical composition of potato (*Solanum tuberosum* L.). Pakistan Journal Botany, 13(1): 69-75.

Meixner, C., Ludwig-muller, J., Miersch. O., Gressoff, P., Staehelin, C. and Vierheilig, H. 2005. Lake of mycorrhizal autoregulation and phytohormonal changes in the supernodulating soybean mutant nts 1007. Planta, 222: 709-715.

Niemira, B. A., Safir, G. R. and Bird, G. W. 1995. Production of prenuclear mini-tubers of potato with peatbased arbuscular mycorrhiza fungal inoculums. Agronomy Journal, 87: 942-946.

Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Mycology Society Journal, 55: 159-161.

Ravolanirina, F., Gianinazzi, S., Trouvelot, A. and Carre., M. 1989. Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstocks. Agricultural. Ecology and Environmental Journal, 29: 323-327.

Schllenbaum, L., Berta, G., Ravolanirina, F., Gianinazzi, S. and Fitter, A. H. 1991. Influence of endomycorrhizal infection on root morphology in micropropagated woody plant species Vitis vinifera L. Annual of Botany, 29: 5-13.

Usoukainen, M. and Vestberg, M. 1994. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizas on rooting, weaning and subsequent growth of micropropagated Malus (L) Moench. Agricultural Science Finland, 21: 66-72.

Varma, A. and Schuepp, H. 1995. Mycorrhization of mycorrhizal plantlets. In 'Mycorrhizae: biofertilizers for the future ' (eds. Adholeya A and Singh S), Tata Energy Research Institute, New Delhi, pp, 322-327.

Vestberg, M. and Estaun, V. 1994 . Micropropagated plants, an opportunity to positively management of mycorrhizal activities. Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystem'. Birkhauser Verlag, Basel/Switzerland. Pp, 217-226.

Yao, M. K., Tweddell, R. J. and Desilets, H. 2002. Effects of two Vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of microplanted potato plantlets. Mycology Journal, 12: 235-242.

Yokata, T., Nahyama, M., Harasawa, L. and Kawabe, S. 1994. Polyamines, indole-3acetic acid and abscisic acid in rice phloem sap. Plant Growth Regulators, 15: 125-130.

Evaluation the Effect of Mycorrhizal Inoculums on Plant Growth Regulator Levels and Quality of Minituber Production in Potato Plantlets

Parvizi[1], K., Dashti[2*], F.,Esna-ashari[3], M., Rejali[4], F and Boojar[5], M.

Abstract

Microplants derived from tissue culture of two potato cultivars (Agria and Sante) were inoculated with two species of mycorrhizal fungi. Inoculation was being done when microplants transferred in to the greenhouse. A pot experiment was conducted using a factorial based on randomized complete blocks design with four replications. The factors were mycorrizal inoculation (non-inoculated and inoculated with *Glomus mosseae, Glomus etunicatum* and mixture of them) and two cultivars of potato. Eight weeks after inoculation, colonization percentage was assayed. In addition, plant growth regulators including Auxin, Cytokinin and Gibberellin were measured. After harvesting, minitubers were separated and total yield was estimated. In addition, dry matter of minituber was determined. Results showed that inoculants of mycorrhizae had significant effect ($p \leq 0.05$) on colonization, minituber production and level of all plant growth regulators. Interaction effect of cultivar and inoculants in minituber size and weight was significant by probability of $\alpha = 0.01$ but was significant by probability of $\alpha = 0.05$ in Gibberellins levels and colonization percentage. By mean comparisons, it was demonstrated that inoculation with *G. etanicatum* and mixed inoculants had more positively effect on colonization severity, minituber production, and level of all plant growth regulators comparison with *G. mosseae*. The highest amount of minituber (13.81 No and 40.59 gr in mean weight per plantlet) was achieved in mixed inoculants that significantly ($p \leq 0.05$) was different with two separated inoculants and control treatment. Dry matter of minituber was increased significantly ($p \leq 0.05$) by application of mixed inoculant and separately mycorrhizal inoculants comparison with control treatment in two cultivars.

Keywords: Potato plantlet, Mycorrhizal symbiosis, Inoculation, Phytohormone, Yield

1. PhD student, Department of Horticultural Science, Bu-Ali Sina university, Hamedan
2. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Bu-Ali Sina university, Hamedan
3. Associate Professor, Department of Horticultural Science, Bu-Ali Sina university, Hamedan
4. Assistant Professor, Department of Soil Science Institute, Department of Soil Biology, Karaj
5. Associate Professor, Department of Plant Biology, Tarbiat Moallem University, Tehran

*: Corresponding author Email: dashti1350@yahoo. com