دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "حفاظت زیست‌بوم گیاهان"
دوره هفتم، شماره چهاردهم
http://pec.gonbad.ac.ir

شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریز درختان راش (*Fagusorientalis* Lipsky) در راشستان‌های بالابند جنگل‌های سنگده مازندران

حامد آقاجانی [۱*]، سید محمد حجتی [۲]، محمدعلی تاجیک قنبری [۳]، محمدرضا پورمجیدیان [۲]، علی برهانی [۴]

[۱] دکتری تخصصی گروه جنگلداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
[۲] دانشیار گروه جنگلداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
[۳] دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
[۴] استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع پاسند، بهشهر

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۲۳

چکیده

قارچ‌های اکتومیکوریز نقش مهمی در سلامت و پایداری جنگل و حفظ درختان در مقابل بیمارگرها در اکوسیستم جنگل دارند. در این تحقیق قارچ‌های اکتومیکوریز در راشستان‌های بالابند جنگل سنگده (استان مازندران) و بر اساس استخراج دی‌ان‌ای از ریشه‌ها و توالی‌یابی ناحیه ITS از دی‌ان‌ای ریبوزومی قارچ‌ها مورد شناسایی قرار گرفتند. برای این منظور در محدوده ارتفاعی ۱۵۰۰ تا ۲۱۰۰ متری از سطح دریا، تعداد ۳۰ قطعه نمونه و در هر قطعه نمونه یک درخت به‌طور تصادفی انتخاب و نمونه‌برداری از ریشه‌ها به عمق ۱۰ سانتی‌متری و باقاصله ۶۰ سانتی‌متر از تنه درخت انجام گرفت. عمل استخراج دی‌ان‌ای از نمونه‌های نوک ریشه طبقه‌بندی‌شده انجام گرفت. ناحیه ITS nrDNA با استفاده از زوج آغازگرهای ITS1F و ITS4B یا ITS4 تکثیر و توالی‌یابی گردید. مقایسه توالی‌های به‌دست‌آمده با توالی‌های موجود در بانک داده‌های NCBI، حضور ۱۵ گونه قارچ اکتومیکوریز را در ریشه‌های این گیاهان نشان داد. از بین گونه‌های شناسایی‌شده، ۱۲ گونه شامل *Russula chloroides*، *C. trivialis*، *R.brevipes*، *R. faginea*، *R. integriformis*، *C. rigens*، *Cortinarius alpinus*، *C.collinitus*، *L.hepaticus*، *Lactariuschrysorrheus*، *C. alboaggregatus* و *Hebelomabulbiferum* گونه‌های جدیدی برای فلور قارچی ایران می‌باشند. جنس *Cortinarius* و *Russula* بیشترین تنوع گونه‌ای را در منطقه موردمطالعه نشان دادند و جنس‌های *Lactarius* و *Inocybe* در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. با شناخت قارچ‌های اکتومیکوریز بومی در مناطق مختلف می‌توان با تلقیح برخی از آن‌ها به نهال‌های جنگلی، توانایی‌های آن‌ها در برنامه‌های احیا و مدیریت بهینه جنگل و جنگل‌کاری استفاده نمود.

[۱*] نویسنده مسئول: Hamed_Aghajani@ut.ac.ir

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

واژه‌های کلیدی: **بیولوژی جنگل، جنگل‌شناسی، دی‌ان‌ای ریبوزومی، همزیستی، راش**

مقدمه

جنگل‌های شمال کشور جزو جنگل‌های کهن دنیا و پهن‌برگ خزان‌کننده هستند که ازنظر تنوع گیاهی جزو جنگل‌های غنی دنیا و قدمت بیش از یک‌میلیون سال محسوب می‌باشد. درخت راش (*Fagusorientalis* Lipsky) مهم‌ترین گونه اقتصادی جنگل‌های هیرکانی ایران است (مروی مهاجر، ۱۳۹۰). نیازهای اکولوژیکی و شرایط خاص رویشگاهی راش مانند دامنه‌های مه‌گیر و مرطوب با خاک غنی شرایط مناسبی را برای رویش انواع مختلف قارچ‌ها فراهم می‌آورد، به‌طوری‌که در همه فصل‌ها گونه‌های متنوعی از قارچ‌ها در این جنگل‌ها مشاهده می‌شود. گیاهان برای بهبود رشد و عملکرد و نیز غلبه بر تنش‌های زنده و غیرزنده، ارتباطات همزیستی با قارچ‌ها را تشکیل می‌دهند که به‌نام قارچ‌ریشه (میکوریزا) خوانده‌شده‌اند (Lapeyrie et al., 1991; Hoffland et al., 2004). یک گروه مهم از این قارچ‌های همزیست، قارچ‌های اکتومیکوریز هستند که بیشتر با درختان جنگلی مناطق سرد، معتدله تا استوایی به‌خصوص درختان تیره Fagaceae همزیستی برقرار می‌کنند (Smith and Read, 2008; Morris et al., 2009; Courty et al., 2010). اکتومیکوریزها با افزایش جذب آب و موادغذایی از خاک به‌طور عمده باعث بهبود سلامت میزبان می‌شوند. علاوه بر این، قارچ‌های اکتومیکوریز می‌توانند سمیت فلزات سنگین را کاهش دهند و درختان را قادر به زیستن در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین می‌کنند (Wilkinson and Dickinson, 1995; Meharg and Cairney, 2000).

مطالعات مختلفی در مورد شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریز در جنگل‌های معتدله به‌خصوص روی جنس راش انجام‌گرفته است (Orlovich and Cairney, 2004; Buée et al., 2005; Grebenc and Kraigher, 2007; Gebhardt et al., 2007; Montoya et al.,2010; Pena et al., 2010; Nouhra et al., 2012; Nouhra et al., 2013). در برخی موارد تحقیق در جنگل‌های معتدله بر روی جنس راش، نتایج تحقیق اورلویچ و کارنی (Orlovich and Cairney, 2004) در نیوزلند بر روی درخت راش جنوبی (*Nothofagus*) بیشتر از هر میزبانی، میزبان انواع مختلف قارچ‌های اکتومیکوریزی شامل *Hebeloma*،*Cortinarius*، *Inocybe*، *Laccaria*، *Clavulina*و*Lactarius* بود. گریبنس و کریگر (Grebenc and Kraigher, 2007) در جنگل‌های راش در کشور اسلوونی پس از مطالعه مولکولی قارچ‌های اکتومیکوریز همزیست با راش (*Fagussylvatica* L.) به این نتیجه رسیدند که قارچ *Cenococcum geophilum* در جنگل‌های راش بیشترین فراوانی را به‌طور معنی‌داری داشته است.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

نوهرا و همکاران (Nouhra et al., 2012) در جنگل‌های معتدله پاتاگونیا آرژانتین به این نتیجه رسیدند که غنا و بیومس اندام بارده قارچ اکتومیکوریز نشان از تفاوت بین گونه‌های جنس راش *Nothofagus dombeyi* و *Nothofagus pumilio* در گرادیان ارتفاعی جنگل و میزان بارش بوده است. وانگ و همکاران (Wang et al., 2011) به مطالعه قارچ‌های اکتومیکوریز درختان *Castanopsisfargesii* در جنگل‌های چین پرداختند و ۱۷ گونه قارچ اکتومیکوریز در ناحیه ITS شناسایی کردند که ۱۴ گونه متعلق به بازیدیومیست‌ها و سه گونه متعلق به آسکومیست‌ها بودند. بیشترین فراوانی در خانواده‌های Russulaceaeو Thelephoraceae بوده است. آرایه‌های *Lactarius* sp. ، *Russula* sp.1، *Tomentella* sp.2 و *Boletus* sp. به‌ترتیب گونه‌های غالب بودند. لانگ و همکاران (Lang et al., 2011) غنای گونه‌ای و دامنه میزبانی قارچ‌های میکوریز را در جنگل‌های آمیخته پهن‌برگ اروپای مرکزی مطالعه کردند و به این نتیجه رسیدند که درختان جنس‌های افرا (*Acer*) و زبان‌گنجشک (*Fraxinus*) با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و درختان نمدار (*Tilia*)، ممرز (*Carpinus*) و راش (*Fagus*) با قارچ‌های اکتومیکوریز ارتباط همزیستی داشتند. فراوانی نسبی غنای گونه‌ای در درختان راش، نمدار و ممرز به‌ترتیب کاهش داشته است. در جنگل‌های آرژانتین نوهرا و همکاران (Nouhra et al., 2013) به بررسی جوامع قارچ‌های اکتومیکوریز همزیست با گونه‌های راش (*Nothofagus*) پرداختند و به این نتیجه رسیدند که اختلاف معناداری بین تیپ‌های مختلف راش با تنوع زیستی قارچ‌ها وجود دارد و ارتفاع از سطح دریا تأثیر زیادی در ساختار قارچ‌های اکتومیکوریز همزیست با گونه‌های جنس راش (*Nothofagus* spp.) داشته است. در پژوهش انجام‌گرفته توسط بهرام و همکاران (Bahram et al., 2012) در جنگل‌های هیرکانی ایران (اسالم، نوشهر و سوادکوه) و بر اساس مطالعات مولکولی ناحیه ITS، بیشترین فراوانی به‌ترتیب به آرایه‌های*Cenococcum geophilum*، *Cortinarius*، *Clavulina* و *Tomentella* تعلق داشته است.

همچنین در مطالعه شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریز همزیست با درختان بلوط در جنگل‌های بینشکی و خیرود مازندران، جنگل لوه و توسکاستان گلستان و جنگل سیاهکل و شفارود گیلان، ۴۹ آرایه شناسایی شد که متعلق به ۱۳ جنس*Amanita*، *Boletus*، *Cortinarius*، *Hebeloma*، *Hygrophorus*، *Inocybe*، *Laccaria*، *Lactarius*، *Lycoperdon*، *Russula*، *Scleroderma*، *Tricholoma*و *Hydnum* بودند. در این مطالعه گونه‌های جنس‌های *Lactarius*، *Russula* و*Inocybe* غالب‌ترین و متنوع‌ترین آرایه‌هایی افت شده را شامل می‌شدند (زمانی، ۱۳۹۳). مطالعه و معرفی قارچ‌های اکتومیکوریز درختان راش در راشستان‌ها، می‌تواند در سلامت و پایداری جنگل و حفظ درختان در مقابل بیمارگرها در اکوسیستم جنگل و همچنین تولید نهال‌های مقاوم‌تر مؤثر باشد. با توجه به اینکه راش ازلحاظ چوب گونه مهم اقتصادی و ازلحاظ اکولوژیکی در توالی جنگل مهم است

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

و اطلاعات اندکی درباره قارچ‌های اکتومیکوریز درختان راش در جنگل‌های شمال ایران وجود دارد، بنابراین هدف این مطالعه شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریز درختان راش در راشستان‌های بالابند جنگل‌های سنگده مازندران است.

مواد و روش‌ها

منطقه موردمطالعه

این پژوهش در جنگل‌های سنگده مازندران، سری فلورد در قسمت جنوب شرقی شهر پل‌سفید مرکز شهرستان سوادکوه با مختصات طول جغرافیایی ´۴ °۵۳ تا ´۷ °۵۳ و عرض جغرافیایی ´۲ °۳۶ تا ´۵ °۳۶ انجام‌شده است. ارتفاع از سطح دریا در این محدوده بین ۱۵۰۰ تا ۲۱۰۰ متر، متوسط بارش سالیانه آن ۸۵۸ میلی‌متر و مساحت سری فلورد ۹۲۹ هکتار می‌باشد. بر اساس روش آمبرژه منطقه موردمطالعه دارای اقلیم سرد و مرطوب می‌باشد. جهت عمومی شیب در جنگل‌های سری فلورد، شمالی و شمال غربی است. میزان متوسط شیب حدود ۴۵٪ است که شیب حداقل منطقه ۵٪ و حداکثر آن ۹۰٪ است. گونه‌های درختی اصلی این سری شامل راش، ممرز، گیلاس وحشی، بارانک، توسکا، پلت، نمدار، ملج، شیردار، بلندمازو، انجیلی می‌باشد و تیپ‌های جنگلی عمده آن شامل راش، راش- ممرز، راش – انجیلی، ممرز بلوط می‌باشد. بیشترین درصد را راش به خود اختصاص می‌دهد و ۶۷٪ سطح را می-پوشاند و راشستان‌های منطقه سنگده ازلحاظ کیفیت جزو راشستان‌های منحصربه‌فرد و معروف در ایران می‌باشند (بی‌نام، ۱۳۸۸).

روش نمونه‌برداری

طی سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۴، تعداد ۳۰ پلات و در هر پلات یک درخت به‌طور تصادفی در منطقه موردمطالعه انتخاب شد. با توجه به اینکه بیشترین غالبیت و همزیستی اکتومیکوریزها در این عمق می‌باشد، نمونه‌برداری از ریز ریشه‌ها به عمق ۱۰ سانتی‌متر و بافاصله ۶۰ سانتی‌متر از تنه درخت انجام گرفت ((Bruns, 1995; Bakker et al.,2000; Ciu and Mu, 2016. خاک از سطح ریشه‌ها شسته شده و از هر سیستم ریشه‌ای تعداد ۱ تا ۸ نوک ریشه (Huang et al., 2014) بر اساس نوع رنگ سطحی، شکل و خصوصیات مورفولوژیکی شامل ساده (بدون شاخه و انشعاب)، باریک ریخت، هرمی دوشاخه، برگچه‌ای نامنظم، مرجانی و گره‌دار و ... جدا شدند (Nara et al., 2003; Ishida etal.,2007; Agere 1987-2012; Petersonet al., 2004) (شکل ۱).

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

شکل ۱- جنگل موردمطالعه و نحوه نمونه‌برداری و نوک ریشه‌ها

استخراج DNA

برای استخراج دی‌ان‌ای از بافت‌های گیاهی از روش زمانی (۱۳۹۳) و آقاجانی و همکاران (Aghajani et al., 2019A) به شرح زیر عمل گردید. عمل تخریب دیواره سلولی به‌منظور استخراج DNA توسط ساییدن بافت نوک ریشه درون میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری با نیتروژن مایع صورت گرفت. سپس به هریک از نمونه‌ها مقدار ۶۰۰ میکرولیتر بافر CTAB [۱۰۰ میلی‌مولار تریس، ۲۰ میلی‌مولار EDTA و ۱/۴ مولار کلرید سدیم و وزن حجمی از CTAB دو درصد، (pH= 8)] افزوده شد. به‌منظور حذف پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و پلی‌فنول‌های ریشه گیاه که می‌توانند از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ممانعت کنند، دو میلی‌گرم پلی وینیل پیرولیدین (PVP) دو درصد، ۱۰ میکرولیتر بتا-مرکاپتواتانول دو درصد و نیز ۵ میکرولیتر از پروتئیناز K (۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به هر نمونه افزوده شد و پس از ورتکس در حمام بن‌ماری با دمای ۶۵ درجه سلسیوس به مدت نیم ساعت نگهداری شدند. سپس هم‌حجم لوله‌ها محلول کلروفرم: ایزوامیل الکل(۲۴: ۱v:v) اضافه شد و لوله‌ها به‌آرامی به مدت ۳ دقیقه

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

به‌منظور مخلوط شدن محتویات آن‌ها سر و ته شدند. این لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و درنهایت لایه بالایی که حاوی DNA می‌باشد به میکروتیوب جدید منتقل گردید. رسوب‌دهی DNA با اضافه نمودن ۰/۸ حجم ایزوپروپانول سرد، چندین مرتبه سر و ته کردن آرام لوله‌ها و درنهایت نگهداری به مدت حداقل دو ساعت در فریزر با دمای ۲۴- درجه سلسیوس صورت گرفت. سپس سانتریفیوژ نمونه‌ها به مدت ۲۴ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس انجام گرفت. مایع رویی دور ریخته شد و DNA رسوب کرده با افزودن ۵۰۰ میکرولیتر از اتانول ۷۰ درصد سرد شستشو داده شد. عمل سانتریفیوژ مجدداً به مدت ۳ دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. اتانول رویی دور ریخته شد و میکروتیوب‌ها به‌طور وارونه روی دستمال‌کاغذی قرار گرفتند تا رسوب DNA در مجاورت هوا خشک گردد. سپس ۵۰ میکرولیتر آب دیونیزه استریل به رسوب DNA اضافه شد. به محلول فوق یک میکرولیتر RNase (۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید.میکروتیوب‌ها یک‌شب در یخچال نگهداری شدند تا DNA کاملاً در آب حل گردد و سپس در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید.

واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR)

تکثیر DNA در حجمی معادل ۲۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش PCR (PCR master mix)، شامل ۱۸ میکرولیتر آب دیونیزه، ۲ میکرولیتر بافر ۱۰PCR غلظتی، ۰/۶ میکرولیتر محلول حاوی ۵۰ میلی مول$MgCl_2$، ۰/۴ میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی مولdNTPs حاوی ۲/۵ میلی مول از هریک ازdNTP، ۰/۵ میکرولیتر محلول حاوی پنج واحد آنزیم Smart Taq DNA polymerase، ۱ میکرولیتر از محلول حاوی ۱۰ پیکو مول از آغازگرITS1F، ۱ میکرولیتر از محلول حاوی ۱۰ پیکومول از آغازگر ITS4B یا ITS4 و ۱/۵ میکرولیتر محلول حاوی DNA قالب صورت گرفت (White et al., 1990; Gardes and Bruns, 1993). کلیه مواد به‌کاررفته در مخلوط PCR از شرکت سیناژن تهیه شدند.

برنامه حرارتی برای واکنش PCR به‌صورت مرحله واسرشتگی مقدماتی (Initial denaturation) به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس (یک چرخه)؛ مرحله واسرشتگی (Denaturation) به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، مرحله اتصال (Annealing) به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۵ درجه سلسیوس، مرحله گسترش (Extension) به مدت یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

(۳۵ چرخه) و مرحله گسترش نهایی (Final extension) به مدت ده دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود (Gardes and Bruns 1993). پس از انجام واکنش، برای مشاهده محصول تکثیرشده PCR الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد انجام گرفت. محصولات تکثیرشده PCRبرای تعیین توالی به شرکت تکاپوزیست ارسال شدند.توالی‌های به‌دست‌آمده بررسی‌شده و با نرم‌افزار Bio Edit نسخه (v7.1.9)(http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html) اصلاح شدند. سپس بااستفاده از برنامه جستجوی بلاست با توالی‌های ذخیره‌شده در بانک داده‌های ژنی مقایسه شدند. آن‌هایی که بیشترین شباهت را داشتند مشخص گردیدند. اسامی گونه‌ای به جدایه‌هایی داده شد که شباهت توالی بیشتر یا مساوی ۹۸ درصد داشتند (Horton et al., 2013)، برای اسامی جنس، شباهت‌های ۹۷-۹۰ درصد و آن‌هایی که شباهت کمتر از ۹۰ درصد داشتند در حد خانواده نامیده شدند (Huang et al., 2014). توالی‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه در بانک داده‌های ژنی ثبت و شماره دستیابی آن‌ها در جدول ۱ ذکرشده است.

نتایج

نتایج پژوهش حاضر از بررسی ۱۵۵ نوک ریشه درختان راش بررسی‌شده در جنگل‌های سنگده استان مازندران، حضور ۳۰ آرایه قارچی اکتومیکوریز متعلق به جنس‌های *Cortinarius*, *Russula*, *Lactarius*, *Inocybe* و *Hebeloma* را در ریشه‌های این گیاهان مشخص نمود (جدول ۱). در بین قارچ‌های شناسایی‌شده، جنس اکتومیکوریز *Cortinarius* بیشترین فراوانی را در منطقه موردمطالعه داشت. همچنین ۱۲ گونه قارچ اکتومیکوریز شامل *Cortinarius trivialis*، *Russula chloroides*، *Russulabrevipes*، *Russula faginea*، *Russula integriformis*، *Cortinarius rigens*، *Cortinarius alpinus*، *Cortinarius collinitus*، *Lactarius hepaticus*، *Lactarius chrysorrheus*، *Cortinarius alboaggregatus* و *Hebeloma bulbiferum* برای اولین بار از ایران گزارش شدند.گونه‌هایی که برای ایران جدید بوده‌اند، با علامت ستاره در جدول ۱ مشخص شدند. همچنین نتایج شناسایی نشان داد که کمتر از ۵۰ درصد از خانواده Cortinariaceae هستند که بیشترین فراوانی بوده است و Inocybaceae با ۷ درصد کمترین فراوانی را داشته است.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

جدول ۱- قارچ‌های اکتومیکوریز شناسایی‌شده از درختان راش

شماره پلات	آرایه قارچ اکتومیکوریز	کد دسترسی ژن بانک	تطابق (٪)
۱	*Russula chloroides* (Krombh.) Bres (1900) *	KU237246.1	100%
۲	*Cortinarius trivialis* J.E. Lange (1940) *	KX034107	99%
۳	*Cortinarius* sp.	KX243305	96%
۴	*Russula delica* Fr.,(1838) *	KX263000	99%
۵	Russulaceae	KX395724	89%
۶	Cortinariaceae	KX148082	83%
۷	*Cortinarius* sp.	KX395716	91%
۸	*Russula delica* Fr. (1838) *	KX263001	99%
۹	*Russula brevipes* Peck (1890) *	KX263002	99%
۱۰	*Russula faginea* Romagn (1967) *	KX101232	99%
۱۱	Cortinariaceae	KX395717	87%
۱۲	*Russula chloroides* (Krombh.) Bres (1900) *	KX263003	99%
۱۳	*Russula integriformis* Sarnari (1994) *	KX263004	98%
۱۴	*Cortinarius* sp.	MG595231	90%
۱۵	*Cortinarius rigens* (Pers.) Fr. (1838) *	KX263005	99%
۱۶	*Cortinarius alpinus* Boud (1895) *	KX263006	99%
۱۷	*Cortinarius collinitus* (Sowerby) Fr. (1838) *	KX263007	98%
۱۸	*Russula* sp.	KX263008	97%
۱۹	*Cortinarius* sp.	KX395718	95%
۲۰	*Cortinarius* sp.	KX395719	97%
۲۱	*Cortinarius* sp.	KX395720	93%
۲۲	*Inocybe adaequata* (Britzelm.) Sacc (1887)	KX263009	99%
۲۳	*Lactarius hepaticus* Plowr (1905) *	KX263010	99%
۲۴	*Lactarius chrysorrheus* Fr.(1838) *	KX266252	100%
۲۵	*Lactarius subdulcis* (Pers.) Gray (1821)	KX395722	100%

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

ادامه جدول (۱)

شماره پلات	آرایه قارچ اکتومیکوریز	کد دسترسی ژن بانک	تطابق (٪)
۲۶	*Lactarius* sp.	KX395721	92%
۲۷	*Cortinarius* sp.	KX395723	97%
۲۸	*Inocybe* sp.	KX423958	91%
۲۹	*Cortinarius alboaggregatus* Soop (2005) *	KX266253	100%
۳۰	*Hebeloma bulbiferum* Maire (1937) *	KX266254	98%

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه تعداد ۱۵ گونه متعلق به جنس‌های *Cortinarius*، *Russula*، *Lactarius*، *Inocybe* و *Hebeloma* در سطح جنس و گونه مشخص شدند. جنس*Cortinarius* و *Russula* با تعداد ۵ گونه و بعدازآن جنس *Lactarius* با ۳ گونه دارای بیشترین تنوع گونه‌ای بودند و جنس‌های *Inocybe* و *Hebeloma* با یک‌گونه کمترین تنوع گونه‌ای را دارا بودند. در مطالعه انجام‌گرفته روی قارچ‌های اکتومیکوریز درختان راش در جنگل‌های نیوزیلند، جنس *Cortinarius* و *Russula* به‌عنوان یکی از فراوان‌ترین جنس‌های قارچ‌های اکتومیکوریز شناسایی گردید(Dickie et al., 2009). در مطالعه دیگری در نیوزیلند، مشخص شد که درخت راش جنوبی (*Nothofagus*) بیش از هر میزبان دیگری، تنوع قارچ‌های اکتومیکوریز شامل *Hebeloma*،*Cortinarius*،*Inocybe*،*Laccaria*،*Clavulina* و *Lactarius* و برای دیگر جنس راش (*Fagus*)، قارچ‌های اکتومیکوریز *Boletus*، *Amanita* و *Laccaria* را دارا بودند (Orlovich and Cairney, 2004). اورکلی و همکاران (Urclay et al., 2017) در طول گرادیان ارتفاعی در جنگل‌های دست کاشت کاج (*Pinus elliottii*) به مطالعه قارچ‌های اکتومیکوریز پرداختند و به این نتیجه رسیدند که در ارتفاعات ۹۰۰، ۱۶۰۰ و ۲۲۰۰ قارچ اکتومیکوریز *Suillus granulatus* و در ارتفاعات پایین‌تر قارچ اکتومیکوریز *Rhizopogon pseudoroseolus* و *Thelephora terrestris* پراکنش داشتند. درواقع حضور قارچ‌های اکتومیکوریز در زون‌های ارتفاعی مختلف شرایط را برای کاج‌ها فراهم می‌کند. در مطالعه انجام‌گرفته برای شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریز درختان راش، مشخص شد که بیشتر این قارچ‌ها متعلق به شاخه بازیدیومیکوتا و خانواده‌های Cortinariaceae و Tricholomataceae بودند. فاکتورهای سن گیاه، نوع فصل، مدیریت جنگل و تکنیک پرورش جنگل بر روی قارچ‌های اکتومیکوریز تأثیرگذار هستند و طبق مطالعات قبلی

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

برخی از قارچ‌های اکتومیکوریز می‌توانند با گونه‌های مختلف راش جنوبی *Nothofagus* همزیست شوند. بیشترین فراوانی در فصل پاییز مربوط به *Cortinarius* sp.1 و Tricholomataceae بود و در فصل بهار *Cortinarius*sp. 6 و *Cortinarius* sp. 2 بودهاست. همچنین در این مطالعه جنس‌های *Cortinarius*، *Russula*، *Lactarius*، *Inocybe*، *Hebeloma*، *Clavulina* و... شناسایی شدند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (Fernández et al., 2015). در مقابل در جنگل‌های معتدله پاتاگونیا آرژانتین، غنای گونه‌ای با تیپ جنگل راش *Nothofagus dombeyi* و *Nothofaguspumilio* در ارتباط بود، درصورتی‌که زیست‌توده اندام‌های باردهی قارچ با عکس‌العمل‌های بین نوع فصل و تیپ جنگل در ارتباط بود. همچنین غنای گونه‌ای و زیست‌توده اندام‌های باردهی با میزان بارش همبستگی مثبت و با ارتفاع از سطح دریا همبستگی منفی داشته است (Nouhra et al., 2012).

نتایج این پژوهش نشان داد بیشترین فراوانی مربوط به خانواده Cortinariaceae و Russulaceae بوده است. در مطالعه قارچ‌های میکروسکوپی در توده‌های راش در جنگل مازندران قارچ‌های خانواده Russulaceae بیشترین فراوانی را داشته‌اند و ۱۲ گونه از خانواده Russulaceae و هشت گونه از خانواده Cortinariaceae گزارش شدند (برهانی و همکاران، ۱۳۹۳). در ایران تاکنون ۴۰ جنس و ۲۳۰ گونه از قارچ‌های اکتومیکوریز گزارش‌شده‌اند که بیشترین غنای گونه‌ای مربوط به جنس *Russula* با ۴۳ گونه است. همچنین ۱۸ گونه از جنس*Cortinarius*، ۱۷گونه از جنس*Amanita*، ۱۰ گونه از جنس*Lactarius*، هشت گونه از جنس*Inocybe* و ۱۲ گونه از جنس *Boletus* گزارش‌شده‌اند (ارشاد، ۱۳۸۸). بعد از خانواده Cortinariaceae در این پژوهش خانواده Russulaceae بیشترین پراکنش را داشته است که قارچ‌های خانواده Russulaceae هم در جنگل‌های معتدله گزارش‌شده که یکی از خانواده اکتومیکوریزهاست که دارای پراکنش وسیع در جهان است ((Mueller et al., 2007. قارچ *Cenococcum geophilum* در جنگل‌های راش (*Fagussylvatica* L.) اسلوونی بیشترین فراوانی را داشته است (Grebenc and Kraigher, 2007) که در این پژوهش شناسایی نشد. درواقع در مقیاس جهانی و منطقه‌ای، دما و میزان بارش تأثیر زیادی بر غنای گونه‌ای قارچ‌های اکتومیکوریز می‌گذارند ((Bahram et al.,2012; Tedersoo et al.,2012. بنابراین تفاوت در نوع منطقه رویشگاهی، نوع گونه میزبان و توده گیاهی، باعث تفاوت در حضور یا عدم حضور بعضی از گونه‌های قارچ اکتومیکوریز می‌شود. عوامل متعددی در نوع، حضور و ترکیب قارچ‌های اکتومیکوریز نقش دارند. عوامل مختلف زنده و غیرزنده مانند شرایط رویشگاهی، تنوع گونه‌ای و ویژگی‌های خاک (Aghajani

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

et al., 2019B) گونه‌های میزبان (Tedersoo et al., 2012)، رقابت (Kennedy, 2010)، دامنه پراکنش (Peay et al., 2007)، تراکم مواد مغذی خاک (Toljander et al., 2006) و آب‌وهوا (Bahram et al., 2012; Tedersoo et al., 2012) در حضور و تنوع قارچ‌ها یاکتومیکوریز تأثیرگذار بوده است. تاسداله و همکاران (Teasdale et al., 2013) نشان دادند که گونه‌های مختلف قارچ جنس*Cortinarius* با درختان راش *Nothofagus* همزیستی داشته‌اند که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. توصیف تنوع زیستی قارچ‌های اکتومیکوریز در اکوسیستم‌های جنگلی یک پیش‌نیاز برای تجزیه‌وتحلیل ساختار و نقش عملکردی آن‌ها است. در سال‌های قبل شناسایی گونه‌های قارچ‌های اکتومیکوریز بر اساس ویژگی‌های اندام‌های بارده انجام می‌شد (Straatsma et al., 2001; Smith et al., 2002). تولید اندام بارده بستگی به شرایط محیطی مثل رطوبت و دما دارد و بعضی از قارچ‌ها هرسال اندام باردهی تولید نمی‌کنند. بنابراین به هنگام توصیف جوامع قارچ‌های اکتومیکوریز، واضح است که باید خود قارچ‌های اکتومیکوریز مطالعه شوند تا قارچ‌هایی مشخص شوند که ارتباط فعالی باریشه‌های گیاهان داشته‌اند (Sakakibara et al., 2002). بنابراین نوک ریشه‌های اکتومیکوریزی می‌توانند با توصیف مورفولوژیکی طبقه‌بندی مورفوتایپ شوند (Agerer, 2001). امروزه تکثیر DNA برای حل برخی مشکلات سیستماتیکی مرتبط با شناسایی موجودات زنده بکار گرفته‌شده است. قارچ شناسان، لوکوس ITS را به‌عنوان بارکد رسمی انتخاب کردند (Schoch et al., 2012)، اما در برخی گروه‌ها گونه‌های متفاوت توالی‌های یکسان داشتند، درحالی‌که در برخی گروه‌های دیگر چندین فرم ITS در داخل یک ژنوم واحد وجود داشته است (Hibbet, 2016). همچنین امروزه علاوه بر ناحیه ITS از لوکوس‌های متعددی غیر از ITS مثل cox, alpha- tub, beta-tub, mcm, rpb2, actin و ... هم برای شناسایی استفاده می‌شود (Schoch et al., 2012). بنابراین با توجه به ثبت توالی در بانک داده‌های NCBI و UNIT و موجود بودن اطلاعات، روش مولکولی امروزه کمک شایانی در جهت شناسایی برخی گونه‌ها را فراهم می‌کند. شناسایی و بررسی امکان تکثیر بعضی از این قارچ‌ها که نقش مهمی در رشد و مقاومت نهال‌های جنگلی دارد و می‌توان با تلقیح برخی از این قارچ‌ها با نهال‌های گلدانی در نهالستان، برای احیای جنگل‌های مخروبه در جنگل‌های طبیعی در فضای باز و نزدیک به توده جنگل، جنگل‌کاری کاربردی پیاده کرد.

منابع

ارشاد، ج. ۱۳۸۸. قارچ‌های ایران. انتشارات موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی ایران. چاپ سوم. ۵۳۱ صفحه.
بی‌نام، ۱۳۸۸. طرح جنگلداری سری فلورد. اداره کل منابع طبیعی استان مازندران-ساری، ۲۱۰ صفحه.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

مروی مهاجر، م.ر. ۱۳۹۰. جنگل‌شناسی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ سوم، ۴۸۳ صفحه.

برهانی، ع.، علی‌موسی‌زاده، س.، بدلیان، س. ۱۳۹۳. معرفی قارچ‌های ماکروسکوپی در توده‌های راش استان مازندران. نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل. ۲۰(۳): ۲۴-۴۰.

زمانی، س.م. ۱۳۹۳. شناسایی قارچ‌های اکتومیکوریز درختان بلوط در برخی جنگل‌های ایران و بررسی پروفایل متابولیکی و ترنسکریپتومیکی ریشه‌های همزیست *Querrcus castaneifolia*. رساله دکتری دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس. ۲۰۰ صفحه.

Aghajani, H., Hojjati, S.M., Tajick-Ghanbari, M.A., Pourmajidian, M.R., Borhani, A. 2019A. Molecular Identification of Ectomycorrhizal Fungal Communities Associated with Oriental Beech Trees (*Fagus orientalis* Lipsky) in Hyrcanian Forest of Iran. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science, 43:25-32.https://doi.org/10.1007/s40995-017-0435-2

Aghajani, H., Hojjati, S.M., Tajick-Ghanbari, M.A., Pourmajidian, M.R., Borhani, A. 2019B.The relationship between Ectomycorrhizal fungi and some soil chemical properties in beech stands of Farim, Mazandaran province. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 26(4):459-470. 10.22092/ijfpr.2018.118577

Agerer, R. 1987-2012. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. München, 302 Einhorn-Verlag. Separate pagination.

Agerer, R. 2001. Exploration types of ectomycorrhizae. Mycorrhiza, 11(2): 107-114.

Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Zarre, S., Tedersoo, L. 2012. Regional and local patterns of ectomycorrhizal fungal diversity and community structure along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forests of northern Iran. New Phytologist, 193(2): 465–473.

Bakker, M.R., Garbaye, J.Nys, C. 2000. Effect of liming on the ectomycorrhizal status of oak. Forest Ecology and Management, 126(2):121–131.

Bruns, T.D. 1995. Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil, 170(1): 63–73.

Buée, M., Vairelles, D., Garbaye, J. 2005. Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. Mycorrhiza, 15(4): 235–245.

Cui, L., Mu, L.Q. 2016. Ectomycorrhizal communities associated with *Tilia amurensis* trees in natural versus urban forests of Heilongjiang in northeast China. Journal of Forestry Research, 27(2): 401-406.

Courty, P.E., Buée, M. Diedhiou,A.G., Frey-Klett, P., Le Tacon, F. Rineau, F., Turpault, M.P., Uroz, S. Garbaye, J. 2010. The role of ectomycorrhizal

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. Soil Biology and Biochemistry, 42(5): 679-698.

Dickie, I.A., Richardson, S.J. Wiser, S.K. 2009. Ectomycorrhizal fungal communities and soil chemistry in harvested and unharvested temperate *Nothofagus* rainforests. Canadian Journal of Forest Research, 39(6): 1069-1079.

Fernández, N.V., Marchelli, P., Gherghel, F.,Kost,G., Fontenla, S.B. 2015. Ectomycorrhizal fungal communities in *Nothofagus nervosa* (Raulí): a comparison between domesticated and naturally established specimens in a native forest of Patagonia, Argentina. Fungal Ecology, 18: 36-47.

Gardes, M., Bruns, T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology, 2(2): 113–118.

Gebhardt, S., Neubert,K.,Wöllecke, J., Münzenberger,B., Hüttl, R.F. 2007. Ectomycorrhiza communities of red oak (*Quercus rubra* L.) of different age in the Lusatian lignite mining district, East Germany. Mycorrhiza, 17(4):279–290.

Grebenc, T., Kraigher, H. 2007. Types of ectomycorrhiza of mature beech and spruce at ozone-fumigated and control forest plots. Environmental Monitoring and Assessment, 128(1-3): 47-59.

Horton, B.M., Glen,M., Davidson,N.J., Ratkowsky,D., Close,D.C., Wardlaw, T.J.,Mohammed, C. 2013. Temperate eucalypt forest decline is linked to altered ectomycorrhizal communities mediated by soil chemistry. Forest EcologyandManagement, 302: 329-337.

Huang, J., Nara,K., Zong, K.,Wang, J.,Xue, S., Peng, K.,Sheng,ZH., Lian, C. 2014. Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana*) and white oak (*Quercus fabri*) in a manganese mining region in Hunan Province, China. Fungal Ecology, 9: 1-10.

Hibbett, D. 2016. The invisible dimension of fungal diversity. Science, 351(6278): 1150-1151.

Hoffland, E., Kuyper, T.W., Wallander, H., Plassard, C., Gorbushina, A.A., Haselwandter, K., Holmström, S., Landeweert, R., Lundström, U.S., Rosling, A., Sen, R., Smits, M.M., van Hees, P.A.W., van Breemen, N. 2004. The role of fungi in weathering. FrontiersinEcologyandthe Environment, 2(5): 258-264.

Ishida, T.A., Nara,K., Hogetsu, T. 2007. Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. NewPhytologist, 174(2): 430-440.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

Kennedy, P. 2010. Ectomycorrhizal fungi and interspecific competition: species interactions, community structure, coexistence mechanisms, and future research directions. NewPhytologist, 187(4): 895–910.

Lapeyrie, F., Ranger,J., Vairelles, D. 1991. Phosphate solubilizing ability of ectomycorrhizal fungi in vitro. Canadian Journal of Botany, 69(2): 342-346.

Lang, C., Seven,J., Polle, A. 2011. Host preferences and differential contributions of deciduous tree species shape mycorrhizal species richness in a mixed central European forest. Mycorrhiza, 21(4): 297-308.

Orlovich, D.A., Cairney, J.W.G. 2004. Ectomycorrhizal fungi in New Zealand: current perspectives and future directions. New Zealand Journal of Botany,42(5):712–738.

Meharg, A.A., Cairney, J.W.G. 2000. Co-evolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal-contaminated environments. Advances in Ecological Research, 30:69-112.

Montoya, L., Haug, I.,Bandala, V.M. 2010. Two *Lactarius* species associated with a relict *Fagus grandifolia* var. *mexicana* population in a Mexican montane cloud forest. Mycologia, 102(1):153–162.

Morris, M.H., Pérez-Pérez, M.A.,Smith, M.E.,Bledsoe, C.S. 2009. Influence of host species on ectomycorrhizal communities associated with two co-occurring oaks (*Quercus* spp.) in a tropical cloud forest. FEMS Microbiology Ecology, 69(2): 274-287.

Mueller, G.M., Schmit, J.P., Leacock, P.R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D.E., Halling, R.E., Hjortstam, K., Iturriaga, T., Larsson, K.H., Lodge, D.J. 2007. Global diversity and distribution of macrofungi. BiodiversityConservation, 16(1): 37-48.

Nara, K., H. Nakaya, B. Wu, Z. Zhou,Hogetsu, T. 2003. Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji. New Phytologist, 159(3): 743-756.

Nouhra, E., Urcelay, C., Longo,S., Fontenla, S. 2012. Differential hypogeous sporocarp production from *Nothofagus dombeyi* and *N. pumilio* forests in southern Argentina. Mycologia, 104(1):45–52.

Nouhra, E., Urcelay, C., Longo, S., Tedersoo, L. 2013. Ectomycorrhizal fungal communities associated to *Nothofagus* species in northern Patagonia. Mycorrhiza, 23(6): 487-496.

Pena, R., Offermann, C., Simon, J., Naumann, P.S., Geßler, A., Holst, J., Dannenmann, M., Mayer, H., Kögel-Knabner, I., Rennenberg, H., Polle, A.2010. Girdling affects ectomycorrhizal diversity and reveals functional differences of EM community composition in a mature beech forest (*Fagus sylvatica*). Applied and Environmental Microbiology, 76(6):1831–1841.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

Peay, K.G., Bruns,T.D., Kennedy,P.G.,Bergemann,S.E.,Garbelotto, M. 2007. A strong species–area relationship for eukaryotic soil microbes: island size matters for ectomycorrhizal fungi. Ecology Letters, 10(6): 470–480.

Peterson, R.L., Massicotte, H.B.,Melville, L.H. 2004. Mycorrhizas: anatomy and cellbiology. NRC Research Press.

Sakakibara, S.M., Jones,M.D.,Gillespie, M., Hagerman, S.M.,Forrest, M.E.,Simard, S.W.,Durall, D.M. 2002. A comparison of ectomycorrhiza identification based on morphotyping and PCR-RFLP analysis. Mycological Research, 106(08): 868-878.

Schoch, C. L., Seifert,K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge,J.L., Levesque, C.A.,Chen,W., Miller, A.N. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109(16): 6241-6246.

Smith, J.E., Molina, R., Huso, M.M., Luoma, D.L., McKay, D., Castellano, M.A., Lebel, T. and Valachovic, Y.2002. Species richness, abundance, and composition of hypogeous and epigeous ectomycorrhizal fungal sporocarps in young, rotationage, and old-growth stands of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) in the Cascade Range of Oregon, U.S.A. Canadian Journal of Botany, 80: 186-204.

Straatsma, G., Ayer,F., Egli, F. 2001. Species richness, abundance, and phenology of fungal fruit bodies over 21 years in a Swiss forest plot. Mycological Research, 105: 515-523.

Smith, S., Read, D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, 3rd ed. Academic press, New York. 800pp.

Teasdale, S.E., Beulke, A.K.,Guy, P.L.,Orlovich, D.A. 2013. Environmental barcoding of the ectomycorrhizal fungal genus *Cortinarius*. Fungal Diversity, 58(1): 299-310.

Tedersoo L, Bahram, M., Toots, M., Diedhiou, A.G., Henkel, T.W., Kjøller, R., Morris, M.H., Nara, K., Nouhra, E., Peay, K.G., Polme, S., Ryberg, M.,Smith, M.E., Kõljalg, U. 2012. Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. Molecular Ecology,21(17):4160–4170.

Toljander, J.F., Eberhardt,U., Toljander, Y.K.,Paul,L.R.,Taylor, A.F.S. 2006. Species composition of an ectomycorrhizal fungal community along a local nutrient gradient in a boreal forest. New Phytologist, 170(4): 873–884.

White, T.J., Bruns, T.D.,Lee, S., Taylor, J. 1990. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes. In: Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (Eds.), PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, USA, pp 315–322.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]

Wang, Q., Cheng, G., Liang-Dong, G. 2011. Ectomycorrhizae associated with *Castanopsis fargesii* (Fagaceae) in a subtropical forest, China. MycologicalProgress, 10(3): 323-332.

Wilkinson, D.M., Dickinson, N.M. 1995. Metal resistance in treesthe role of mycorrhizae. Oikos, 72: 298-300

.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-05-17]