

## عزل وتعريف أجناس الفطور الجذرية (الميكوريزا) المتعايشة مع جذور نبات الذرة الصفراء (*Zea mays*) في الساحل السوري

محمد عماد خريبة\*<sup>(1)</sup> وسيماء زنكنه<sup>(2)</sup>

(1). قسم التنوع الحيوي، الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية.

(2). قسم فطور الميكوريزا، مركز أبحاث وقاية النبات، طهران، إيران.

(\*للمراسلة: د. محمد عماد خريبة. البريد الإلكتروني: imadkhrieba@gmail.com).

تاريخ القبول: 2018/10/01

تاريخ الاستلام: 2018/05/02

### الملخص

هدف البحث إلى تحديد بعض أجناس الفطور الجذرية (الميكوريزا) المتعايشة مع جذور نبات الذرة الصفراء في المنطقة الساحلية. جمعت العينات من موقعي الهنادي وفيديو في محافظة اللاذقية، وموقعي حريصون وميعار شاكر في محافظة طرطوس. جمعت أربع عينات مكونة من تربة وجذور نبات الذرة الصفراء من كل موقع، وخلطت مع بعضها لتمثل عينة مركبة. عزلت أبواغ الفطور المتعايشة منها، ثم وصفت مورفولوجياً، وصنفت وفقاً لمفاتيح التصنيف المعتمدة عالمياً. تم تحديد ثلاثة أجناس من فطور الميكوريزا المتعايشة مع جذور نبات الذرة الصفراء في مناطق الدراسة، وهي: الجنس *Paraglomus* الذي عزل من موقع الهنادي فقط في محافظة اللاذقية، والجنس *Septoglomus* الذي تم عزله من موقعي ميعار شاكر وحريصون في محافظة طرطوس، والجنس *Glomus* الذي تم عزله من جميع المواقع المدروسة في محافظتي اللاذقية وطرطوس.

الكلمات المفتاحية: الفطور الجذرية /الميكوريزا، الذرة الصفراء، الساحل السوري.

### المقدمة:

يطلق مصطلح الميكوريزا Mycorrhizae على مجموعة من الفطور التي تتعايش مع جذور أغلب النباتات، حيث يقوم الفطر بالحصول على المواد العضوية عن طريق جذور النبات، ويقوم بالمقابل بإمداد النبات العائل بمزيد من الماء والأملاح المعدنية، بالإضافة لمساعدته على زيادة تحمل الإجهادات البيئية والأحيائية (Pawaar and Kakde, 2012)، كما يمكن للميكوريزا أن تشكل عاملاً مهماً في مكافحة الأحيائية (Smith and Read, 2008)، حيث تسهم جزئياً في حماية النبات من الممرضات المحمولة بالتربة، وتزيد تحمله للإصابة بفطور الذبول وأعفان الجذور مثل: *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solani* (Abdel- (Fattaha et al., 2011) و *Pythium* spp. و *Phytophthora* spp. (Li et al., 2007).

تتعايش جذور نبات الذرة الصفراء مع أنواع عديدة من فطور الميكوريزا الحويصلية الشجرية الداخلية - Endo Vesicular Arbuscular Mycorrhizal، فتحسن من نموه وتعمل على زيادة الإثمار، كما تحدث تغيرات فيزيولوجية تؤثر في نوعية المحصول وجودته (Smith and Read, 2008). تتصف أبواغ هذه الفطور عموماً بعدم إنباتها إذا لم تكن قريبة من جذور العائل، وتتميز بكونها أكبر حجماً من أبواغ معظم الفطور الأخرى، إذ تتراوح أقطارها بين 10 و1000 ميكرومتر (Gerdemann and Nicolson, 1963). يتم التعرف على الميكوريزا الداخلية وتصنيفها اعتماداً على الصفات المورفولوجية للأبواغ (كاللون، والجدار الخارجي وسماكته وعدد الطبقات المكونة له، وشكل اتصال الهيفا بالبوغة، وشكل البوغة، واتصالها بأبواغ أخرى أو وجودها بشكل منفرد) (Schenck and Perez, 1990).

أدت زيادة عدد الأجناس والأنواع التابعة لهذه الفطور الى اللجوء لطرائق أكثر دقة في توصيفها اعتمدت على المؤشرات الجزيئية، كذلك المعتمدة على التحليل الجزيئي لمنطقة المورثات المسؤولة عن الرنا الريبوزومي (rRNA)، مما أدى الى تعديل في تصنيف الميكوريزا ووضعها في شعبة خاصة بها وهي: Glomeromycota، صف Glomeromycetes، رتبة Glomerales. ويتبع لهذه الرتبة عدة عائلات هي: Glomaceae و Acaulosporaceae و Gigasporaceae و Archaeosporaceae و Paraglomaceae. (Redecker, 2002; Morton, 2002; Quilambo, 2003).

هناك العديد من الأجناس التابعة لفطور الميكوريزا الداخلية ومن أهمها وأكثرها انتشاراً الجنس *Glomus* الذي يضم عديد من الأنواع التي تشكل أباوفاً كلاميدية طرفية مفردة ذات جدار سميك (Meyer et al., 2005; Aher et al., 2011). فلقد سجل وجود *Glomus* على عديد من الأنواع النباتية، ومن بينها نباتات العائلة الباذنجانية في سورية (الاشقر والقاضي، 2000)، وتم عزل أبواغ النوع *Glomus mosseae* من حقول زراعة الباذنجان في بعض مناطق ريف دمشق (حيدر وآخرون، 2011).

يصعب تمييز جذور الذرة المتعايشة مع الميكوريزا الداخلية *Endomycorrhiza* بالعين المجردة لكون الاختلافات التي تطرأ عليها بسيطة وتقتصر على تغيير بلونها واختفاء الشعيرات الماصة، مع ملاحظة انتقال قليل في الجذر في بعض الأحيان، لذلك يتم التعرف عليها بإجراء المقاطع العرضية ومشاهدة الاختلافات التشريحية مجهرياً (Scervino et al., 2005; Smith and Read, 2008). يعد هذا البحث خطوة أولى لتحديد الفطور الجذرية الشجرية الحويصلية (ميكوريزا) على جذور نبات الذرة الصفراء في بعض ترب المنطقة الساحلية في سورية وتحديد أجناسها وأنواعها.

#### مواد البحث وطرائقه:

#### جمع عينات التربة:

جمعت عينات التربة من حقول مزرعة نباتات الذرة الصفراء من أربعة مواقع تابعة للمنطقة الساحلية خلال الموسم 2015، شملت موقعي الهنادي وفيديو في محافظة اللاذقية، وموقعي حريصون وميعار شاكر في محافظة طرطوس. أُخِذت أربع عينات من كل موقع، شملت العينة أجزاء من جذور النبات والتربة المحيطة بها على عمق 20، 30، 40 و50 سم، وبواقع 0.5 كغ لكل عينة (Diagne et al., 2001). خُلِطت عينات كل موقع بشكل جيد لتمثل عينة مركبة خاصة بالموقع وحُفِظت في أكياس من البولي إيثيلين، ووُضِعَت عليها بطاقة تعريف، ثم نُقلت الى المختبر حيث تم تجفيفها هوائياً عند درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة، وحُفِظت بعد ذلك في الثلاجة عند 2 - 5 س لحين استخدامها في عزل أبواغ الميكوريزا. أُجريت مقاطع تشريحية لبعض جذور نباتات الذرة الموجودة في العينات، بعد تنظيفها بمحلول ماءات البوتاسيوم حيث تم تلوينها بصبغة أزرق التريبان (TB)، وفُحصت تحت المجهر لمشاهدة البنى الداخلية المميزة لفطور الميكوريزا في الجذر (التفرعات الشجرية Arbuscular - الحويصلات Vesicles) (Phillips and Hayman, 1970).

#### استخراج أبواغ الميكوريزا:

استخدمت طريقة المناخل الرطبة والتنقيط بالسكرز لاستخراج أبواغ الميكوريزا حسب (Quilambo, 2003)، حيث تم خلط 200 غرام من كل عينة تربة مركبة مع لتر واحد من الماء المقطر، بوساطة خلاط كهربائي لمدة 10-15 دقيقة، وأُضيف إليها Tween 80 بنسبة 5% لتجنب حدوث الرغوة. تركت العينات حتى ترسبت الأجزاء الثقيلة من التربة، ثم مُرّر معلق التربة المائي عبر سلسلة من المناخل المعدنية بأقطار فتحاتها متباينة، تبدأ بقطر 750 ميكرومتر، لإزالة الأجزاء الكبيرة من المادة العضوية والسماح للأبواغ بالمرور عبرها، ثم مُررت الرشاخة والبقايا المحتجزة عبر منخل بفتحات 250 ميكرومتر، ثم 100 ميكرومتر، ومُرّر الطمي والأبواغ الصغيرة الباقية عبر منخل بفتحات 50 ميكرومتر. جمعت كافة البقايا والرشاخة الناتجة عن المناخل المختلفة وتم تثقيفها بسرعة 2000 دورة/د. لمدة 5 دقائق. أخذ الراسب واستبعد الجزء الطافي منه، ثم أُضيف لأنابيب الطرد المحتوية على الراسب محلول من السكرز بتركيز 50%، وعُرض للتثقيف مرة أخرى بسرعة 2000 دورة/د، ثم فُصل المحلول الطافي منه، وغُسل الراسب بالماء فوق منخل 50

ميكرومتر، ووضعت نواتج كل أنبوب في طبق بتري تمهيداً لفحصها بالمجهر الضوئي. التقطت الأبواغ بوساطة إبرة مسطحة، حفظت الأبواغ الملتقطة في محلول Ringer تمهيداً لتوصيفها مورفولوجياً وتعريفها ( Schenck and Nicolson, 1963; and Perez, 1990).

#### التوصيف المورفولوجي لأبواغ الميكوريزا:

بعد استخراج أبواغ فطور الميكوريزا، تم انتقاء الأبواغ النظيفة والنموذجية ووضعت في زجاجة ساعة تحوي ماء مقطر، وفحصتها بالمجهر الضوئي (تكبير 60X). سُجِلت كافة المواصفات المستخدمة في تمييز أبواغ الميكوريزا (شكل البوغة، ولونها، وأبعادها، وسماكة جدارها، وعدد الطبقات المكونة له، وألوانها، وجود الهيفا أو عدم وجودها، وشكلها، وطريقة اتصالها بالبوغة) ( Schenck and Perez, 1990). تم تصوير الأبواغ باستخدام كاميرا رقمية موصولة مع برنامج على الحاسوب يسمح بقياس أبعاد البوغ وسماكة جداره، وعُرِّفت هذه الأبواغ اعتماداً على المفاتيح التصنيفية المعتمدة عالمياً ( Schenck and Perez, 1990; Blaszkowski, 2003). نُقِّدَت الدراسة في مختبر الأمراض الفطرية، ومختبر النيماتودا، بمركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية، كما أرسلت بعض الأبواغ المعزولة المتعلقة بكل جنس إلى مركز أبحاث الميكوريزا بطهران، وتم التأكد من تصنيفها مورفولوجياً وفق مفاتيح التصنيف العالمية وبإشراف مختصين بالتصنيف.

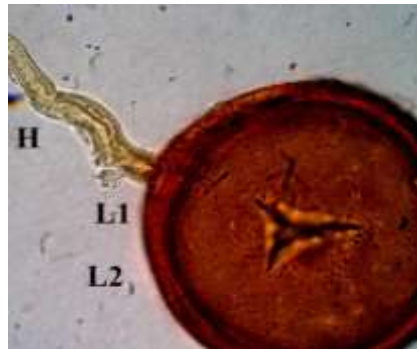
#### النتائج والمناقشة:

#### فطور الميكوريزا المتعايشة مع جذور الذرة الصفراء في بعض مناطق زراعتها في الساحل السوري:

أظهرت نتائج الفحص المجهرى للعينات المستخدمة في الدراسة وجود أبواغ تابعة لثلاثة أجناس من فطور الميكوريزا والتي تملك الخصائص النموذجية المميزة للأجناس التالية:

#### الجنس *Glomus*

أظهرت عمليات العزل وجود الجنس *Glomus* في العينات المأخوذة من المحيط الجذري لنباتات الذرة الصفراء المزروعة في موقعي الهنادي وفيديو في محافظة اللاذقية، وموقعي حريصون وميعار شاطر في محافظة طرطوس، أظهرت نتائج الفحص المجهرى وجود أبواغ هذا الجنس بشكل منفرد وبلون بني فاتح، وقد تميزت بشكلها القمعي إلى الأسطواني، وبلغت أبعادها بالمتوسط 924×521.5 ميكرومتر. يتكون جداره من طبقتين (L1, L2)، الطبقة الخارجية ذات لون أصفر إلى برتقالي وخالية من التزيينات، أما الطبقة الداخلية فهي شفافة رقيقة بلغ متوسط سماكتها 113.5 ميكرومتر، وذات لون أصفر شاحب. تتصف الهيفا بأن لها شكل أسطواني ويكون مكان اتصالها بالبوغة أوسع من بقية الهيفا (الشكل 1)، ويمكن أن تتفصل الهيفا عن البوغة مع تقدمها بالعمر. وقد سُجِل هذا الجنس لأول مرة في عام 1985 في ولاية أوريغون في أمريكا حيث تم عزله من محيط جذور نبات الذرة الصفراء ( Berch and Trappe, 1985)، كما تم عزله من محيط جذور النباتات في الغابات، ومن الترب الرملية، ومن ترب جوانب الطرق في كولومبيا البريطانية (Greipsson *et al.*, 2002).



الشكل 1. الجنس *Glomus*

**الجنس *Paraglomus*:**

عُزلت أبواغ الجنس *Paraglomus* من عينات التربة المأخوذة من المحيط الجذري لنباتات الذرة الصفراء من موقع الهنادي في محافظة اللاذقية فقط، وقد غابت في عينات كافة المواقع الأخرى. لقد بيّن الفحص المجهرى وجود أبواغ هذا الجنس بشكل منفرد في التربة، وتميزت بمظهر شفاف يميل إلى اللون البني، وبشكل كروي إلى نصف كروي، أو بيضوي الشكل أحياناً، وبلغت أبعادها بالمتوسط  $56.8 \times 59.5$  ميكرومتر. تتكوّن جدار البوغة من ثلاث طبقات شفافة اللون (L1، L2، L3) (الشكل 2)، تميزت الطبقة الخارجية بأنها سميكة وتلتصق بإحكام بالطبقة الثانية الشفافة والرقيقة، والتي غالباً ما تنفصل عند نضج الأبواغ، والطبقة الثالثة رقيقة ومرنة. بلغت سماكة جدار البوغة بالمتوسط 2.5 ميكرومتر. تتصل الهيفا بالبوغة وتكون عريضة في مكان الاتصال، ولها شكل أسطواني وتضيق تدريجياً بسبب سماكة الطبقة الداخلية للجدار مع التقدم بالعمر، وتكون منحنية أو مستقيمة (الشكل 2). تميزت أبواغ هذا الجنس بأنها تبقى بمظهر شفاف وذات لمعان طول فترة حياتها، وغالباً ما يتمزق جدار البوغة وقد تنفصل الطبقة الخارجية لجدار البوغة تماماً حتى في الأبواغ غير الناضجة، تم عزل أبواغ هذا الجنس لأول مرة في سورية من المحيط الجذري لنبات الباذنجان في ريف دمشق (حيدر وآخرون، 2008).

لقد توافقت مواصفات الأبواغ التي عزلت من الهنادي من حيث أبعادها ومواصفات جدارها وشكل اتصال الهيفا مع البوغة مع نتائج أبحاث ودراسات سابقة (Morton and Beeny, 1990; Blaszkowski, 1990; Morton, 2002; Sharma *et al.*, 2008).

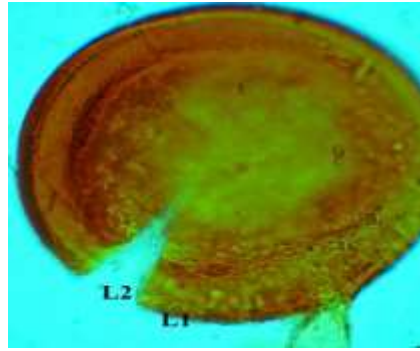


الشكل 2. الجنس *Paraglomus*

**الجنس *Septoglomus***

عزلت أبواغ الجنس *Septoglomus* من عينات التربة المأخوذة من موقعي محافظة طرطوس فقط (ميعار شاكر وحريصون)، ولم يتم عزل أبواغ هذا الجنس من موقعي محافظة اللاذقية، وأظهرت نتائج الفحص المجهرى وجود أبواغ هذا الجنس بشكل منفرد أو بشكل مجموعة، ولون بني إلى برتقالي. تميزت الأبواغ بشكل كروي إلى نصف كروي، وقد تكون بيضوية أحياناً، وذات أبعاد بلغت بالمتوسط  $131.5 \times 190$  ميكرومتر. يتكون جدار البوغة من طبقتين (L1، L2)، الأولى شفافة صفراء اللون والثانية (الداخلية) ذات لون بني مصفر (الشكل 3)، وبلغت سماكته بالمتوسط 14.5 ميكرومتر. تتصف الهيفا بأنها مستقيمة أو منحنية وتكون ضيقة عند قاعدة البوغة وأحياناً أسطوانية الشكل، وتشكل مكان اتصالها بالبوغة ما يشبه القمع، كما تتسع الهيفا في جوانبها حتى تصل إلى 25.5 ميكرومتر (الشكل 3)

توافقت مواصفات أبواغ الجنس *Septoglomus* التي تم عزلها وتحديد مواصفاتها في هذه الدراسة مع مواصفات الأبواغ التي عُزلت من المحيط الجذري للنباتات المزروعة والبرية في أغلب مواقع الدراسة في بولندا (Blaszkowski *et al.*, 2001).

الشكل 3. الجنس *Septoglomeris***الاستنتاجات:**

تم خلال هذه الدراسة التأكد من وجود فطور الميكوريزا المتعايشة مع جذور نبات الذرة الصفراء في موقعي الهندي وفيديو في محافظة اللاذقية، وموقعي حريصون وميعار شاكر في محافظة طرطوس، وتم توصيفها مورفولوجياً، حيث تم تمييز ثلاثة أجناس من فطور الميكوريزا وهي: *Glomus* و *Paraglomus* و *Septoglomeris*. بينت النتائج الانتشار الواسع للجنس *Glomus* حيث تم تسجيله في كافة مواقع الدراسة ومحدودية انتشار الجنس *Paraglomus* الذي سجل فقط في موقع واحد من مواقع الدراسة.

**المراجع:**

الأشقر، كمال وعماد القاضي (2000). دراسة أولية للفطريات الجذرية (Mycorrhizae) في سورية، مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية 16: 59-70.

حيدر، أسما وخالد العسس وكمال الأشقر (2011). تأثير التفاعل التضادي بين نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* والفطر الميكوريزي *Glomus mosseae* في تحفيز نمو نبات الباذنجان. المجلة الأردنية للعلوم الزراعية، 7: 589-601.

Abdel-Fattaha, G.M; S.A. El-Haddadb; Y.M. Hafezcrashadd (2011). Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. Microbiological Research. 166: 268-281.

Aher, R.K.; A.L. Bhalerao; S.L. Khapake, and R.N. Deshmukh (2011). Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *helianthus annuus*. Review of Research. 1: 1- 4.

Berch, S.M.; J.M. Trappe (1985). A new species of Endogonaceae, *Glomus hoi*. Mycologia. 77: 645-657.

Blaszkowski, J. (2003). Arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*), Endogone, and Complexipes species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland. < http://www.agro.ar.szczecin.pljblaszkowsk>

Blaszkowski, J.; M. Tadych; and T. Madej (2001). *Glomus arenarium*, a new species in Glomales (Zygomycetes). Acta Soc. Bot. Pol., 70: 97-101.

Diagne, O.; K. Ingleby; J.D. Deans; D.K. Lindley; I. Diaite; and M. Neyra (2001). Mycorrhiza inoculum potential of soils from alley cropping plots in Senegal. Forest Ecol. Manage., 146: 35-43.

Gerdemann, J.W.; and T.H. Nicolson (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soils by wet-sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc., 46: 235-244.

Greipsson, S.; H. El-Mayas; M. Vestberg; and C. Walker (2002). Arbuscular mycorrhizal fungi in sandy soils in Iceland. Arctic, Antarctic, Alpine Res., 34: 419-427.

Mcgee, P.A. (1986). Further Sporocarpic species of *Glomus* (Endogonaceae) from South Australia. Trans. Brit. Mycol. Soc., 87: 123-129.

- Meyer, A.H.; A.J. Botha; E. Valentine; A. Archer; and P.J.E. Louw (2005). The occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in inoculated and uninoculated rhizosphere soils of two-year-old commercial grapevines. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 26: (2) 90-94.
- Morton, J.B. (2002). International culture collection of (Vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi. West Virginia University. < <http://www.invam.caf.wvu.edu>>
- Morton, J.B.; and D. Redecker (2001). Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*. 93: 181-195.
- Morton, J.B.; and G.L. Benny (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Giagasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*. 37: 471-491.
- Pawaar, J.S.; and U.B. Kakde (2012). Study of Arbuscular mycorrhiza associated with some important medicinal plants in suburban area of Mumbai. *Online International Interdisciplinary Research Journal*. 2: 116-127.
- Phillips, J.M.; and D.S. Hayman (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55: 157-160.
- Quilambo, O.A. (2003). The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal of Biotechnology*. 2 (12): 539-546.
- Redecker, D. (2002). Molecular identification and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 244: 67-73.
- Scervino, J.M.; M.A. Ponce; R. Erra-Bassells; H. Vierheilig; J.A. Ocampo; and A. Godeas (2005). Arbuscular mycorrhizal colonization of tomato by *Gigaspora* and *Glomus* species in the presence of root flavonoids. *Journal of Plant Physiology*. 162: 625-633.
- Schenck, N.C.; and Y. Perez (1990). *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. 3<sup>rd</sup> ed. Synergistic Publications, Gainesville, Fla. USA. 286 p.
- Sharma, S.; V. Parkash; and A. Aggarwal (2008). *Glomales: a monograph of Glomus spp. (Glomaceae) in the sunflower rhizosphere of haryana, INDIA, HELIA*. 31 (49): 13-18.
- Smith, S.E.; and D.J. Read (2008). *Mycorrhizal Symbioses*. Academic Press, London, UK. 589 p.

## Isolation and Identification of Root-Fungi (Mycorrhizae) Genera that Symbiotic with Corn (*Zea mays*) Roots in the Syrian Coast

Mohammad Imad Khrieiba<sup>\*(1)</sup> and Sima Zangeneh<sup>(2)</sup>

(1). Department of Biological Diversity, National Commission of Biotechnology (NCBT), Damascus, Syria.

(2). Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

(\*Corresponding author: Dr. Mohammad Imad Khrieiba. E-Mail: imadkhrieiba@gmail.com)

Received: 02/05/2018

Accepted: 01/10/2018

### Abstract

The objective of this study was to identify some species of mycorrhizal fungi commensal with *Zea mays* roots in the Syrian coast. Samples were collected from four sites in two different regions, Latakia (sites: Alhannadi and Fidjo) and Tartous (sites: Mayaar Shaker and Hrysoon). Four samples of soil and *Zea mays* roots were collected from each site and mixed together to form a composite sample/site. Morphological characterization of isolated fungi was based on universally adopted taxonomic keys, and the identification results were approved by the Plant Protection Research Institute of Iran. Three genera of mycorrhizal fungi were identified at the different sites. *Paraglomus* was present in one site (Alhannadi), *Septoglomus* was isolated from 2 sites (Mayaar Shaker and Hrysoon), and *Glomus* was presented in all sites.

**Key words:** Mycorrhiza, *Zea mays*, Syrian coast.