علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۵ (ص ۲۹۶-۲۸۷)
DOI: 10.22059/ijhs.2016.58528

تأثیر بسترهای کشت و همزیستی قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بر رشد و استقرار پایه‌های سیب ریزازدیادی‌شده MM106

ژیلا محمدی[1*]، لطفعلی ناصری[2] و محسن برین[3]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه ارومیه
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۱۶- تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۲/۲)

چکیده

ریزازدیادی یکی از روش‌های رایج افزایش کلون‌های سیب است. اما بقاء کم و رشد ضعیف این گیاهان پس از انتقال، استفادۀ گسترده از این روش را محدود می‌کند. میزان موفقیت این روش می‌تواند با استفاده از عامل‌های زیستی مانند همزیستی با قارچ‌ریشهٔ آربوسکولار افزایش یابد. در این پژوهش تأثیر همزیستی قارچ‌ریشه و نوع بستر کشت بر رشد، استقرار بهتر پایه‌های سیب MM106 و کاهش تلفات گیاهان ریزازدیادی‌شده در مرحلۀ سازگاری بررسی شد. این پژوهش در شرایط گلخانه به صورت فاکتوریل با دو عامل قارچ‌ریشه در چهار سطح (*Glomus inrtraradices*، *Glomus mosseae*، *G. intraradices + G .mosseae* و شاهد) و بستر کشت در سه سطح (پیت‌ماس، پرلیت و مخلوطی از هر دو) در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. پس از پانزده هفته برخی ویژگی‌ها ارزیابی شد. نتایج نشان داد که همزیستی با قارچ‌ریشه و به‌ویژه گونۀ *Glomus inrtraradic* ارتفاع، شمار برگ، وزن تر و خشک ریشه، سبزینگی و عناصر فسفر، روی و آهن را افزایش داد. به‌طوری‌که ارتفاع و وزن تر ریشه در گیاهان تلقیح‌شده با *Glomus inrtraradices* به ترتیب ۱/۶۳ و ۱/۹۱ برابر نسبت به گیاهان شاهد افزایش داشت و نیز بیشترین میزان ویژگی‌های اندازه‌گیری‌شده (به‌جز سطح برگ) در همزیستی قارچ‌ریشه و بستر پیت‌ماس مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: پیت‌ماس، سیب، کشت بافت، قارچ‌ریشهٔ گلوموس.

مقدمه

روش ریزازدیادی روشی سریع برای تولید گیاهانی با ژنوتیپ یکسان، بدون بیماری و به شمار دلخواه است. اما چالش‌هایی وجود دارد که استفادۀ گسترده از آنرا محدود می‌کند. بزرگ‌ترین چالش تولید تجاری گیاهان ریزازدیادی، بقاء کم و رشد ضعیف پس از انتقال است و بیشترین مرگ‌ومیر گیاهان (۱۰ تا ۴۰ درصد و یا حتی بیشتر) در این مرحله رخ می‌دهد (Aka-Kacari, 2010). گیاهان پس از انتقال به دلیل روزنه‌های ناکارآمد ناقص، توسعۀ ضعیف پوست (کوتیکول)، شکل‌گیری نظام ریشه‌ای ضعیف، تغذیه و شرایط محیطی نامناسب رشد ضعیفی دارند (Hazarika, 2003). در سال‌های اخیر استفاده از توانایی ریزسازواره‌های[1] فراریشه‌ای (ریزوسفری) به‌ویژه قارچ‌ریشه‌های آربوسکول[2] در افزایش استقرار گیاهچه‌ها توجه شده است. AMF از مهم‌ترین ریزسازواره‌های خاک بوده که در همزیستی با گیاهان، رشد و سلامتی آن‌ها را به‌وسیلۀ بهبود تغذیۀ کانی و یا افزایش بردباری به تنش‌های محیطی بهبود می‌بخشند (Clark & Zeto, 2000; Karimi *et al.*,

* تلفن: ۰۹۳۷۳۰۹۵۶۲۸
E-mail: jilimohamadi136@gmail.com

1. Micro-organismes
2. Arbuscular Mycorrhiza Fungi-AMF

2011). به‌عنوان‌مثال قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار به روش‌های مستقیم مانند بهبود تغذیهٔ گیاه از راه افزایش جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم‌تحرک مانند فسفر (Smith & Read, 1997) و همچنین تولید هورمون‌هایی مانند اکسین، سیتوکینین و اسید آبسیزیک در تحریک رشد گیاه نقش مهمی ایفا می‌کنند (Awotoye *et al.*, 2009) و به‌طور غیرمستقیم مانند کاهش تنش‌های زیستی (بیماری‌های گیاهی) (Calvet *et al.*, 1995) و غیرزیستی (شوری، خشکی، فلزهای سنگین و غیره) سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان میزبان می‌شوند (Raiesi & Ghollarata, 2006). نوع قارچ‌ریشه می‌تواند تأثیرهای متفاوتی در همزیستی داشته باشد، برای مثال قارچ‌ریشهٔ *G. intraradices* در جذب عناصر توسط گیاه آفتابگردان کارایی بیشتری از قارچ‌ریشهٔ *G. mosseae* دارد (Awotoye *et al.*, 2009). ریزازدیادی، گیاهانی بدون ریزسازواره از جمله قارچ‌ریشه تولید می‌کند که این قارچ سودمندی‌های زیادی برای گیاه میزبان چه در تولید نهال در قلمستان‌ها و یا در سازگاری گیاهان ریزازدیادی‌شده دارد (Kapoor *et al.*, 2008). میزان موفقیت گیاهچه‌های ریزازدیادی می‌تواند به‌طور مؤثری با مقاوم‌سازی به‌هنگام با استفاده از عامل‌های زیستی مانند قارچ‌ریشهٔ آربوسکولار افزایش یابد (Rupnawar & Navale, 2000). گیاه سیب به‌طورمعمول توسط قارچ‌ریشه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Koch *et al.*, 1981) و گیاهان سیب رشدیافته در خاک‌های حاوی مواد غذایی کم یا غنی اگر با قارچ‌ریشهٔ آربوسکولار تلقیح شده باشند می‌توانند افزایش رشد فراوانی را نشان دهند (Morin *et al.*, 1994).

هدف از این پژوهش بررسی نقش برخی گونه‌های قارچ گلوموس (*Glomus inrtraradices*، *Glomus mosseae*، *G. intraradices* + *G. mosseae* و شاهد) و نوع بستر کشت (پیت‌ماس، پرلیت و مخلوطی از پیت و پرلیت با نسبت یکسان) به‌صورت توأم در شرایط گلخانه بر افزایش رشد و استقرار بهتر پایهٔ MM106 در مرحلهٔ سازگاری بود.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ گیاهچه‌های ریزازدیادی

در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه (۱۳۹۳) گیاهچه‌های ریزازدیادی‌شده MM106 به منظور رساندن آن به شمار دلخواه در محیط کشت پرآوری MS (Murashing & Skoog, 1962) کشت شده و به اتاق رشد با شرایط دمایی ۲۵-۲۰ درجهٔ سلسیوس، نور ۳۰۰۰ لوکس و طول دورهٔ روشنایی و تاریکی شانزده و هشت ساعت منتقل شدند. پس از پرآوری گیاهچه‌ها در آغاز به محیط کشت القای ریشه‌زایی منتقل‌شده و پس از چهار روز در تاریکی نگهداری، سپس در محیط کشت ریشه‌زایی کشت شده و به اتاق رشد منتقل و به مدت دو ماه دیگر در این شرایط نگهداری شدند در این مدت ریشه داده و ریشه‌ها به‌خوبی رشد کردند.

تهیهٔ مایهٔ تلقیح قارچ‌ریشه

مایهٔ تلقیح[1] مورداستفاده در این آزمایش که شامل اسپور، ریسه (هیف) و قطعه‌های ریشهٔ قارچ‌ریشه‌ای دو گونه از قارچ‌های *Glomus mossea* و *Glomus intraradices* بود، به‌وسیلهٔ گیاه ذرت به‌عنوان گیاه میزبان در مخلوط خاک و ماسهٔ سترون (استریل) افزایش شدند. پس از چهار ماه از کشت ذرت‌ها، بخش هوایی گیاهان از سطح خاک کف‌بر شده و ریشه‌های قارچ‌ریشه‌ای و مخلوط خاک و ماسه که حاوی ریسه و اسپورهای قارچ بودند به‌عنوان مایهٔ تلقیح استفاده شدند (Barin *et al.*, 2007).

طرح آزمایش و نحوهٔ اعمال تیمارها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل و با دو عامل و بر پایهٔ طرح کامل تصادفی، عامل اول قارچ‌ریشهٔ آربوسکولار در چهار سطح دو گونهٔ قارچ (*Glomus mosseae*، *Glomus intraradices*)، مخلوطی از هر دو گونه و گیاه شاهد بدون قارچ و عامل دوم بستر کشت در سه سطح (پرلیت، پیت‌ماس و مخلوطی از هر دو) در چهار تکرار انجام شد. برای اعمال تیمارها گیاهان به

---

۱. مایهٔ تلقیح از آزمایشگاه گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه تهیه شد.

گلدان‌های ۱/۵ لیتری حاوی پیت‌ماس، پرلیت یا مخلوطی از هر دو منتقل شدند و مقدار ۷۰ گرم مایهٔ تلقیح (حاوی اسپور، ریسه و تکه‌های ریشهٔ ریشه‌قارچی) به هر گلدان به‌صورت کپه‌ای در زیر ریشه‌ها اضافه شد. سپس در گلخانه در شرایط دمای کمینهٔ ۲۶-۲۴ درجهٔ سلسیوس و دمای بیشینهٔ ۳۲-۲۹ درجهٔ سلسیوس برای مدت پانزده هفته نگهداری شدند. در طول این مدت گلدان‌ها یک روز در میان آبیاری شده و هفته‌ای یک‌بار با محلول غذایی هوگلند (Taiz & Zeiger, 2002) (یک‌چهارم فسفر) تغذیه شدند (در زمان استفاده از محلول غذایی آبیاری صورت نمی‌گرفت).

صفات اندازه‌گیری‌شده

پانزده هفته پس از اعمال تیمارها، صفات رشدی و فیزیولوژیکی گیاهان MM106 اندازه‌گیری شد. برای این منظور ارتفاع گیاه با خط‌کش، قطر ساقه با کولیس دیجیتالی مدل Z22855، شمار برگ با شمارش، سطح برگ با دستگاه سطح‌سنج مدل Am 200، میزان سبزینگی با سبزینه‌سنج (کلروفیل‌متر) مدل Konica Minolta 502 برحسب شاخص SPAD، وزن تر و خشک ریشه با ترازوی دیجیتالی و پس از هضم خشک برگ‌ها، میزان فسفر با استفاده از روش رنگ‌سنجی (Colorimetric) (رنگ زرد مولیبدات وانادات) و با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر، پتاسیم به روش نشر شعله‌ای و با استفاده از دستگاه نورسنج شعله‌ای (فیلم فتومتر)، مقادیر روی و آهن با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند (امامی، ۱۳۷۵) و برای تعیین درصد کلون‌سازی (کلونیزاسیون) ریشه‌ها از روش تلاقی خطوط شبکه‌ای (Giovannetti & Mosse, 1980) استفاده شد. در این روش روی کاغذ شطرنجی را به پشت یک ظرف پتری‌دیش چسبانده و کمی از ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شده به روش هیمن (Philips & Hyman, 1970) را درون ظرف پتری‌دیش به‌طور تصادفی پخش کرده و سپس صد نقطهٔ تلاقی ریشه‌ها را با خطوط شطرنجی در زیر استریومیکروسکوپ مشاهده و درصد تلاقی که قارچ‌ریشه داشتند، تعیین شد.

ویژگی‌های بسترهای کشت

در جدول ۱ برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پیت‌ماس BVB (Bas Van Buuren) (بر پایهٔ اطلاعات شرکت توزیع‌کننده) مورداستفاده آورده شده است. پرلیت استفاده‌شده نیز دانهٔ متوسط با pH خنثی داشت.

جدول ۱. برخی ویژگی‌های پیت‌ماس
(بر پایهٔ اطلاعات شرکت)
Table 1. Some peat moss properties
(According to company information)

Properties	Unit	Amount
Water holding capacity	%	60
pH		6.5-5
EC		1.5
Organic mater	%	20
Organic nitrogen	%	0.2
P (P_2O_5)	(mg kg^{-1})	150-300
K (K_2O)	(mg kg^{-1})	100-400
N	(mg kg^{-1})	150-300

تجزیهٔ آماری داده‌ها

برای انجام تجزیهٔ واریانس و مقایسهٔ میانگین‌های صفات اندازه‌گیری‌شده از نرم‌افزار SAS استفاده شد. مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع و قطر ساقه

نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول۲) نشان داد که کاربرد بسترهای کشت مختلف و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بر ارتفاع گیاهان پایهٔ MM106 تأثیر معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۱)، درحالی‌که اثرهای متقابل این دو عامل بر ارتفاع معنی‌دار نشد. بنا بر نتایج مقایسهٔ میانگین‌ها (جدول۳) بیشترین ارتفاع مربوط به گیاهان کشت‌شده در پیت‌ماس بود. همچنین بین گیاهان شاهد (بدون تلقیح قارچ) و گیاهان قارچ‌ریشه‌ای از لحاظ ارتفاع اختلاف معنی‌داری وجود داشته اما بین تیمارهای مختلف قارچ‌ریشه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۴). همان‌طورکه در جدول ۱ نشان داده شده است تنها کاربرد بسترهای کشت مختلف بر قطر ساقهٔ گیاهان تأثیر معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۱). مقایسهٔ میانگین‌های قطر ساقه

گویای آن است که (جدول۳) بیشترین قطر ساقه در گیاهان کشت‌شده در پیت‌ماس مشاهده شد. بهبود رشد در گیاهان همزیست با قارچ‌ریشهٔ آربوسکولار را می‌توان به افزایش سطح جذب ریشه نسبت داد، در واقع ریسه‌های قارچی به‌عنوان ریشه‌های ثانویه عمل کرده و می‌توانند وارد روزنه‌های بسیار ریزی که حتی تارهای کشنده قادر به نفوذ به آنجا نبوده، شده و از این راه جذب آب و عناصر غذایی را توسط گیاه میزبان افزایش دهند (Marschner & Dell, 1994). همچنین قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار از راه تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و تأثیر آن‌ها بر رشد ریشه می‌توانند جذب آب و عناصر غذایی را بهبود بخشیده و در نتیجه روی لایهٔ زایندهٔ (کامبیوم) آوندساز اثر گذاشته و باعث افزایش قطر ساقه شوند (Egamberdigevaa *et al*., 2003). که البته با نتایج این بررسی همخوانی ندارد و هیچ‌یک از تیمارهای قارچی موجب افزایش معنی‌داری در قطر ساقه نشد. ویژگی‌های بسترهای کشت فیزیولوژی و ریخت‌شناختی (مورفولوژی) گیاهان را به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد (Catliffe *et al*., 2001). بسترهای کشت بر پایهٔ پیت به دلیل اینکه حاوی نیتروژن، فسفر و پتاسیم هستند، موجب بهبود رشد گیاهان می‌شوند (Smith & Read, 1997). میزان رشد رویشی در شماری از رقم‌های توت‌فرنگی کشت‌شده در پیت‌ماس نسبت به پرلیت و مخلوطی از پیت و پرلیت بالا بوده است (Tehranifar *et al*., 2007). در تولید گل‌های بریده، بیشترین میزان ارتفاع (۶۵ سانتی‌متر) در مخلوطی از پرلیت و پیت‌ماس نسبت به گیاهان کشت‌شده در پرلیت خالص مشاهده شد که با نتایج این بررسی نیز همخوانی دارد (Fascella & Zizzo, 2005).

شمار برگ و سطح برگ

نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول۲) نشان داد که تأثیر کاربرد بسترهای کشت مختلف و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بر شمار و سطح برگ گیاهان تأثیر معنی‌داری داشته است ($P<0/01$)، درحالی‌که اثر متقابل این دو عامل تنها بر سطح برگ گیاهان معنی‌دار شد. بیشترین شمار برگ در گیاهان کشت‌شده در پیت‌ماس دیده شد (جدول۳). افزون بر این، بر پایهٔ نتایج مقایسهٔ میانگین‌های مربوط به تأثیر قارچ‌ریشه (جدول۴) بیشترین شمار برگ در گیاهان تلقیح‌شده با *Glomus intraradices* مشاهده شد. مقایسهٔ میانگین‌های اثر متقابل نشان داد که بیشترین سطح برگ مربوط به گیاهان کشت‌شده در پیت‌ماس بدون کاربرد قارچ است (جدول۷). (گیاهان شاهد کشت‌شده در پیت‌ماس به دلیل از دست دادن برگ‌های بالایی در اثر آفت کنهٔ تارعنکبوتی و باقی ماندن چند برگ روی ساقه سطح برگ گسترده‌تری داشتند اما مشاهدهٔ گیاهان در دیگر بسترهای کشت گویای افزایش سطح برگ توسط قارچ‌ریشه است). افزایش سطح برگ در گیاهان قارچ‌ریشه‌ای ممکن است به علت افزایش جذب آب همچنین افزایش نورساخت (فتوسنتز) باشد چرا که جذب آب بیشتر موجب آماس و تورم (تورژسانس) یاخته‌ای شده و این عمل موجب افزایش اندازهٔ یاخته‌ها و گسترش بیشتر برگ‌ها می‌شود (Anisha, 2009). از سوی دیگر تغییرات هورمونی در گیاه با تلقیح قارچ‌ریشه‌ای در ارتباط است و تغییرپذیری ریخت‌شناختی برگ در نتیجه واکنش به تغییرپذیری هورمون‌های گیاهی است (Allen *et al*., 1982). سایتوکینین موجب تولید شاخساره‌های قوی، برگ‌های توسعه‌یافته و درنهایت القاء ریشه‌زایی بهتر می‌شود (Ruzic & Vujovic, 2008). پیت‌ماس به دلیل داشتن ویژگی‌های مناسب برای رشد گیاهان بهترین بستر کشت، برای کشت‌های بدون خاک است (Lieten *et al*., 1995). به‌احتمال پیت‌ماس به دلیل ظرفیت نگهداری آب کافی (۶۰ درصد از حجم خود) و داشتن عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم موجب افزایش شمار و سطح برگ در گیاهان می‌شود (Press & Sutter, 1991). افزایش شمار و سطح برگ تحت همزیستی با قارچ‌ریشه که در این تحقیق مشاهده شد با یافته‌های مشاهده‌شده در نارنج سه برگ با نام علمی *Poncirustrifoliata* (Wu & Xia, 2006) و گیاهچه‌های ریزازدیادی شده *Tapaencochilos ananassae* (Albert *et al*., 2011) همخوانی دارد.

وزن تر و خشک ریشه

بسترهای کشت مختلف و کاربرد قارچ‌ریشه‌های

آربوسکولار و اثرهای متقابل آن‌ها بر وزن خشک ریشه تأثیر معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۱)، درحالی‌که تنها اثرهای کاربرد قارچ‌ریشه بر وزن تر ریشه معنی‌دار شد (P<۰/۰۱) (جدول۲). بیشترین وزن خشک ریشه در گیاهان کشت‌شده در پرلیت و تیمارشده با *Glomus intraradics* (جدول۷) و بیشترین وزن تر ریشه در گیاهان تیمارشده با *Glomus mosseae* (جدول۳) مشاهده شد. افزایش در وزن تر و خشک ریشهٔ گیاهان قارچ‌ریشه‌ای می‌تواند به بهبود جذب فسفر و روابط آبی گیاه (Syversen & Graham, 1989) و محافظت در برابر بیمارگر (پاتوژن)های ریشه (Linderman, 1994) و تغییر در تعادل هورمونی که توسعهٔ نظام ریشه‌ای و تشکیل ریشه‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، مربوط باشد (Linderman, 1992). استفاده از بسترهای کشت حاوی پیت و پرلیت منجر به درصد ریشه‌زایی بیشتر و تولید گیاهانی با ریشه‌های منشعب و در نتیجه سازگاری بهتر می‌شود (Mereti *et al*., 2002). پرلیت به‌احتمال به دلیل داشتن زهکشی بالا و رساندن اکسیژن کافی به ریشه‌ها موجب افزایش رشد و توسعهٔ ریشه‌ها شده است (Wada, 2005).

سبزینگی

نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول۴) نشان داد که تنها کاربرد قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بر میزان سبزینگی برگ تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۱) داشت. بیشترین میزان سبزینگی در گیاهان تیمارشده با *Glomus Intraradics + mosseae* مشاهده شد (جدول۶). به‌طورکلی هرچه شرایط تغذیه‌ای و محیطی برای رشد گیاهان مناسب‌تر باشد، توان گیاه در تولید سبزینه (کلروفیل) در برگ‌ها و تولید انرژی بیشتر می‌شود. ازاین‌رو عامل‌هایی که سبب بهبود این شرایط می‌شوند به‌احتمال بر میزان سبزینه نیز اثر دارند (Demir, 2004). افزایش تشکیل سبزینه در گیاهان قارچ‌ریشه‌ای به‌احتمال به دلیل افزایش نورساخت برای تأمین نیاز کربن در همزیستی با قارچ (Meenakshisundam & Santhagurn, 2011)، جلوگیری از تخریب سبزینه توسط کلروفیلاز و پراکسیداز که در شرایط خشکی عمل می‌کنند است (Wang *et al*., 2000). ثابت شده است که افزایش فسفر به‌عنوان منبع انرژی در گیاهان قارچ‌ریشه‌ای (Malekzadeh *et al*., 2007) و افزایش جذب آهن و منیزیوم به دلیل شرکت این عناصر در ساختمان سبزینه، موجب افزایش سبزینگی می‌شود (Salisbury & Ross, 1995). همچنین در گیاهان تلقیح‌یافته با قارچ به‌احتمال پیت‌ماس با فراهم کردن شرایط تغذیه‌ای و رطوبتی مناسب و پرلیت با فراهم کردن شرایط دمایی و زهکشی مناسب موجب افزایش سبزینگی شده‌اند.

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس صفات رشدی پایهٔ سیب MM106 تحت تأثیر بسترهای کشت و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار

Table 2. Variance Analysis of growth traits of MM106 apple rootstock under effects of Arbuscular Mycorrhiza Fungi as well as culture media

SOV	df	Mean of Squares					
		Height	Diameter	Number of leaves	Leaf aria	Root FW(g)	Root DW(g)
Culture media	2	229196.3**	2.397**	129.64**	1783705.58**	5.083 ns	2.20*
Mycrrhiza	3	95774.34**	0.06 ns	604.77**	2762534.76**	28.648**	7.01**
Culture media and Mycrrhiza	6	5606.45 ns	0.074 ns	28.42 ns	204697.10**	2.279 ns	1.648*
Error	33	2183.50	0.1104	9.34	166639.71	2.232	0.255
CV (%)		11.249	8.13	10.58	11.935	27.858	29.84

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

ns, * and **: non significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively.

جدول۳. مقایسهٔ میانگین‌های صفات ریخت‌شناختی پایهٔ سیب MM106 تحت تأثیر بسترهای کشت مختلف

Table 3. Mean comparison of morphological traits of MM106 apple rootstock under effects of different culture media

Traits / Treatment	Height (cm)	Diameter (cm)	Number of leaves
Peat moss	50.266 a	4.51 a	30.313 a
Peat and Perlite	46.453 b	3.99 b	29.250 a
Perlite	37.51 c	3.751 c	24.93 b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

جدول۴. مقایسهٔ میانگین‌های صفات ریخت‌شناختی پایهٔ سیب MM106 تحت تأثیر قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار

Table 4. Mean comparison of morphological traits of MM106 apple rootstock under effect of Arbuscular Mycorrhiza Fungi

Traits / Treatment	Height (cm)	Number of leaves	Root FW (g)
G. intraradices	47.163 a	32.250 a	6.427 a
G. mosseae × *G. intraradices*	45.50 a	32.250 a	5.389 a
G. mosseae	45.292 a	30.583 a	6.462 a
Control	28.196 b	17.583 b	3.179 b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

عناصر غذایی

بنا بر نتایج تجزیهٔ واریانس کاربرد بسترهای کشت و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار و اثرهای متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر غلظت فسفر (P<۰/۰۱)، روی (P<۰/۰۵) و آهن (P<۰/۰۵) (P<۰/۰۱) داشته است (جدول ۵) و بیشترین غلظت فسفر، روی و آهن در گیاهان کشت‌شده در پیت‌ماس با تیمار *Glomus intraradices* مشاهده شد (جدول۷). افزایش عناصر به‌طور عمده به دلیل انتشار میسیلیوم‌های قارچ‌ریشه در بافت‌های درون ریشه و تشکیل یک نظام جذب اضافی به‌صورت یک نظام ریشه‌ای مکمل برای گیاه است. افزایش فسفر در گیاهان تیمارشده با *G. intraradices* و *G. mosseae* می‌تواند به دلیل محلول ساختن فسفر (تری کلسیم فسفات) به‌وسیلهٔ اسید تولیدشده توسط هر دو گونهٔ قارچ‌ریشه (Tarafdar & Marshner, 1994) و افزایش جذب رطوبت به‌وسیلهٔ ریسه‌های قارچی باشد (Cui & Read, 1997). قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار می‌توانند با تغییرپذیری شیمیایی در فراریشه شامل اسیدی کردن محیط از راه تولید یون‌های H^+ و حفاظت ریشهٔ گیاهان و بهبود روابط آبی گیاه موجب افزایش جذب عناصر شده و از راه تولید آهن‌بر (سیدرفور)هایی، گرایش ریشهٔ گیاهان را بر جذب آهن افزایش دهد (Marschner & Dell, 1994; Wallander, 2000). پیت‌ماس به خاطر داشتن ظرفیت تبادل کاتیونی بالا موجب بهبود جذب عناصر و مدیریت آب در گیاهان می‌شود (Mohamadi *et al*., 2011). نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق در مورد افزایش میزان فسفر روی و آهن با نتایج به‌دست‌آمده از مرکبات (Ortas *et al*., 2002) و انگور (Krishna *et al*., 2005) همخوانی داشت.

جدول ۵. تجزیهٔ واریانس فراسنجه‌های فیزیولوژیکی پایهٔ سیب MM106 تحت تأثیر کاربرد بسترهای کشت و قارچ‌ریشه

Table 5. Variance Analysis of physiological parameters of MM106 apple rootstock under effect of Arbuscular Mycorrhiza Fungi as well as culture media

SOV	df	Mean of Squares				
		Chlorophyll	Root colonization	P	Zn	Fe
Culture media	2	16.492 ns	3.79 ns	0.00543**	86.15.8*	4774.7**
Mycrrhiza	3	1469.551**	19465**	0.00782**	87.0372*	1370.1*
Culture media and Mycrrhiza	6	44.656 ns	6.76 ns	0.00516**	76.6913*	980.7*
Error	33	57.190	55.662	0.00042	24.9175	404.430
CV (%)		7.724	12.47	11.814	16.04	23.07

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

ns, * and **: non significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively.

جدول ۶. مقایسهٔ میانگین‌های پایهٔ سیب MM106 تحت اثر قارچ‌ریشه‌های مختلف بر مؤلفه‌های فیزیولوژیکی.

Table 6. Mean comparison of MM106 apple rootstock under effect of different Arbuscular Mycorrhiza Fungi on physiological components

Traits / Treatment	Chlorophyll (SPAD)	Root colonization (%)
G.intraradices	103.776 a	84.4 a
G. mosseae × *G. intraradices*	104.025 a	83.1 a
G. mosseae	102.471 a	71.88 b
Control	81.33 b	0 c

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test

جدول۷. اثرات متقابل کاربرد بسترهای کشت مختلف و قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی پایهٔ سیب MM106

Table 7. Interaction effects of Arbuscular Mycorrhiza Fungi as well as different culture media on growth traits and tissue nutrients of MM106 apple rootstock

Traits / Treatment	Root (DW) (g)	Leaferea (mm^2)	P (g/100g)	Zn (mg/kg)	Fe (mg/kg)
Perlite * Control	0.9463 c	1583 f	0.136 d	31 a-d	58.15 fe
Perlite * M*	2.3917 a	3076.1 de	0.207 a-c	24.225 d	82.65 b-f
Perlite * I*	3.06 a-c	3704.3 a-d	0.157 d	26.075 cd	77.69 c-f
Perlite * M * I	1.94 a-c	3759.7 a-d	0.165 cd	34.50 a-c	63.25 d-f
Peat * Control	2.098 ab	4217.8 a	0.177 b-d	24 d	11.13 ab
Peat * M	2.9575 a	3495.9 a-d	0.144 d	27.250 b-d	96.26 a-c
Peat * I	2.9150 a	3310.7 b-e	0.224 a	36.50 a	123.03 a
Peat * M * I	2.2488 ab	3915.8 ab	0.220 ab	35.50 ab	89.32 b-e
Peat & Perlite * Control	1.208 bc	2698.5 e	0.158 d	33 a-c	95.62 a-d
Peat & Perlite * M	2.4825 a	3173 c-e	0.159 d	34 a-c	54.99 f
Peat & Perlite * I	2.34 ab	4073 a	0.183 a-d	34.250 a-c	104.59 a-c
Peat & Perlite * M * I	2.3963 a	3876.5 a-c	0.167 c	33 a-c	89.16 b-e

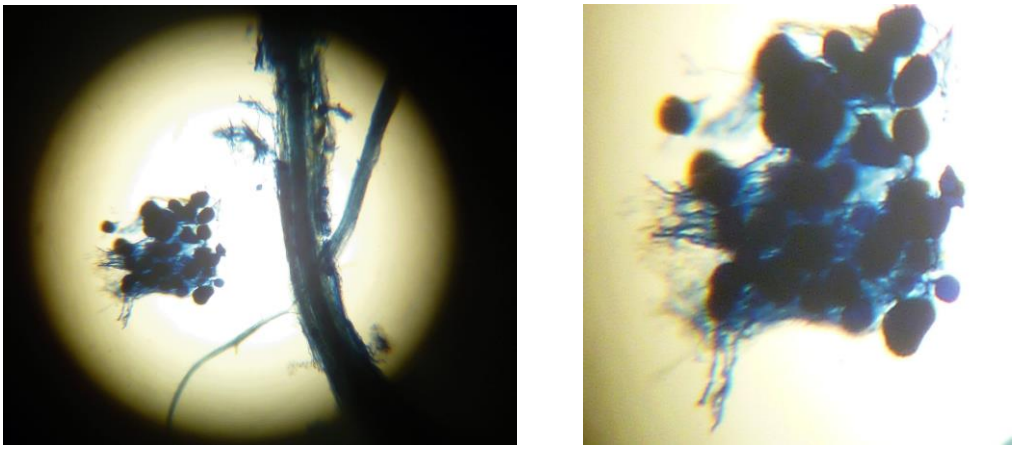
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر پایهٔ آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

حروف اختصاری در جدول عبارت‌اند از : M: *Glumus musseae*، I: *Glumus intraradices*.

Means similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.
The abbreviation in the table include: M: *Glumus musseae*, I: *Glumus intraradices*.

درصد کلون‌سازی ریشه

بنا بر نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول۵) تنها تأثیر قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار بر درصد کلون‌سازی ریشهٔ گیاهان تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۱) داشته است و مقایسهٔ میانگین‌ها (جدول۶) نشان داد، بیشترین درصد کلون‌سازی (۸۴/۴۰ درصد) مربوط به گیاهان تیمارشده با *Glomus intraradices* است. افزایش درصد کلون‌سازی به گونهٔ گیاهی و نوع قارچ بستگی دارد حتی جدایه (ایزوله)های یک‌گونه که از مناطق مختلف گردآوری شده باشند از نظر درصد کلون‌سازی اختلاف دارند، هرچند که این قارچ‌ها از نظر ریخت‌شناختی همسان هستند ولی از نظر فیزیولوژی به‌طور کامل تفاوت دارند (Gholami & Kuchaci, 2001). استفاده از بسترهای کشت مختلف بر تشکیل و شکل‌گیری ریزکیسه (وزیکول)ها و آربوسکول‌ها تأثیر می‌گذارد (Baby & Manibushanrao). به‌احتمال به دلیل وجود مواد آلی در بسترهای کشت بر پایهٔ پیت‌ماس است که رشد ریسه‌ها و تولید اسپورها افزایش می‌یابد (Jeffries & Barea, 2001). بسترهای کشتی که تهویهٔ بالایی دارند، برای تنفس ریشه‌ها و فعالیت قارچ‌ریشه‌های آربوسکولار مناسب هستند (Saif, 1981). شکل ۱ تصاویر میکروسکوپی از ریشهٔ گیاه قارچ‌ریشه‌ای را نشان می‌دهد، اشکال دایره مانند تیره و آبی در هر دو شکل ریزکیسه‌های قارچ است.



شکل۱. تصویری از ریزکیسه‌های قارچ‌ریشه در ریشهٔ گیاه قارچ‌ریشه‌ای

Figure 1. A picture of Mycorrhiza vesicules in mycorrhizal plant root

نتیجه‌گیری نهایی

در پایان این آزمایش مشخص شد که کاربرد بسترهای کشت مختلف و قارچ ریشه‌های آربوسکولار تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی گیاهان ریزازدیادی‌شدهٔ پایهٔ سیب MM106 می‌گذارد، گیاهان پایهٔ MM106 به‌خوبی می‌توانند با قارچ ریشه‌های آربوسکولار و به‌ویژه گونهٔ *Glomus intraradices* همزیستی برقرار کرده و رشد و استقرار بیشتری داشته باشند چراکه، بیشترین میزان ارتفاع، شمار برگ، وزن تر و خشک ریشه و عناصر فسفر، روی و آهن برگ در گیاهان قارچ ریشه‌ای مشاهده شد. همچنین پیت‌ماس خالص و مخلوطی از پیت‌ماس و پرلیت مناسب‌ترین بستر کشت در مرحلهٔ سازگاری این گیاهان است و این دو عامل (بستر کشت و قارچ ریشه) در کنار هم موجب افزایش رشد و بقاء گیاهان ریزازدیادی می‌شوند.

REFERENCES

1. Aka-Kacar,Y., Akpinar, C., Aslihanagar, A., Ortas, I., Serce, S. & Yalcin-Mendil, Y. (2010). The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstock during acclimatization. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(3), 5246-5252.
2. Allen, M.F., Moore, T.S. J.r. & Christensen, M. (1982). Phytohormone changes in Bouteloua gracilis infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: II. Altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant. *Canadian Journal of Botany*, 60,468-471.
3. Alberto de Lima Morais,T., Franklin de Melo, N., Mayumi Yano-Melo, A. & Ricardo Gonçalves de Oliveira, J. (2011). Acclimatization of Tapeinochilos ananassae plantlets in association with arbuscular mycorrhizal fungi. *Agropecuaria brasileira. Brasilia*, 46(9), 1099-1104.
4. Anisha, P.N. (2009). *Studies on indusing variaility in vitro and Use of mycorrhizae in hardening of Gerbera.* M.Sc. thesis. University of Agricultural Sciences, Dharwad, India.
5. Awotoye, O.O., Adewole, M.B., Salami, A.O. & Ohiembor, M.O. (2009). Arbuscular mycorrhiza contribution to the growth performance and heavy metal uptake of Helianthusannuus LINN inpot culture. *African Journal of environmental Scince and Technology*, 3, 157-163.
6. Baby, U.I. & Manibhushanrao, K. (1996). Influence of organic amendments on arbuscular mycorrhizal fungi in relation to rice sheath blight disease, *Mycorrhiza*, 6, 201-206.
7. Barin, M., Aliaasgharzaded, N. & Samadi, A. (2007). Effect of NaCL salinity and salt mixture on Prolin concentration and some tomato growth characteristics in symbiosis with Arbuscular mycorrhiza fungis.*Iranian journal of Agricultural Science*, 37, 139-147. (in Farsi)
8. Calvet, C., Pinochet, J., Hernandez-Dorrego, A., Estan, V. & Camprubi, A. (2001). Field microplot performance of the peach-almond hybrid GF-677 after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. *Mycorrhiza*, 10, 295-300.
9. Clark, R.B. & Zeto, S.K. (2000). Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition*, 23, 867-902.
10. Cantliffe, D., Shaw, J.N., Jovicich, E., Rodriguez, J.C., Secker, I. & Karchi, Z. (2001). Passive ventilated high-roof greenhouse production of vegetables in a humid mild winter climate. *Acta Horticulturae*, 559, 515-520.
11. Cui, M. & Caldwell, M.M. (1996). Facilitation of plant phosphate acquisition by arbuscular mycorrhiza from enriched soil Patches Roots and hyphae exploiting the Same soil Volume. *New phytologist*, 133, 453-460.
12. Demir, S. (2004). Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkey *Journal of Biology*, 28, 85-90.
13. Egamberdigevaa, D. & Haflich, G. (2003). Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 973-978.
14. Fascella, G. & Zizzo, G.V. (2005). Effect of Growing Media on Yield and Quality of Soilless Cultivated Rose. *Acta Horticulturae*, 697, 133-138.
15. Emami, A. (1996). *Methods of plant analysis*. Soil & Water Research (Institute.928). (in Farsi)
16. Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of technique to measure vesicular - arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489-500.
17. Gholami, A. & Kuchaki, A. (2001). *Mycorhiza in Sustainable Agriculture*. (212 pp). Shahrud University Press.
18. Hazarika, B. N. (2003). Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current Sciences*, 85, 12-25.
19. Jeffries, P. & Barea, J.M. (2001). Arbuscular mycorrhiza: a key component of sustainable plant- soil ecosystems, In: Hock, B. & Vol, I.X. (Eds), *The Mycota: fungal associations*. (pp. 95-113.) New York, Springer.

20. Kapoor, R., Sharma, D. & Bhatnagar, A. K. (2008). Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulturae*, 116,227-239.
21. Karimi, A., Khodaverdiloo, H., Sepehri, M. & Rasouli Sadaghiani, M.H. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. *African Journal of Microbiology Reserch*, 5, 1571-1576.
22. Koch, B.L., Covey, R.P. & Larsen, H.J. (1981). Response of apple seedlings in fumigated soil to phosphorous and vesicular–arbuscular mycorrhiza. *Scientia Horticulturae*, 17, 232-233.
23. Krishna, H., Singh, S.K., Sharma, R.R., KHawale, R.N., Grover, M. & Patel, V.B. (2005). Biochemical changes in micro propagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during ex vitro acclimatization. *Scientia Horticulturae*, 106, 554-564.
24. Linderman, R.G. (1992). Vesicular-arbuscular mycorrhizae & soil microbial interactions. In: Bethlenfalvay, G.J. & Linderman, R.G. (Eds), *Mycorrhizae in Sustainable Agricultura*. (pp. 45-70.) Special Publication.
25. Linderman, R.G. (1994). Role of VAM in biocontrol. In: Pfleger, F.L., Linderman, R.G. (Eds), *Mycorrhizae and Plant Health*. (pp. 1-26). APS Press, St Paul.
26. Lieten, F., Jean-Marie, K. & Georges, B. (1995). Effect of prolonged cold storage on the production capacity of strawberry plants. *Scientia Horticulturae*, 60(3-4), 213-219.
27. Makekzadeh, P., Khara, J. & Farshian, S. (2007). Effect of arbuscular mycorrhiza (*Glomus etunicatum*) on some physiological growth parameters of tomato plant under copper toxicity in solution. *Pakistan Journal of Biology Sciences*, 10, 1326-1330.
28. Marschner, H. & Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. In: A.D. Robson et al. (Eds), *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry*. (pp. 89-102.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
29. Meenakshisundaram, M. & Santhaguru, K. (2011). Studies on associatioin of arbuscular mycorrhizal fungi with *Gloconacetobacter diazotrophicus* and its effect on improvement of Sorghum bicolor(L). *Journal of Current research in Science*, 1, 23-30.
30. Mereti, M., Grigoriadou, K. & Nanos, G. (2002). Micropropagation of the strawberry tree *Arbutus unedo* L. *Scientia Horticulturae*, 93, 143-148.
31. Mohammadi Ghehsareh1, A., Samadi, N. & Borji, H. (2011). Comparison of date-palm wastes and perlite as growth substrates on some tomato growing indexes. *African Journal of Biotechnology*, 10(24), 4871-4878.
32. Morin, F., Fortin, J.A., Hamel, C., Granger, R.L. & Smith, D.L. (1994) Apple rootstock response to vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi in a high phosphorous soil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 578-583.
33. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Journal of Plant Physiology*, 15, 473-497.
34. Ortas, I., Ortakci, D., Kaya, Z., Cinar, A. & Onelge, N. (2002b). Mycorrhizal dependency of sour orange (*Citrus aurantium* L.) In term of phosphorus and zinc nutrition by different levels of phosphorus and zinc application. *Journal of Plant Nutrition*, 25, 1263-1279.
35. Phillips, J.M. & Haymann, D.S. (1970) Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transaction of the British Mycological Society*, 55, 158-161.
36. Preece, J.E. & Sutter, E.G. (1991). Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and the field. In: Debergh P.C., Zimmermann, R.H. (Eds.), *Micropropagation*. (pp. 71-93.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
37. Raiesi, F. & Ghollarata, M. (2006). Interactions between phosphorus availability and an AM fungus (*Glomus intraradices*) and their effects on soil microbial respiration, biomass and enzyme activities in a calcareous soil. *Pedobiologia*, 50, 413-425.
38. Rupanwar, B. S. & Naval, A. M. (2000). Effect of VA-mycorrhizal inoculation on growth of pomegranate Layers. *Journal of Maharashtra Agricultur*, 25(1), 44-46.
39. Ruzic, D.J.V. & Vujovic, T.I. (2008). The effect of cytokinin types and their Concentration on in vitro ,ultiplication of sweet cherry cv. *Scientia Horticulturae*, 35, 12-21.
40. Saif, S.R. (1981). The influence of soil aeration on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhizas: I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of *Eupatorium odoratum* L. inoculated with *Glomus macrocarpus. New Phytology*, 88, 649-659.
41. Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*. Mycorrhizal Symbiosis, 2nd edn. Academic Press, San Diego, CA.
42. Salisbury, F.B. & Ross, C.W. (1995). *Plant Physiology*. (4th ed). Wadswordth Pub. Co. Belmont, California, USA.

43. Syvertsen, J.P. & Graham, J.H. (1984). Influence of vesicular– arbuscular mycorrhiza on the hydraulic conductivity of roots of two *Citrus* rootstocks. *New Phytologist*, 97, 277-284.
44. Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. (2nd ed). Sinauer Assoc. Inc. Pub. Sunderland, Massachusetts, USA.
45. Tehranifar, A., Poostchi, M., Arooei, H. & Nematti, H. (2007). Effects of seven substrates on qualitative and quantitative characteristics of three strawberry cultivars under soilless culture. *Acta Horticulturae*, 761, 485-488.
46. Wada, S. (2005). *Nursery Container Weeds Respons to Modification of Substrate pH, Substrate Particle Size and Applied Nitrogen Form*. Master of Science Thesis. Oregan State University.
47. Wallander, H. (2000) up takes of P from apatite by *Pinus sylvestris* seeding colonization by different ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 218, 249-256.
48. Wang, C., Knill, E., Glik, G. & Defago, G. (2000). Effect of transferrnse 1-aminocyclopropan-1-carboxylic acid (Acc) deaminase genes derivative CHA96 on their growth-promoting and disease suppressive capacities. *Canadian Journal of Microbiology*, 46,888-907.
49. Wu, Q.S. & Xia, R.X. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under wellwatered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163, 417-425.

Iranian Journal of Horticultural Science, Vol. 47, No. 2, Summer 2016

Effect of arbuscular mycorrhiza fungi symbiosis and culture media on establishment and growth of micropropagated MM106 apple rootstock

Zhila Mohammadi[1*], Lotfali Naseri[2] and Mohsen Barin[3]
1, 2, 3. Former M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
(Received: Dec. 7, 2014 - Accepted: Feb. 21, 2015)

ABSTRACT

Tissue culture is one of the common methods for propagation of apple clones. However, low survival and poor growth of these plants, after transplanting, limit the widespread use of this technique. The success rate of this method can be increased by using bioagents such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). In this study, effect of mycorrhizal symbiosis and culture media on growth and establishment were studied in acclimatization stage of micropropagated MM106 plants. This study was carried out in greenhouse conditions as a factorial experiment based on a randomized complete design (RCD) with two factors including four levels of mycorrhiza species (*Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus intradices* + *Glomus mosseae* and control) and three levels of substrates (peat moss, perlite, peat moss + perlit) with four replications. After 15 weeks, some characteristics were measured. Results showed that symbiosis with mycorrhizal fungi specially *Glomus intraradices* could increase plant height, leaf number, roots dry and fresh weight, leaf chlorophyll, Phosphorus, Iron and Zinc levels. Height and fresh weight of roots were increased (1.63 and 1.91 times, respectively) in inoculated plants with *Glomus intraradices* compared to control. Also, the heightest amount of measured characteristics (except leaf area) was obtained in inoculated plants with AMF and peat moss substrate.

Keywords: Apple, glomus mycorrhiza, peat moss, tissue culture.

* Corresponding author E-mail: jilimohamadi136@gmail.com Tel: +98 937 3095628