بررسی میکوفلور بذر سه گونه تاغ

محمد حاجیان* و وحید جهانبخش**

چکیده

به منظور بررسی و شناسایی میکوفلور بذر سه گونه زرد تاغ *Haloxylon ammodendron*، سیاه تاغ *H. aphyllum* و سفید تاغ *H. persicum* در دو منطقه سبزوار و گناباد، نمونه‌های بذور جهت آزمایش جمع آوری گردید و پس از تعیین درصد رطوبت و قوه نامیه آنها، مورد بررسی قرار گرفت. روشهای بررسی میکوفلور براساس روشهای استاندارد I.S.T.A، شامل کشت بذر روی کاغذ صافی مرطوب (Blotter test)، کشت بذر روی محیطهای غذایی آگاردار، کشت بذر در ماسه سترون (Hiltner test) و بررسی اجزاء میکوفلور از طریق تجزیه بذر بود. در بررسیهای انجام شده ۱۹ گونه قارچ متعلق به ۱۵ جنس جداسازی و شناسایی گردید. در میان گونه‌های مورد بررسی جدایه‌های جنسهای *Alternaria*، *Penicillium*، *Fusarium*، *Aspergillus* و *Camarosporium* بیشترین فراوانی را داشتند.

واژه‌های کلیدی - *تاغ، بیماریهای تاغ، میکوفلور بذر تاغ*

مقدمه

مساله کویرزایی معضلی جهانی است. این پدیده عمدتاً در مناطق خشک و نیمه خشک دیده می‌شود. بر اساس گزارشهای موجود ۳۴ میلیون هکتار از اراضی کشور ما را مناطق کویری و بیابانی تشکیل داده است، که از این مقدار سطحی معادل ۱۲ میلیون هکتار در معرض هجوم شنهای روان قرار دارد (۱).

از آن جایی که گونه‌های مختلف تاغ یکی از گیاهان اساسی مورد استفاده در برنامه‌های تثبیت شن می‌باشد و تنها در استان خراسان سطحی بالغ بر نیم میلیون هکتار را می‌پوشاند و با توجه به اهمیت تاغزارها در مناطق کویری و مشکلاتی که در زمینه پژمردگی آنها و پایین بودن قوه نامیه بذر تاغ در خزانه و عرصه وجود دارد، لذا تحقیق ذیل به منظور پی بردن به چگونگی پراکنش، فراوانی میکوفلور بذر تاغ و تعیین درصد آلودگی هر یک از اجزاء بذر، جنین و پوسته به هر یک از قارچها، جهت استفاده از اطلاعات به دست آمده در کنترل عملی خسارت قارچهای بیماری زای بذر تاغ ضروری بود. این مهم، بخشی از اهداف این تحقیق را تشکیل داده است تا بتوان از این طریق برنامه ریزی دقیق و جامعی در نگهداری و حفاظت تاغزارها، با دستیابی به اطلاعات جامع و فراگیری که بیشترین کاربرد را در ایجاد تسهیلات لازم برای انجام تحقیقات زیربنایی بعدی و به خصوص شناخت و بررسی بیماریهای تاغ فراهم نماید، تدوین نمود. لازم به تذکر است که براساس بررسی منابعی که انجام گرفت تاکنون هیچ گونه تحقیقی در زمینه فوق و

* مربی پژوهشی و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام، جهاد سازندگی استان خراسان
** کارشناس گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1377.2.1.6.0]

یا دیگر گیاهان مشابه کویری در ایران و دنیا انجام نگرفته است تا بتواند زمینه ای برای ادامه تحقیقات انجام شده باشد و یا مسیر راکوتاه نماید.

مواد و روشها

روشهای بررسی آلودگی بذور

نمونه‌های تصادفی بذور مورد نیاز برای تحقیق از دو شهرستان سبزوار و گناباد تهیه گردید. نمونهٔ بذور منطقهٔ سبزوار شامل سه گونه *Haloxylon ammodendron (C.A.M) Bge.*، *Haloxylon persicum Bge* و *Haloxylon aphyllum (Minkw.)lijin.* و منطقهٔ گناباد شامل گونه‌های *H. ammodendron* و *H. aphyllum* بود. نمونه‌های بذور هر دو منطقه در زمان رسیدگی بذر مستقیماً از روی گیاهان مزبور جمع آوری شده و برای نگهداری به آزمایشگاه منتقل و برای جلوگیری از فعالیت ساپروفیت ها و فعال شدن بذر، در یخچال (۴°) نگهداری شد. برای اندازه گیری درصد قوهٔ نامیه و میزان رطوبت بذور مورد آزمایش از روشهای استاندارد I.S.T.A.[1] استفاده گردید (۴).

به منظور بررسی و تعیین قارچهایی که توسط بذر تاغ انتقال می‌یابد، از روشهای استاندارد تعیین سلامتی بذور که از سوی I.S.T.A پیشنهاد شده است استفاده گردید و در مواردی که برای تشخیص گونه‌های قارچها و یا اسپورزایی آنها نیاز به استفاده از محیطهای غذایی آگاردار خاص بود از آن محیط ها نیز استفاده به عمل آمد.

روش بررسی آلودگی بذر روی محیطهای غذایی آگاردار

از محیطهای غذایی آگاردار برای کشت بذور، اجزای بذر و یا تشخیص گونه‌های قارچ استفاده گردید. محیطهای کشت مختلفی که برای جداسازی عوامل قارچی در این آزمایشها مورد استفاده قرار گرفت عبارت بود از: محیط عصاره سیب زمینی - دکستروز - آگار (P.D.A.)؛ محیط عصاره سیب زمینی - ساکاروز - آگار (P.S.A.)؛ محیط مالت - نمک - آگار (M.S.A.)؛ محیط ساکاروز- مواد مغذی- آگار (S.N.A.)؛ محیط کلرید پتاسیم و محیط عصاره مالت (M.E.A.). براساس این روش از بذور گونه‌های هر دو منطقه ۴۰۰ عدد بذر به طور تصادفی انتخاب گردید و با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم مادهٔ فعال به مدت یک دقیقه پلشت بری گردید. تعداد ده عدد بذر در تشتکهای پتری حاوی محیط کشت و به فواصل ۲ سانتیمتر از یکدیگر کشت داده شد و در دمای ۱±۲۵ درجهٔ سانتیگراد با تناوب نوری و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شد. بررسی نمونه‌ها از روز پنجم به بعد شروع شد و تا رشد کلنی های قابل تفکیک ادامه یافت (۱۲). سپس هر یک از کلنی ها با ذره بین بینوکولر و بزرگنمائی ×۵۰ مورد بررسی قرار گرفت. مشخصات کلنی ها یادداشت برداری و تعداد بذور آلوده به هر یک از قارچها تعیین گردید.

روش استفاده از کاغذ صافی مرطوب[2]

از این روش برای جداسازی قارچهایی که کلنی آنها در محیط کاغذ صافی مرطوب به خوبی تشکیل شده و رشد می‌کنند استفاده می‌شود. به این منظور در داخل هر تشتک پتری (تحت شرایط سترون) سه لایه کاغذ صافی سترون قرار داده و به هر تشتک پتری ۵ میلی لیتر آب مقطر سترون اضافه شد (۱۲). تعداد چهار صد عدد بذر از گونه‌های تاغ هر یک از مناطق مورد بررسی به صورت تصادفی انتخاب و در هر تشتک پتری ده عدد بذر بدون پلشت بری قرار داده شد. کلیه تشتکهای پتری در شرایط نور و تاریکی با تناوب ۱۲ ساعته نگهداری شد و پس از رشد قارچها، کلنی آنها در زیر ذره بین بینوکولر با بزرگنمایی ×۱۰ مورد بررسی قرار گرفت.

روش کشت بذر در ماسهٔ مرطوب[3]

از این روش به منظور بررسی اثر متقابل بین میزبان و بیمارگر (پاتوژن) استفاده می‌شود. در این روش دانه‌های ماسه به قطر ۳-۲ میلیمتر انتخاب و پس از پلشت بری، جعبه‌های سترون (به ابعاد ۶۵×۴۰ سانتیمتر) با این ماسه‌ها پر شد. سپس ۴۰۰ عدد

۱- International Seed Testing Association
۲-Blotter method
۳- Hiltner test

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1377.2.1.6.0]

جدول ۱- درصد آلودگی جنین سه گونه تاغ به قارچ

گونه قارچ	سیاه تاغ گناباد	زرد تاغ گناباد	سیاه تاغ سبزوار	زرد تاغ سبزوار	سفید تاغ سبزوار
Alternaria alternata	بدون آلودگی	۵	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۱۶
Camarosporium sp	بدون آلودگی	۱۰	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۲
Fusarium proliferatum	بدون آلودگی	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۶۹	بدون آلودگی

جدول ۲- درصد آلودگی پوسته بذر سه گونه تاغ به قارچ

گونه قارچ	سیاه تاغ گناباد	زرد تاغ گناباد	سیاه تاغ سبزوار	زرد تاغ سبزوار	سفید تاغ سبزوار
Aspergillus niger	۱	۲	۱	۳	۱
Aspergillus sp	بدون آلودگی	۲	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۲۱
Alternaria alternata	بدون آلودگی	۲۰	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۳۵
Camarosporium sp	۱۹	۵۷	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۸
Cladosporium cladsporoides	۱	بدون آلودگی	۱	بدون آلودگی	بدون آلودگی
Embellisia sp	بدون آلودگی	۲۵	بدون آلودگی	بدون آلودگی	بدون آلودگی
Fusarium proliferatum	بدون آلودگی	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۷۷	بدون آلودگی
Penicillium sp	۳	۱۵	بدون آلودگی	۳	بدون آلودگی
Ulocladium chartarum	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۲	بدون آلودگی	بدون آلودگی

بذر از هر گونه، به فواصل یک سانتیمتر روی ردیف و ۳سانتیمتر بین ردیف در جعبه‌های فوق کاشته شد و روی آنها با یک لایه ماسهٔ سترون به ضخامت یک سانتیمتر پوشانیده شد. کلیه جعبه‌ها در حرارت ۲۸-۲۶ درجهٔ سانتیگراد و شرایط نوری و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شد و پس از ۵ روز گیاهچه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در طول دورهٔ انکوباسیون جعبه‌ها مرتباً آبیاری شده و سطح ماسه‌ها دائماً خیس و مرطوب نگهداشته شد تا ظهور علائم احتمالی عوامل بیماریزای همراه بذر روی گیاهچه بهتر صورت گیرد.

بررسی آلودگیهای داخلی بذر

به منظور تعیین موقعیت قارچهای همراه اجزای مختلف بذر تاغ، نسبت به جداسازی پوسته و جنین از یکدیگر اقدام شد و هر یک از این اجزا در محیطهای غذایی .M.S.A، .M.E.A و P.D.A. کشت گردید. لازم به تذکر است که بذر تاغ فاقد آندوسپرم می‌باشد (۲). در این روش ابتدا بالپوشهای بذور حذف شد سپس به مدت یک دقیقه با هیپوکلرید سدیم یک درصد پلشت بری گردید. آنگاه بذور به مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر سترون نگهداری شد. پس از این مدت پوسته بذر به‌راحتی از جنین جداشده، هر یک از اجزا بذر جداگانه بر روی محیط های غذایی پیش گفته کشت و در حرارت ۱±۲۲ درجهٔ سانتیگراد نگهداری و پس از رشد کلنی‌ها جهت خالص سازی تک اسپور گردید. اجزاء میکوفلور جدا شده از پوسته و جنین بذرگونه‌های مختلف در جداول ۱ و ۲ آمده است.

تشخیص

براساس مشاهدات اولیه کلنی ها و تفاوت ظاهری آنها، جداسازی ابتدایی بین جدایه‌ها صورت گرفت و پس از

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1377.2.1.6.0]

جدول ۳- درصد فراوانی گونه‌های قارچ جدا شده از سه گونه بذر تاغ

میکوفلوربذر	سیاه تاغ گناباد	زرد تاغ گناباد	سیاه تاغ سبزوار	زرد تاغ سبزوار	سفید تاغ سبزوار
Aspergillus niger	۲۰	۹	۱۵	۶	۱۲
Aspergillus sp	۵	۲/۵	۲/۵	<۱	۹
Alternaria alternata	۷	۱۷/۵	۱۶	۳	۳۰
Ascochyta sp.	بدون آلودگی	<۱	بدون آلودگی	<۱	۱
Cephalosporium sp.	۵	۱	<۱	<۱	بدون آلودگی
Cladospoirum herbarum	۲	۱	۳	۱	<۱
Cladosporium cladosporoides	۲	۱	۱۰	۴	۳
Camarosporium sp.	۱۹	۲۷	۱۹	۸	۲۳
Chaetomium globosum	۵/۵	۱۶	۶	۱۲	۲
Drechslera bicolor	<۱	بدون آلودگی	۳	<۱	بدون آلودگی
Embellisia sp.	بدون آلودگی	۱	۱	بدون آلودگی	<۱
Fusarium culmorum	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۱	۱	۱
Fusarium proliferatum	۱	۳	۵	۴۵	۳
Fusarium semitectum	بدون آلودگی	بدون آلودگی	<۱	<۱	۱
Penicillium sp.	۱۹	۱۰	<۱	۴	۱
Phoma hedericola	۲	<۱	۱	۲	۱
Rhizopus sp.	۲	۲	۱	۱/۵	<۱
Trichothecium roseum	بدون آلودگی	بدون آلودگی	بدون آلودگی	۱	بدون آلودگی
Ulocladium chartarum	۷	۴	۹	۶	۸

شناسایی آنها در حد جنس، ۱۴۳ جدایه خالص و تک اسپور شد. این جدایه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد درون لوله‌های آزمایش محتوی P.D.A. نگهداری شد. جهت تشخیص نهایی، جدایه‌های متعلق به یک جنس دسته بندی شده و با توجه به منابع موجود و در حد امکان، محیطهای کشت اختصاصی جهت تعیین گونه‌های هر جنس تهیه گردید. تشخیص گونه‌ها براساس نوشته‌های محققین مختلف (۳، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶) انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از آزمایشهای اندازه گیری درصد جوانه زنی بذر و اندازه گیری میزان رطوبت بذر، نشان می‌دهد که گونه سیاه تاغ سبزوار با ۹۲٪ جوانه زنی و درصد رطوبت ۱۰/۶۵٪ در بین گونه‌های تاغ دو منطقه دارای قوه نامیه و مقدار رطوبت بیشتری می‌باشد. همچنین در بررسیهای انجام شده ۱۹ گونه قارچ متعلق به ۱۵ جنس شناسایی شد. اما علیرغم کثرت و تنوع جنس و گونه‌های قارچهای جدا شده از بذر تاغ، تنها تعداد کمی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1377.2.1.6.0]

از آنها از فراوانی و درصد آلودگی بالایی در روی بذر برخوردار بودند (جدول ۳). قارچهای جدا شده عبارت بود از:
Fusarium sp, Alternaria alternata, Camarosporium sp., Chaetomium globosum, Aspergillus niger, Penicillium sp., Ulocladium chartarum.

در این بررسی *Camarosporium sp.* بیشترین درصد فراوانی را روی گونه‌های تاغ داشته و حدود ۱۸/۶ درصد از کل قارچهای جدا شده را به خود اختصاص داده است. این گونه از مهمترین قارچهای بیماریزای تاغ در خزانه بوده که در شوروی از روی سیاه تاغ گزارش شده است (۱۰) این قارچ همچنین از پوسته و جنین بذر نیز جدا شده‌است (جداول ۱ و ۲). در میان گونه‌های مورد بررسی، گونه زرد تاغ گناباد بیشترین درصد آلودگی را به این قارچ را نشان داده است (جدول ۳). گونه *Fusarium proliferatum* هم در میکوفلور کلی بذر و هم از پوسته و جنین به وفور جدا گردید (جدول ۱ و ۲) که بخش مهمی از قارچهای جداشده از بذر تاغ را تشکیل می‌دهد. در این بین گونه زرد تاغ سبزوار با فراوانی ۴۵٪، دارای آلودگی قابل توجهی می‌باشد (جدول ۳). گونه *Alternaria alternata* از بذر کلیه گونه‌های مورد بررسی جداگریده است و درصد آلودگی بذور به آن نسبتاً زیاد (۱۵/۳ درصد) بوده است (جدول ۳). در میان سایر قارچهای جدا شده از بذر، تنها گونه‌هایی از *Aspergillus*، *Chaetomium* و *Penicillium* از درصد آلودگی بالایی برخوردار بوده که غالباً از آنها به عنوان گونه‌های غیر بیماریزا نامبرده شده است (جدول ۳). از بررسی میکوفلور بذور گونه‌های مختلف تاغ چنین استنباط می‌شود که شبه گونه‌هایی از جنس *Fusarium* و همچنین گونه‌های *Alternaria alternata* و *Camarosporium sp.* از فراوانی و شیوع بسیار زیادی در روی بذور گونه‌های تاغ برخوردار بوده و درصد انتقال این قارچها از طریق بذر تاغ به مراتب بیشتر از سایر قارچهای جدا شده می‌باشد (جدول ۳). لذا با توجه به این نکته که اهمیت خاصی به نقش احتمالی این قارچها در سلامتی بذر و انتقال بیماریهای قارچی در روی بذور تاغ داده می‌شود و نیز با توجه به سابقه و ماهیت بیماریزایی برخی از این گونه‌ها در روی نباتات زراعی و با اذعان به وجود ابهام در مورد نقش برخی از گونه‌های مذکور در ایجاد بیماری در روی تاغ، پرداختن به بررسی و مطالعه پیرامون رابطه بیماریزایی و غیر بیماریزایی این قارچها در روی تاغ ضروری می‌نماید. در مورد بقیه قارچهای جدا شده، با توجه به درصد ناچیز آلودگی بذور به آنها (غالباً کمتر از یک درصد)، احتمال این که تأثیر مهمی در ایجاد بیماریهای قارچی بذر زاد تاغ داشته باشند بسیار ضعیف بوده و معمولاً این قارچها به عنوان قارچهای ساپروفیت بذر شناخته شده‌اند.

در خاتمه، هر چند اختلاف فلور قارچی بذر گونه‌های مختلف تاغ تا حد زیادی تحت تأثیر گونه گیاه می‌باشد، ولی اختلاف فاحشی در میان فلور قارچی بذر گونه‌های مورد بررسی مشاهده نگردید، که می‌تواند ناشی از شرایط محیطی رویشگاههای این گیاه باشد.

منابع مورد استفاده

۱- خلد برین، ع. ۱۳۴۸. کاشت نهال تاغ. نشریه شماره ۲۲ دفتر فنی تثبیت شن و بیابان زدایی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ایران. ۴۵ صفحه.

۲- مبین، ص. ۱۳۵۸. رستنیهای ایران، فلور گیاهان آوندی، جلد دوم ۴۵۵ صفحه.

3- Ames, L.M. 1969. A Monograph of the Chaetomiaceae. Verlag Von J. Cramer, 65p.

4- Anonymous. 1978. International Rules for Seed Testing. Proc. Int. Seed Testing Assocation. Seed Sci. Technol. 4(3): 117

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1377.2.1.6.0]

5- Barnett, H.L and B. B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess. Publishing Co. 3rd. ed., 241p.

6- Boerema, G.H. and G.J. Bollen. 1975. Conidiogenesis and conidial septation as differentiating criteria between *Phoma* amd *Ascochyta.* Prersonia 8:111-144.

7- Booth, C. 1971. The Genus Fusarium. Common Wealth. Mycol. Inst. Kew. Surrey, England, 273 p.

8- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Common Wealth. Mycol. Inst. England, 408 p.

9- Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Common Wealth. Mycol. Inst. England, 608 p.

10- Kryukova, E.A. 1980. Diseases of *Haloxylon aphyllum* in nurseries and pasture protection stands. Lesnie-Khozyaistov. No. 6:53-55.

11- Malone, J.P. and A.E. Muskett. 1964. Description of 77 fungus species. Proc. Int. Seed Test. Association. Vol. 29. No.2.

12- Neergaard, P. 1977. Seed Pathology, Vol. 1 and 2, The Mcmillan Press Ltd. 1187P.

13- Nelson, P.E., T.A. Toussoun, and W.F.O. Marasas. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park. 193p.

14- Noble, M. and M.J. Richardson. 1968. An annotated list of seed borne diseases. Proc. Int. Seed Test. Assoc. 33(1): 119

15- Putterrill, K.M. 1954. Some of graminicolous species of *Helminthosporium* and *Curvularia* occurring in S.Africa. Bothalia. 6:347-378.

16- Sutton, B. 1980. The *Coleomycetes*. Common Wealth. Mycol. Ins. Kew. Surrey, England, 696p.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1377.2.1.6.0]