



## جداسازی و شناسایی زیگومیست های خاکزی از خاکهای مناطق زراعی استان مازندران و گلستان

زهرا ده بوید<sup>1</sup>، محمدعلی تاجیک قنبری<sup>2</sup>، حشمت الله رحیمیان<sup>3</sup>، مهدی ارزنلو<sup>4</sup>، احمد اصغرزاده<sup>5</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

2- عضو هیئت علمی گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

3- عضو هیئت علمی گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

4- عضو هیئت علمی گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه تبریز

5- تهران موسسه تحقیقات منابع آب و خاک

[Zahra.dehbovid@gmail.com](mailto:Zahra.dehbovid@gmail.com)

### چکیده:

خاکهای زراعی حاوی میکروارگانیسمهای زیادی هستند که قارچها قسمت اعظمی از آنها تشکیل میدهند. رده زیگومیستها از جمله قارچهای خاکزی میباشد که بعضی از جنسهای آن به لحاظ بیوشیمیایی و همزیستی حائز اهمیت است. جداسازی و شناسایی با نمونه برداری از عمق 10 سانتیمتری خاکهای زراعی استان مازندران و گلستان انجام و سوسپانسیون خاکهای مختلف در محیط حاوی آنتی بیوتیکهای رزبنگال و استرپتوماپسین کشت گردید. بر اساس نتایج 50 جدایه متعلق به 4 جنس *Syncephalastrum* و *Absidia*، *Cunninghamella*، *Actinomucor* شناسایی شد. وجود تفاوتهای مورفولوژیکی بیانگر تنوع این قارچها میباشد. در این بررسی جنس *Syncephalastrum* برای اولین بار از خاکهای ایران گزارش میشود.

کلمات کلیدی: زیگومیست، فلور خاک، قارچهای خاکزی، گلستان، مازندران

### مقدمه:

خاک یک اکوسیستم پویا و متشکل از اجزا زنده و غیرزنده است. ارگانیسم های زنده خاک به دو گروه مجزاشامل میکروفلور و فون تقسیم می شوند. میکروفلور شامل گروه متنوعی از ارگانیسم هاست که عمدتاً باچشم غیر مسلح قابل رویت نیستند و شامل باکتری ها، قارچ ها، پرتوزئرها، جلبک ها و اکتینومایست ها می باشند (علیخانی ومحمدی، 1386). قارچها گروه بزرگی از موجودات زنده را تشکیل می دهند که در انواع محیط ها اعم از آب، خاک و هوا پراکنده اند (باب احوائجی، 1387) از قارچ های ذره بینی خاک، برخی به صورت پارازیت و مولد امراض وانواع زیادی به صورت ساپروفیت بر روی بقایای مواد آلی زندگی و از آنها تغذیه و در نهایت باعث تجزیه این مواد می شوند. زیگومیست ها قارچهایی هستند که با هیف بدون دیواره عرضی وتشکیل زیگوسپور توصیف می شوند. این قارچهای رشته ای بصورت ساپروفیت در خاک و مواد آلی در حال پوسیدن به وفور یافت می شوند. چندین گونه از راسته های *Entomophthorales* و *Mucorales* بعنوان عامل بیماری قارچی موسوم به زیگومیکوزیز شناخته شده اند (Galgoczy, 2005). این رده دارای 10 راسته، 32 خانواده، 124 جنس و 870 گونه می باشد (Kirk et al. 2001). راسته *Mucorales* بسترین گونه را در بین راسته های مربوط به رده *Zygomycetes* دارد. اعضاء این راسته قسمت اعظمی از جمعیت میکروارگانیسمهای خاک، بقایای آلی وفضولات حیوانات وهوا را تشکیل می دهند، زیرا سریعترین



رشد را در بین قارچها دارا هستند. بیشتر جنس های این راسته ساپروفیت هستند، ولی گاهی جنس هایی از این راسته می توانند خسارت هایی را در محصولات کشاورزی وارد نمایند (Hesseltine & Ellis 1973). یا باعث بیماری در انسان، حیوانات و نیز قارچ های خوراکی شوند (Rinaldi 1989; Hoog & Guarro 1995). از فواید این قارچها می توان به استفاده صنعتی آنها در تولید فراورده های شیمیایی و غذایی اشاره نمود (Hesseltine, 1991).

### مواد و روش ها:

نمونه برداری:

جهت جداسازی قارچهای مربوطه نمونه برداری از عمق 10 سانتی متری خاک های مناطق زراعی انجام شد. نمونه ها با ذکر مشخصات محل بطور جداگانه در کیسه های مجزا به آزمایشگاه برای بررسی انتقال یافت.

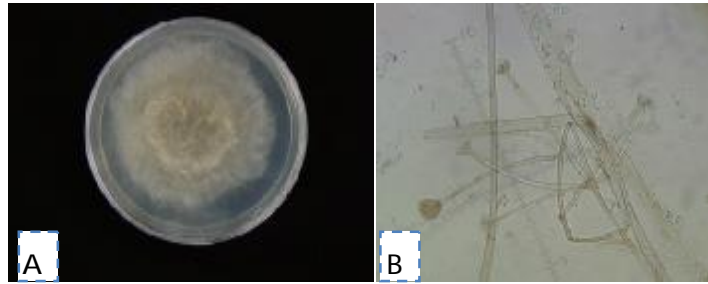
استخراج قارچها از خاک:

به منظور استخراج قارچهای موکورال از نمونه خاکهای مورد مطالعه روش تهیه سوسپانسیون خاک با اعمال تغییراتی مورد استفاده قرار گرفت (Dihingra & Sinclair, 1987). رقت های 1:5000 از هر یک از نمونه خاکها تهیه گردید. یک میلی لیتر از سوسپانسیون نهایی به پتری های استریل منتقل و کاملاً در کف پتری پخش شد. به هر پتری حدود 20 میلی لیتر از محیط ترکیبی رزبنگال حاوی 17 گرم آگار، 5/5 گرم  $K_2HPO_4$ ، 5/5 گرم  $KH_2PO_4$ ، 5/5 گرم  $MgSO_4$ ، 5/5 گرم پپتون، 10 گرم دکستروز، 5/5 گرم عصاره مخمر 05/، رزبنگال و 03/ گرم سولفات استرپتومایسین اضافه گردید. از آنجا که سولفات استرپتومایسین در شرایط اتوکلاو غیرفعال می شود. از پودر خالص در آب مقطر استریل استوک تهیه و پس از اتوکلاو و بلافاصله قبل از انتقال محیط کشت به پتری ها اضافه شد. پتری ها سپس در دمای 23 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از 3 روز کلنی زیگومیستها روی محیط ظاهر شد. قارچها پس از بررسی به لوله حاوی محیط آگار-دکستروز-سیب زمینی منتقل و پس از پر کردن لوله در یخچال نگهداری شدند. جدایه های متعلق به قارچهای مختلف پس از تهیه پرپارسین میکروسکوپی و بررسی اندام بارده و ساختمانهای مرتبط با آنها مورد شناسایی قرار گرفتند. قارچها در سطح جنس شناسایی شدند.

### نتایج و بحث:

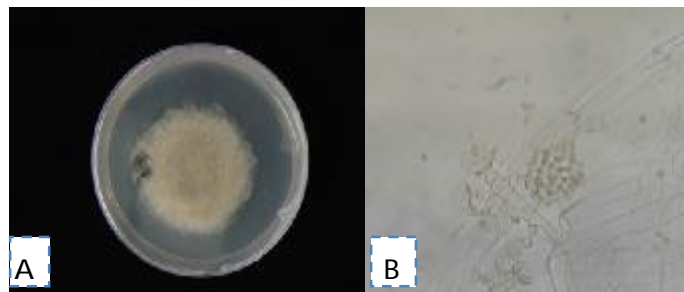
در این تحقیق ایزوله از خاکهای زراعی استان مازنداران و گلستان جداسازی و با استفاده از کلیدهای موجود شناسایی شدند و در 4 جنس از زیگومیست ها جای گرفتند. شرح این جنس ها به قرار زیر است:

*Absidia sp.*: کلنی بعد از گذشت 7 روز پتری را پر میکنند. ابتدا سفید رنگ و سپس از مرکز کلنی متمایل به خاکستری میشوند (شکل A-1). در این جنس اسپورانژیوفور صاف و در اکثر موارد منشعب (شکل B-1). دیواره اسپورانژ بعد از کامل شدن از بین می رود و درای آپوفیز کلوپلا و ریزوئید می باشد.



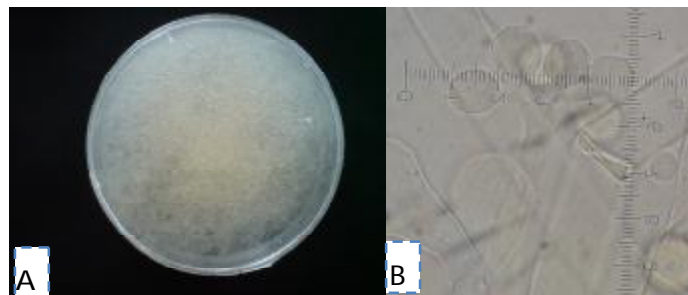
شکل 1: *Absidia*: A. کلنی 5روز از رشد. B. انشعابات اسپوروفورها و اسپورانژ انتهایی

2) *Actinomucor sp*: کلنی این قارچ پنبه ای و بسیار سریع رشد در عرض 4روز پتری را پر میکند و کرم تا نخودی رنگ می باشد (شکل 2-A). اسپوروفورها معمولا به یک اسپورانژ بزرگ منتهی می شوند که در زیر آن، دسته ای از انشعابات کوتاه چرخه ای با آرایش دسته ای وجود دارد که به اسپورانژیوم کوچک منتهی می شود (شکل 2-B) کلامیدوسپور در این قارچ دیده شد.



شکل 2: *Actinomucor*: A. کلنی 3روز از رشد. B. انشعابات اسپورانژ و آزاد شدن اسپورانژیوسپور

3) *Cunninghamella sp*: کلنی این قارچ رشد هوایی زیادی دارد و ظرف 6-7 روز پتری را پر می کند. در ابتدا سفید رنگ است که بعد از مدتی از مرکز کلنی متمایل به خاکستری تا قهوه ای می شود. اسپوروفورها دارای وزیکول هستند و یکسری پایک هایی در سطح دارند که اسپورانژیولها بر روی آن تشکیل می شود که اشکال کروی و بیضوی هستند



شکل 3: *Cunninghamella*: A. کلنی 5روزه. B. وزیکول دارای اسپورانژیول واقع بر پایک ها



*Syncephalastrum sp*(4): کلنی این قارچ در عرض 7 روز پتری را پر می کند. از نظر ظاهری کلنی بسیار مشابه با *Rhizopus* میباشد. در ابتدا روشن و سفید رنگ بعد از مدتی از مرکز متمایل به خاکستری تیره می شود. این جنس دارای وزیکول می باشد که مرواسپرانزها بر روی آن تشکیل می شوند که در این بررسی تمامی جنسها دارای مرواسپرانز چند سلولی بودند. که این ایزوله برای اولین بار از ایران گزارش می شود.



شکل 4. *Syncephalastrum* A کلنی 3 روزه، B. انشعابات اسپوروفورها

مشخصات ارائه شده از جنس های نامبرده به ترتیب با توصیفات هلستین ووالیس (Hesseltine & Ellis 1964) ، بنجامین وهلستین (Benjamin&Hesseltin,1957)، زنگ وچن (Zheng & Chen,2001)، اسخیپر (Schipper, 1976) و در نهایت *Syncephalastrum* توسط (watanabe,1986) مطابقت دارد. در این بررسی بیشترین جنس بدست آمده از خاکهای در استان متعلق به جنس *Absidia* از راسته موکورال بود. Egorova, L. N. در گزارش کرد که اکثریت زیگومیست های خاکزی روسیه به دو راسته *Mortierellales* و *Mucorales* تعلق داشتند در حالیکه در بررسی حاضر و گزارش زنگنه در سال 1384 هیچ ایزوله ای از راسته *Mortierellales* از خاک های مورد بررسی جداسازی نشد که احتمالاً مؤید تأثیر اقلیم بر فعالیت این موجودات در خاک دارد.

منابع:

1. علیخانی ع و محمدی ل، 1386، شناسایی وجداسازی قارچهای خاکزی، (ترجمه)، انتشارات جهاد دانشگاهی شعبه واحد تهران.
2. Egorova, L. N. 2009. soil zygomycetes (*mucorales*, *mortierellales*) of coniferous forests of the russian far east. *mikologiya i fitopatologiya* 43:292-298
3. galgóczy l, 2005. molecular characterization of opportunistic pathogenic zygomycetes. *acta biologica szegediensis* 49(3-4):1-7
4. Hesseltine C.W., 1991. zygomycetes in food fermentations. *mycologist* 5:162-169
5. Hesseltine C.W., Ellis J.J. 1973. *mucorales*. in: Ainsworth G.C., Sparrow F.K., Sussman A.F., eds. *The Fungi*. vol. IVB. New York: Academic Press. p 187-217
6. Kibatova A., Vanova M. and Prasil K., 1998. contribution to the biodiversity of soil microfungi of the Sumava Mts. *Silva Gabreta* 6: 23-34
7. Kirk P.M., Cannon J.C., David J., Stalpers J. 2001. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 9th ed. CAB International, Wallingford, UK.
8. Schipper M.A.A. 1978. on certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. *stud. mycol* 17: 1-52



دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران  
تبریز، 12 الی 14 شهریور 1390  
(بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک)

9. schüßler a., d. schwarzott and c. walker. 2001. a new fungal phylum, the glomeromycota: phylogeny and evolution. mycol. res. 105: 1413-1421.
10. zheng r.y. and chen g.q. 2001. a monograph of *cunninghamella*. mycotaxon 80: 1-75.