

بررسی میکوفلور بذر کلزا در استان فارس

طاهره بصیرنیا^۱

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۷

چکیده

به منظور بررسی وضعیت آلودگی محموله های بذری کلزای برداشتی نسبت به قارچ های همراه با بذر، از بذرهای کلزا مناطق مختلف استان فارس شامل سعادت شهر، زرقان، ارسنجان، فیروکارزین، بیضا و ظفرآباد نمونه برداری انجام گرفت و به آزمایشگاه منتقل شد. به منظور تعیین قوه نامیه بذرهای مورد آزمایش، بر اساس روشهای موسسه بین المللی مطالعات بذر (I.S.T.A.) عمل شد. برای جداسازی قارچ های همراه بذر از محیط های کشت PDA و WA استفاده شد. بذرهای پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۰.۱٪ به مدت ۲/۵ و ۵ دقیقه در محیط های کشت قرار داده شده و در دمای 25 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. شمارش و جداسازی قارچها پس از ۴ روز شروع و تا ۱۵ روز ادامه داشت. قارچ های جدا شده با توجه به مشخصات مورفولوژیکی و کلیدهای شناسایی، تشخیص داده شدند. این قارچها متعلق به جنس های *Aspergillus* و *Botrytis sp.*، *Phoma sp.*، *Rhizoctonia sp.*، *Cladosporium sp.*، *Fusarium sp.*، *Alternaria sp.*، *Penicillium sp.* و *Rhizopus sp.* بودند. گونه های قارچ *Aspergillus sp.* نسبت به سایر قارچها از فراوانی بیشتری (۲۰-۴۰ درصد) برخوردار بودند. آگاهی از آلودگی بذرها و شدت این آلودگی در مناطق مختلف می تواند جهت تولید بذرهای سالم و عاری از آلودگی مفید باشد.

واژه های کلیدی: کلزا، بذر، قارچ، قوه نامیه، فارس.

مقدمه:

کلزا در زبانهای انگلیسی به نامهای Colza, Rapeseed و Raps شهرت دارد. کلزای روغنی مهمترین گونه زراعی جنس براسیکا می باشد. کلزا با نام علمی *Brassica napus* چند سالیست که وارد ایران شده و در بین دانه های روغنی به علت داشتن مزایای زیاد بسیار مورد توجه کشاورزان قرار گرفته است. ویژگیهای خاص گیاه کلزا و سازگاری آن با شرایط مختلف آب و هوایی اهمیت این محصول را بیشتر نموده و به عنوان نقطه امیدی جهت تامین روغن خوراکی مورد نیاز کشور به شمار آمده است. از عوامل محدود کننده کشت کلزا بیماری هایی است که ممکن است در مراحل مختلف کشت، کلزا را آلوده می نمایند. این بیماریها از طریق خاک، بذر، هوا و نیز بقایای گیاهی آلوده منتشر شود. از جمله این بیماریها می توان به ساق سیاه، پوسیدگی اسکروتینیایی، لکه موجی، سفیدک سطحی، سفیدک داخلی و مرگ گیاهچه اشاره کرد. تعدادی از این بیماریها می توانند بذر را آلوده کنند و توسط بذر انتشار پیدا کنند (Shirani Raad and Dehshiri, 2002). بذر همچنین ناقل غیر مستقیم عوامل بیماریزایی است که به هنگام بذر پاشی و مهیا شدن شرایط مطلوب محیطی انتقال می یابند. علاوه بر میکروارگانیسم های بیماریزای گیاهی که بر روی بذرها یافت می شوند، گروهی از میکروارگانیسم ها نیز هستند که باعث کاهش کیفیت بذر می شوند و یا با تولید مواد سمی در انسان و حیواناتی که از این بذرها مصرف می کنند باعث مسمومیت می شوند. برخی از این میکروارگانیسم ها از جمله گونه های قارچ اسپرژیلوس با تولید توکسین های بسیار خطرناک باعث عوارض مختلفی در کوتاه مدت و دراز مدت در انسان و دام می شوند. درو کردن و هوا خشک نمودن محصولات بذری، آنها را در معرض تماس با ضایعات برگی آلوده و خاک زیر محصول قرار می دهد. علاوه بر این تعدادی از قارچ های همراه بذر مانند گونه های مختلف اسپرژیلوس باعث کاهش کیفیت بذرها شده و میزان پروتئین و هیدرات کربن بذر را کاهش می دهد (Szopinska et al., 2007). بذر کلزا به صورت سطحی و داخلی به قارچ های مختلفی آلوده است که تعدادی از آنها تولید کننده توکسین های خطرناک است و برای انسان و سایر مصرف کننده ها مضر و خطرناک است. بذر کلزا در مزرعه و بعد از برداشت در معرض آلودگی این قارچها قرار دارد. قارچ های *Alternaria sp.*, *cladosporium sp.*, *Botrytis sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* و *Fusarium sp.* از نمونه های مختلف جدا سازی شده است، همچنین توکسین های Aflatoxin و Ochratoxin A در این بذرها ردیابی شدند. بیشتر آلودگی ها سطحی بوده و آلودگی داخلی بذر میزان کمتری است. بعضی از این قارچها مانند *Alternaria sp.* بیماریزا بوده و بذرها را آلوده منبع اصلی آلودگی در مزرعه هستند (Brazauskienė et al., 2006). تحقیقات مختلف نشان می دهد که محصول کلزا بالقوه مستعد برای آلوده شدن به متابولیت های ثانویه مانند افلاتوکسین های ترشح شده توسط گونه های قارچ اسپرژیلوس نظیر *A. parasiticus* و *A. flavus* می باشد (Vinas et al., 1994).

آسیب شناسان در طول سالیان متمادی نگرانی خود را از انتقال آسان عوامل بیماریزای بذرزاد در جریان تجارت ملی و بین المللی بذر ابراز داشته اند (Neergaard, 1981). علم بیماری شناسی بذر به تشخیص و کنترل بیماریهای بذرزاد می پردازد. در این رهگذر، برخورداری از آگاهی کامل نسبت به ویژگیهای زیست شناختی عوامل بیماریزا امری ضروری است (Maude, 1996).

در سالهای گذشته چندین تحقیق روی بذرها ی گیاهان زراعی از جمله گندم، کنجد و ذرت انجام شده است (Fasihani and Shiravani, 2000; Basirnia and Banihashemi, 2004). اما در مورد کلزا تا کنون چنین تحقیقی در ایران صورت نگرفته است. پژوهش در زمینه خصوصیات اپیدمیولوژیکی بیماریهای بذرزاد و ویژگیهای عوامل این بیماریها توسط دانشمندان در دانشگاهها، ایستگاههای تحقیقاتی، سازمانهای مشاوره و ترویج و شرکتهای خصوصی صورت می پذیرد. رشد تحقیقات در این زمینه، مرهون این باور روبه گسترش است که بیماریهای انتقال یافته توسط ارگانیسم های بذرزاد، اغلب موجب وارد آمدن خسارات جزئی یا کلی به محصول می گردند.

مواد و روش‌ها:

جمع آوری نمونه

به منظور بررسی میکوفلور بذر کلزا در خرداد و تیرماه ۱۳۸۷ بذرهای از مزارع و انبارهای ذخیره سازی کلزا به صورت تصادفی و از مناطق مختلف انتخاب و جمع آوری گردید. بذرهای مورد استفاده در این تحقیق متعلق به مناطق سعادت شهر (Sa)، زرقان (Zr)، رامجرد (Ra)، ارسنجان (Ar)، قیرو کارزین (Gh)، بیضا (Bi) و ظفر آباد (Za) بود.

بررسی میکوفلور بذر

برای جداسازی و شناسایی قارچهای همراه بذر، از محیط کشت‌های آگاردار شامل Potato Dextrose Agar (PDA)، Water Agar (WA) و Potato Carrot Agar (PCA) استفاده شد. جهت جلوگیری از رشد باکتری‌ها به محیط کشت اسید لاکتیک ۵۰٪ اضافه گردید. پس از تهیه محیط‌های کشت، ۱۰۰ عدد بذر از هر نمونه بطور تصادفی انتخاب و با هیپوکلریت سدیم ۱٪ در دو تیمار ۲/۵ و ۵ دقیقه ضدعفونی شده و سپس سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذرهای ضد عفونی شده در ظروف حاوی محیط کشت (۲۰ بذر در هر پتری) قرار داده شدند. ظروف کشت حاوی بذرهای در انکوباتور با دمای 25 ± 2 درجه سانتی گراد گذاشته شده و بررسی و یادداشت برداری قارچ‌های رشد یافته از ۴ تا ۱۵ روز پس از آن انجام شده و تعداد بذرهای آلوده، نوع و تعداد قارچ‌های رشد یافته شمارش شده و درصد آلودگی بذرها محاسبه شد. صد عدد بذر هم از هر نمونه بدون مراحل ضدعفونی و فقط پس از شستشو با آب مقطر استریل در محیط‌های کشت قرار داده شده و مراحل ذکر شده تکرار شد.

شناسایی قارچهای جداشده

قارچ‌های رشد یافته در اطراف بذرهای ابتدا به محیط‌های کشت PDA مجزا انتقال داده شده و پس از خالص سازی جهت شناسایی به محیط‌های کشت PDA، WA و PCA انتقال داده شدند و باتوجه به مشخصات مورفولوژیکی شامل رنگ پرگنه، خصوصیات ریسه، نوع اندام باردهی، شکل و رنگ اسپورها و با کمک کلیدهای شناسایی موجود، جنس‌های این قارچ‌ها تشخیص داده شدند (Barnet and Hunter, 1998).

نتایج و بحث:

در این بررسی قارچ‌های زیر از بذر کلزا جداسازی، خالص و شناسایی شدند: *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Dactyloarthritis* sp., *Botrytis* sp., *Phoma* sp., *Rhizoctonia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. و *Rhizopus* sp. (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱: قارچ‌های جداشده و درصد آلودگی بذرهای کلزا از مناطق مختلف استان فارس (۲/۵ دقیقه ضدعفونی)

نمونه	قارچ‌ها (جنس)	در صد آلودگی%
Ar ارسنجان	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.	۴۵
Bi بیضا	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.	۴۲
Gh قیرو کارزین	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.	۴۰
Ra رامجرد	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.	۲۵
Sa سعادت شهر	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.	۴۹
Za ظفرآباد	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp.	۶۲
Zr زرقان	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.	۴۰

بررسی توانایی آنتاگونیستی قارچ‌های اندوفیت ریشه و گونه‌های تریکودرما بر ...

جدول ۲: قارچ‌های جدا شده و درصد آلودگی بذرهاى کلزا از مناطق مختلف استان فارس (۵ دقیقه ضد عفونی)

نمونه	قارچ‌ها (جنس)	درصد آلودگی %
Ar ارسنجان	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.	۱۸
Bi بیضا	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Botrytis</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.	۲۶
Gh قیرو کارزین	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp.	۲۱
Ra رامجرد	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Dactyloarthrinium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.	۱۸
Sa سعادت شهر	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> , <i>Cladosporium</i> sp.	۱۳
Za ظفرآباد	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.	۵۷
Zr زرقان	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Alternaria</i> sp.	۲۲

درصد آلودگی بذرها به قارچ‌های ذکر شده متفاوت بود (جدول ۳ و ۴). از میان قارچ‌های جدا شده بیشترین درصد آلودگی مربوط به گونه‌های مختلف آسپرژیلوس بود که در تیمارهای مختلف ۲/۵ و ۵ دقیقه ای ضد عفونی این میزان به ترتیب ۴۰ و ۲۰ درصد بود. تعدادی از قارچ‌های شناسایی شده روی کلزا بیماری‌زا هستند که می‌توان به قارچ‌های *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. و *Phoma* sp. اشاره کرد که در اغلب نمونه یافت شد. آلودگی به *Cladosporium* sp. در نمونه‌های مختلف بین ۲ تا ۱۳ درصد بود و بیشترین آلودگی در نمونه‌های ارسنجان و رامجرد مشاهده شد. میزان آلودگی به *Alternaria* sp. نیز در نمونه‌ها ۸-۲ درصد بود و بذرهاى ارسنجان و قیرو کارزین بیشترین میزان آلودگی را داشتند. در هر دو تیمار ۲/۵ و ۵ دقیقه، ضد عفونی بذرها میزان آلودگی به این قارچها را کاهش داده و در برخی نمونه‌ها به صفر کاهش داد.

جدول ۳: درصد آلودگی بذرهاى به قارچ‌های مختلف (تیمار ۲/۵ دقیقه ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم ۱٪)

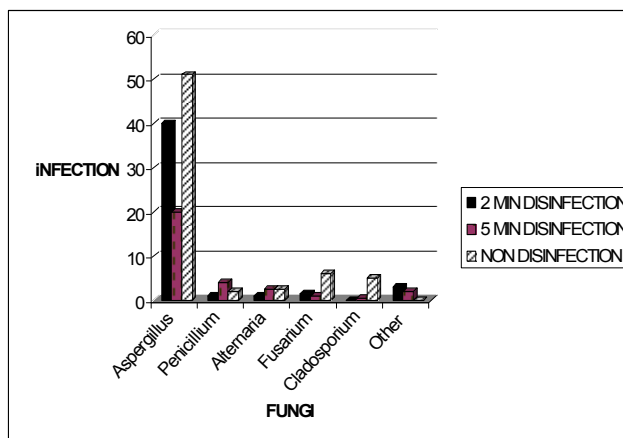
نمونه‌ها	درصد آلودگی											
	Other		<i>Cladosporium</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Aspergillus</i>	
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
ارسنجان	۰	۱۰	۷	۰	۱۲	۲	۳	۰	۰	۲۵	۲۳	۳۲
بیضا	۰	۰	۲	۰	۷	۳	۰	۰	۰	۷۵	۵۰	۵۰
قیرو کارزین	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۴	۲	۰	۰	۵۳	۲۹
رامجرد	۰	۰	۱۲	۰	۱۴	۰	۲	۰	۰	۳۶	۲۵	۲۵
سعادت شهر	۰	۶	۰	۰	۰	۳	۳	۰	۰	۷۰	۴۰	۴۰
ظفرآباد	۰	۰	۴	۰	۲	۰	۳	۲	۵	۰	۶۰	۶۰
زرقان	۰	۰	۷	۰	۴	۰	۰	۰	۶	۰	۴۰	۳۷
کل	۰	۳	۵	۰	۶	۱.۵	۲.۵	۱	۲	۱	۵۱	۴۰

جدول ۴: درصد آلودگی بذرها به قارچ‌های مختلف (تیمار ۵ دقیقه ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم ۱٪)

درصد آلودگی												نمونه‌ها
Other		<i>Cladosporium</i>		<i>Fusarium</i>		<i>Alternaria</i>		Penicillium		<i>Aspergillus</i>		
-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	
۲	۰	۱۳	۰	۱۹	۰	۷	۰	۴	۳	۱۰	۱۵	ارسنجان
۰	۲	۱۱	۰	۱۳	۵	۰	۶	۱۳	۰	۱۱	۱۳	بیضا
۰	۰	۴	۰	۰	۰	۳	۸	۴	۴	۳۵	۹	قیرو کارزین
۲	۰	۱۱	۰	۷	۰	۴	۴	۰	۴	۷	۱۰	رامگرد
۲	۰	۵	۳	۱۲	۰	۰	۰	۱۰	۳	۲۷	۱۷	سعادت شهر
۰	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۸	۹۰	۴۴	ظفرآباد
۰	۰	۰	۰	۲	۰	۳.۵	۰	۳.۵	۳	۳۹	۳۲	زرقان
۱	۲	۶.۳	۰.۵	۸	۱	۳	۲.۶	۵	۴	۳۲	۲۰	کل

Disinfection : + , non-disinfection : _

نتایج بدست آمده از دو تیمار ضد عفونی ۲/۵ و ۵ دقیقه‌ای با هیپوکلریت سدیم ۱٪ نیز با هم مقایسه گردید (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه میزان آلودگی به قارچ‌های تیمارهای ۲، ۵ دقیقه و بدون ضد عفونی

جوانه‌زنی بذرها نشان می‌دهد که وجود قارچ‌ها تا حدودی در کاهش جوانه زنی بذرها نقش دارد. البته این تاثیر زیاد چشمگیر نیست. اکثر بذرها جوانه زده و باقی مانده، آلوده به قارچ‌هایی نظیر *Aspergillus sp.* و *Penicillium sp.* بوده و به علت وجود رطوبت و همچنین قارچها کاملا لهیده و نرم بودند. این موضوع می‌تواند بیانگر این باشد که علت جوانه زدن بذرها وجود قارچ‌ها بوده است (جدول ۵ و شکل‌های ۲ و ۳). قارچ آسپرژیلوس درصد بالایی از آلودگی بذرها را شامل می‌شد. مقایسه میزان جوانه زنی بذرها و میزان آلودگی به *Aspergillus sp.* نشان می‌دهد که این قارچ بر جوانه زنی بذرها در بیشتر موارد اثر کاهنده دارد (شکل‌های ۲ و ۳). در این تحقیق از دو تیمار ضد عفونی ۲/۵ و ۵ دقیقه‌ای با هیپوکلریت سدیم ۱٪ استفاده شد، این زمان‌ها بر اساس آزمایش و تکرار چند زمان متفاوت از جمله ۱، ۲، ۳ و ۵ دقیقه برگزیده شد. در این آزمایشات مشاهده شد که در تیمارهای ۱ و ۲ دقیقه، بیشتر نمونه‌ها آلوده به قارچ *Rhizopus sp.* شدند ولی در ۲/۵ دقیقه هیچگونه آلودگی ریزوپوسی دیده نشد. در نتیجه زمان ۲/۵ دقیقه و مدت زمان دو برابر آن یعنی ۵ دقیقه بعنوان زمانهای ضد عفونی انتخاب شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه بیانگر این مطلب است که بذر کلزا حاوی تعداد زیادی قارچ می‌باشد که برخی سطحی و روی پوسته بذر و تعدادی درون بذر قرار دارند. در بین این قارچ‌ها تعدادی بر روی کلزا بیماری‌زا هستند واز لحاظ بیماری‌های کلزا مورد اهمیت قرار می‌گیرند. نتایج آزمایشات مشابه نشان می‌دهد قارچ‌های جدا شده از بذر کلزا شامل قارچ‌های پرازیت و

بررسی توانایی آنتاگونیستی قارچ های اندوفیت ریشه و گونه های تریکودرما بر ...

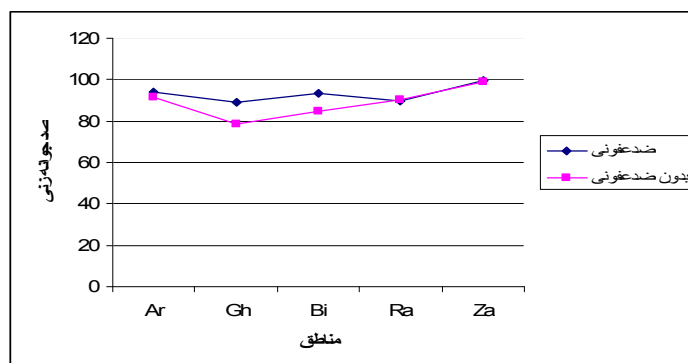
ساپروفیت هستند (Frencel *et al.*, 1991; Bansal *et al.*, 1990; Szopinska *et al.*, 2007). در این تحقیق میزان قارچ های بیماریزا مانند *Alternaria sp.* و *Phoma sp.* نسبت به قارچ های ساپروفیت نظیر گونه های آسپرژیلوس و پنی سیلیوم بسیار کم بود که البته می توان آن را با خشکی هوا در سالهای مورد مطالعه مرتبط دانست. قارچ های بیماریزایی مانند *Alternaria sp.* و *Leptosphaeria maculans* با فرم غیرجنسی *Phoma sp.* از مهمترین قارچ های بیماریزا در کلزا هستند (Frencel *et al.*, 1991). کاهش عملکرد کلزا بر اثر *Alternaria brassicae* بیش از ۵۰٪ تخمین زده شده که در حالت متوسط بودن بیماری این میزان تا ۲۰٪ می رسد، بطور کلی آلوده شدن کلزا به قارچ های مختلف، محتوی روغن را تا ۳۵ درصد کاهش می دهد (Bansal *et al.*, 1990). تحقیقات نشان داده که *Alternaria* تولید توکسین آلترناریول (AOH)، آلترناریول مونومتیل اتو (AME)، آلتنون (ALT)، آلترتوکسین های مختلف (ATX-I، II و III) و ال-توزونیک اسید (TEA) می کند (Montemuro and Visconti, 1992). مطالعات در غرب کانادا نشان داد که قارچ پس از برداشت *Penicillium verrucosum* از قارچ هایی است که بیشترین فراوانی را روی بذرهای غلات و دانه های روغنی دارد. این قارچ یکی از عوامل مهم فساد و گندیدگی این بذرها است (Mills and Abramson, 1982). بطور کلی اثر قارچ های همراه بذر و قارچ آسپرژیلوس روی جوانه زنی بذرها نشان داد که وجود این قارچ ها تا حدودی روی جوانه زنی بذر تأثیر می گذارد و هرگاه درصد قارچ ها بالا رفته، میزان جوانه زنی بذرها هم کاهش یافته است. البته این اثر را می توان با تأثیر مستقیم قارچ ها بطور مصنوعی روی بذرها به شکل بهتری بررسی کرد. بطوری که تحقیقی در استرالیا نشان داد که مایه زنی مصنوعی بذر کلزا با *A. brassicicola* باعث کاهش جوانه زنی بذر و مرگ گیاهچه می شود و منبع اینوکولوم اولیه این قارچ، بذرها آلوده هستند (Silvana and Skares, 2000). در نتایج حاصل از جوانه زنی بذرها در تحقیقی دیگر بیشترین درصد جوانه زنی در سالی مشاهده شد که میانگین دما بالا و رطوبت نسبی پایین بود و در نتیجه در این سال میزان آلودگی بذرها به قارچها نیز پایین بود. قارچ *Botrytis sp.* یکی از قارچ های جدا شده در این تحقیق بود که در تحقیقات مشابه در لهستان این قارچ از بذر کلزا جداسازی شده است، بطوریکه در سال ۲۰۰۲ میانگین دمای هوا پایین و رطوبت نسبی هوا نسبت به دو سال دیگر بیشتر بود و این شرایط باعث آلودگی بیشتر دانه ها به قارچ *Botrytis cinera* شده که در این سال این قارچ هم از پوسته و هم از جنین بذر جداسازی شد (Szopinska *et al.*, 2007).

مطالعه انجام گرفته در لهستان همچنین نشان داد که قارچ *Cladosporium sp.* توانایی رشد در شرایط خشک را در مقایسه با بسیاری از قارچ ها دارد و به همین دلیل به خوبی می تواند بذر خشک کلزا را کلونیزه کند (Szopinska *et al.*, 2007) و در تحقیق حاضر نیز درصد قابل توجه آلودگی بذرها به این قارچ می تواند موید این مطلب باشد، زیرا سال زراعی گذشته (۸۶-۸۷) در استان فارس سالی کم باران و خشک بود. نتایج مطالعه حاضر نیز این ادعا را تأیید می کند که میزان پایین بودن آلودگی بذرها نسبت به مطالعات مشابه می تواند به علت کم بارانی و خشک بودن سال زراعی ۸۶-۸۷ باشد. مقایسه دو تیمار ضدعفونی و عدم ضدعفونی بذرها و میزان قارچ های رشد کرده نشان می دهد که ضدعفونی و افزایش مدت زمان آن به طور کلی باعث کاهش جمعیت قارچ ها شده و این موضوع می تواند بیانگر این باشد که آلودگی به اکثر این قارچ ها سطحی بوده و قارچ ها روی پوسته بذر قرار دارند. البته تعدادی هم درون بذر بوده که علیرغم ضدعفونی سطحی در روی محیط کشت رشد کرده اند و می توان با انجام آزمایشات تکمیلی این مطلب را ثابت کرد. نتایج سایر مطالعات نیز این موضوع را تأیید می کند. نیرگارد (Neergaard, 1977) نشان داد که قارچ *Phoma lingam* در جنین بذر کلم قرارداد و در مطالعه زوپینسکا و همکاران نیز این قارچ از پوسته و جنین بذر کلزا جداسازی شد (Szopinska *et al.*, 2007). در مطالعه حاضر نیز قارچ *Phoma sp.* از بذر کلزا جدا شد و علیرغم پایین بودن میزان گزارش شده چون این قارچ از قارچ های بیماریزای مهم کلزا است، وجود آن بر روی بذر اهمیت خاصی دارد و می توان با کنترل آلودگی بذرها به این قارچ، انتقال این بیماری توسط بذر را کنترل کرد.

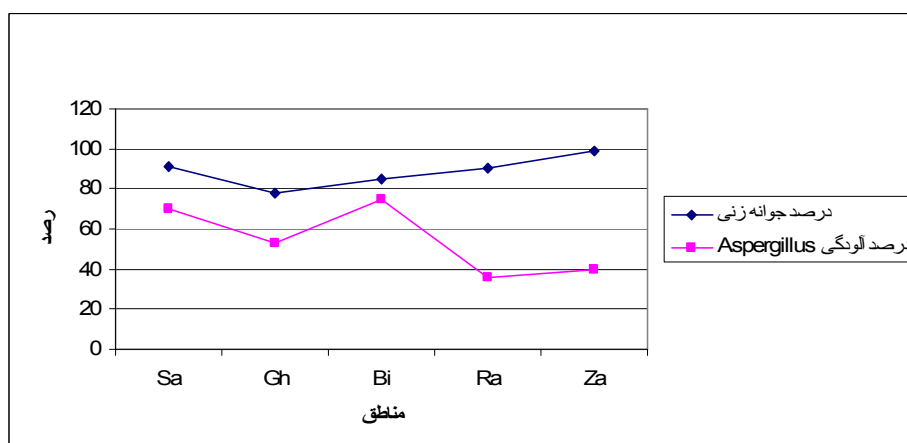
جدول ۵: نتایج جوانه زنی بذرهاي کلزا

ظفرآباد		رامجرد		بیضا		قیروکارزین		سعادت شهر		تاریخ
-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	
۲۹۷	۲۹۹	۲۶۴	۲۶۷	۲۵۵	۲۷۷	۲۳۰	۲۶۶	۲۷۲	۲۸۱	اولین شمارش
۰	۰	۸	۳	۳	۴	۵	۲	۲	۱	دومین شمارش
۲۹۷	۲۹۹	۲۷۲	۲۷۰	۲۵۵	۲۸۱	۲۳۵	۲۶۸	۲۷۴	۲۸۲	کل
۹۹	۹۹/۵	۹۰/۵	۹۰	۸۵	۹۳	۷۸	۸۹	۹۱/۳	۹۴	درصد جوانه زنی

Disinfection : +
non-disinfection -



شکل ۲: تأثیر ضد عفونی بذر بر جوانه زنی بذرهاي کلزا



شکل ۳: تأثیر آلودگی قارچ *Aspergillus sp.* همراه بذر بر جوانه زنی بذرهاي کلزا

گونه‌های قارچ آسپرژیلوس در تمامی نمونه‌ها وجود داشتند و درصد بالایی از آلودگی را شامل می‌شدند. این گونه‌ها تأثیر زیادی بر کیفیت و کمیت محصول دارد، چه در مزرعه و چه در انبار تعدادی از قارچ‌های همراه بذر مانند *Aspergillus sp.* سمی به نام میکوتوکسین ترشح می‌کنند که باعث مسمومیت و بیماری در انسان و حیوانات می‌شود. میکوتوکسین‌ها مولکول‌های کوچکی هستند که وجود آن‌ها در غذای انسان و دام یکی از نگرانی‌های مهم در تجارت جهانیست و هر ساله باعث خسارت اقتصادی و بهداشتی فراوانی می‌شود (Kacergius *et al.*, 2005; Mills and Abramson, 1982).

تحقیقی که در اسپانیا انجام شد قارچ‌های *Aspergillus sp.*، *Penicillium sp.* و *Alternaria sp.* را به عنوان فراوان‌ترین قارچ‌های همراه بذر کلزا معرفی کرد. افلاتوکسین B1 تنها از یک نمونه از بین ۲ نمونه‌ی آزمایش شده جدا سازی شد. از ۴۰ جدایه *Aspergillus sp.* تنها ۳ جدایه توانایی تولید افلاتوکسین را داشتند. هیچ یک از جدایه‌های *Penicillium sp.* توکسین‌زا نبودند (Vinas *et al.*, 1994). تحقیقات جامعی در لیتوانی بر روی بذر کلزا، ذرت و سویا انجام گرفته و قارچ‌های *Aspergillus Alternaria Penicillium expansum F. avenaceum Fusarium oxysporum A. vesicolour A. clavatus niger*

بررسی توانایی آنتاگونیستی قارچ‌های اندوفیت ریشه و گونه‌های تریکودرما ...

alternata و *Rhizomucor pusillus* شناسایی شد. در این تحقیق قارچ‌های تولید کننده توکسین هم بررسی شد و قارچ‌های متعلق به گونه‌های *Penicillium expansum* و *Chrysosporium sp.* *Fusarium solani* *A. pluriseptata* *A. brassicae* عنوان تولید کننده توکسین‌های قارچی معرفی شد (Kacergius et al., 2005).

در تحقیقی تأثیر بیماری‌های کلزا روی کیفیت بذر این محصول مورد بررسی قرار گرفته و نتایج این بررسی نشان داد که بیماری‌های مختلف باعث کاهش محتوی روغن و عملکرد می‌شود و این تأثیر شامل کاهش کیفی و کمی اسیدهای چرب روغن کلزا است بطوریکه در روغن گیاهان آلوده به بیماری پوسیدگی ساقه، اروسیک اسید (Erucic acid) و Hexadecatrienoic وجود دارد که این مواد در گیاهان سالم موجود نیست. بیماری‌ها عموماً باعث کاهش بخش Triacylglycerol و افزایش بخش Diacylglycerol می‌شود، بنابراین کنترل بیماری‌های کلزا امری ضروری برای حفظ مرغوبیت کیفی و کمی محصول کلزا می‌باشد (Mc Cartney et al., 1999). برخی از قارچ‌های همراه بذر باعث نامرغوب شدن روغن کلزا می‌شود، به طور مثال اثر قارچ بذرزاد فوزاریوم بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن کلزا توسط اشرف و باسو (Ashraf and Basu, 1986) بررسی شده و بیانگر این مطلب است که نمونه‌های *Fusarium moniliform* *F. oxysporum* و *F. semitectum* از بذرهای کلزای مورد آزمایش جداسازی گردیده و آلودگی به این سه گونه باعث کاهش محتویات روغن و تغییر رنگ روغن کلزا می‌شود و این روغن‌ها بوی کپک می‌دهند. اسیدهای چرب آزاد آن به صورت تصاعدی افزایش یافته و میزان ید این روغن‌ها کاهش پیدا کرده بود (Ashraf, and Basu, 1986). اسپور قارچ‌های آلوده کننده گیاهان منبع مهمی برای آلرژی‌های تنفسی در انسان هستند. دو قارچ معمول آلرژی‌زا که واکنش‌های آلرژیک را در انسان تشدید می‌کند، قارچ‌های *Alternaria sp.* و *Cladosporium sp.* است که میزان ۱۰۰ تا ۳۰۰۰ اسپور در متر مکعب هوا می‌تواند باعث واکنش‌های حساسیت‌زا شود. در مطالعات انجام شده در لهستان فراوانی اسپور این دو قارچ بررسی شده و مشخص شد که میزان فراوانی آن‌ها در زمان برداشت محصول کلزا به بالاترین حد خود می‌رسد. علیرغم این موضوع، رابطه بین فراوانی اسپورها در هوا و درصد آلودگی بذرها یک رابطه معنی دار نبود. به عبارتی وجود اسپورها در هوا می‌تواند از دو جنبه مهم باشد که یکی منبع آلودگی گیاهان بوده و دیگری منبع ایجاد آلودگی‌های آلرژی‌زا در انسان است (Szopinska et al., 2007).

بطور کلی رطوبت بیش از حد در دانه کلزا باعث افزایش شدت تنفس و بالا رفتن دما در توده بذرهایی که انبار شده‌اند خواهد شد و در نتیجه میکروارگانیسم‌ها به ویژه قارچ‌ها فعال شده و به سرعت در داخل و روی دانه‌ها نشو و نما می‌نمایند و کپک زدگی محصول آغاز می‌شود. اما چنانچه رطوبت آن تقلیل یابد میکروارگانیسم‌ها نمی‌توانند فعالیت نمایند. بنابراین پایین بودن میزان آلودگی در این تحقیق در مقایسه با سایر تحقیقات می‌تواند به این دلیل باشد که بذرهای کلزا بلافاصله بعد از برداشت و یا چند روز پس از انبار مورد آزمایش قرار گرفتند، در نتیجه می‌توان برای کامل شدن این آزمایش بذرها را پس از چند ماه دوره انبار دهی نیز مورد آزمایش قرار داد و نتایج را مقایسه نمود.

باتوجه به اینکه تحقیقاتی از این دست می‌تواند علاوه بر مدیریت بیماری‌های گیاهی و جلوگیری از شیوع بیماری‌ها، به افزایش کیفیت مواد غذایی نیز کمک کند، لذا ضروری به نظر می‌رسد در مورد محصولات زراعی از جمله دانه‌های روغنی که نقش مهمی در برنامه غذایی انسان دارند، این تحقیقات انجام شود و روشهای کاهش آلودگی‌های قارچی که برخی بسیار ساده هستند توصیه شود. به عنوان مثال روشهای انباردهی مناسب، تنظیم دما و رطوبت انبار می‌تواند تأثیر چشمگیری در کاهش آلودگی‌های قارچی و باکتریایی داشته باشد. در مورد بیماری‌های گیاهی نیز این آزمایشات به کشاورزان کمک می‌کند که بذرهای مورد نیاز خود را چگونه تهیه و نگهداری کنند و نیز برنامه مدونی برای کشت محصولات در هر منطقه تهیه کرد. می‌توان توصیه کرد که کشاورزان با تهیه بذرهای گواهی شده از مراکز کشاورزی و عدم استفاده از بذرهایی که مطمئن به سلامت آنها نیستند باعث کاهش آلودگی‌های قارچی در محصولات کشاورزی شوند.

سپاسگزاری

با تشکر از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و معاونت پژوهشی این واحد که هزینه‌های این تحقیق را از منابع طرح‌های پژوهشی در اختیار اینجانب قرار دادند.

Reference:

1. Ashraf S S and Basu KC. 1986. Effect of seed-Borne *Fusarium* species on the physicochemical properties of rapeseed oil. *Journal of Phytopathology* 117: 107-112.
2. Bansal V K, Seguin S G, Rakow G F W and Petric G A. 1990. Reaction of *Brassica* species to infection by *Alternaria brassicae*. *Canadian Journal of Plant Science* 70: 1159-1162.
3. Brazauskiene I, Petraitiene E and Mankeviciene A. 2006. Effect of genotype and environmental factors on rape seed contamination with mycotoxins and mycotoxin producing fungi. *Ekologija* 3: 14-20.
4. Basirnia T and Banihashemi Z. 2004. Study of sesame seed mycoflora with particular emphasis on *Aspergillus* species in Fars province. Paper presented at: 16th Iranian Plant Protection Congress; August 28- September 1; Tabriz University, Iran.
5. Fasihiani A and Shirvani A. 2000. Seedborne fungi of sesame in Fars province. Paper presented at: 14th Iranian Plant Protection Congress; 5-8 September; Isfahan, Iran.
6. Frencl IM, Lewartowska E and Jedryczka M. 1991. The spectrum of severity of fungal diseases in field infection of winter oilseed rape in Poland. *Bulletin OILB-SROP* 14: 137-140
7. Hampton R, waterworth H, Goodman R M and Lee R. 1982. Importance of seedborne viruses in crop germplasm. *Plant Disease* 66: 977-978.
8. Kacergius A, Lugauskas A, Varnaite R, Baliukoniene V and Brukstiene D. 2005. Screening of micromycetes producing toxic substances under various conditions. *Botanica Lithuanica Supplement* 7: 65-75.
9. Maude R B. 1996. *Seedborne Diseases and Their Control: Principles and Practice*. Wallingford: CAB international. 280 p.
10. Mc Cartney H A, Doughthy K J, Booth E J and Thomas J E. 1999. A study of the effect of disease on seed quality parameters of oilseed Rap. Paper presented at: 10th International Rapeseed Congress; 27-30 September; Canberra, Australia.
11. Mills J T and Abramson D. 1982. Ochratoxigenic potential of *Penicillium* spp isolated from stored rape seed and cereals in Western Canada. *Canadian Journal Plant Pathology* 4: 37-41.
12. Montemuro N and Visconti A. 1992. *Alternaria* Metabolites Chemical and Biological Data. PP. 449-557, In Y Chelkowski and A Visconti (eds). *Alternaria: Biology, Plant Disease and Metabolites*. Amsterdam: Elsevier.
13. Neergaard P. 1981. Risks for EPPO region from seed-borne pathogens. *EPPO Bulletin* 11: 207-212.
14. Neergaard P. 1977. Seed-borne diseases. *Annals of Applied Biology* 33: 228-231.
15. Noble M. 1971. Seed Pathology. pp. 21-36. In JH Western (ed). *Diseases of Crop Plants*. London, UK: Macmillan.
16. Silvana D M and Skares L M V. 2000. A method for the determination of two *Alternaria* toxin, Alternariol and Alternariol monomethyl ether, in tomato products. *Brazilian Journal of Microbiology* 31: 315-320.
17. Sivappalan A and Brawning J W. 1992. Incidence of *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wilsh. on Brassica oleracea seeds. *Animal Production Science* 32: 535-537.
18. Shirani Raad A H and Dehshiri A. 2002. *Rapeseed from sowing to Harvesting*. Agricultural Training Publishing. 116 pp.
19. Szopinska D, Tylkowska K and Stach A. 2007. Relationship between Seed Development Stage, germination, occurrence and location of fungi Oilseed Rap (*Brassica napus* spp. Oleiferal.) seeds and the presence of *Alternaria* and

Cladosporium spp. Spores in the air. Elecectronic Journal of Polish Agriculture University 10: 4-19.

20. Vinas I, Palma J, Garza S and Visconti A. 1994. Natural occurrence of aflatoxin and *Alternaria* mycotoxin in oilseed rape from Catalonia (Spain)- incidence of toxigenic strain. Mycopathologia 128: 175-179.