



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "حفاظت زیست‌بوم گیاهان"

دوره هفتم، شماره پانزدهم

<http://pec.gonbad.ac.ir>

## مطالعه خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک و قارچ‌های همراه دنبان صحرایی ( *Terfezia*

### *claveryi*) و گیاه گل آفتابی بومی استان گلستان

رقیه حبیبی<sup>۱</sup>، کامران رهنما<sup>۲\*</sup>، سید اسماعیل رضوی<sup>۳</sup>، مرتضی خمیری<sup>۴</sup> و محمدرضا آصف<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری قارچ شناسی و بیماری شناسی گیاهی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

<sup>۲</sup>دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

<sup>۳</sup>استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

<sup>۴</sup>دانشیار گروه صنایع غذایی و میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

<sup>۵</sup>استادیار موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۶

#### چکیده

در این بررسی قارچ‌های جدا شده از ریشه گیاه گل آفتابی *Helianthemum ledifolium* و خاک اطراف دنبان صحرایی (*Terfezia claveryi*) از ۱۰ منطقه مختلف در شهرستان گنبد کاووس واقع در استان گلستان مورد شناسایی قرار گرفت. شناسایی قارچ‌های دنبان نمونه‌برداری شده با روش‌های مورفولوژیکی و مولکولی انجام گرفت. با استفاده از محیط کشت‌های سیب‌زمینی دکستروز آگار، عصاره مالت آگار و موراشیگ و اسکوگ و نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۱ گونه‌ی قارچی متعلق به ۱۳ جنس جداسازی شد. بیشترین جدا‌یها به ترتیب مربوط به خاک اطراف آسکوکارپ‌های دنبان صحرایی (*T. claveryi*) و ناحیه ریزوسفر گیاه گل آفتابی (*H. ledifolium*)

\*نویسنده مسئول: [rahnama@gau.ac.ir](mailto:rahnama@gau.ac.ir)

بود. گونه‌های قارچی از دو جنس *Aspergillus* و *Fusarium* فراوان‌ترین گونه‌های جداسازی شده از خاک اطراف دنبان صحرایی بودند. گونه‌هایی از جنس‌های *Ulocladium* و *Polyschema Paecilomyces Acremonium* کمترین فراوانی برای اولین بار از این مناطق جداسازی شدند. همچنین گونه *Polyschema sclerotigenum* برای نخستین بار از ایران گزارش گردید. نتایج آنالیز نمونه خاک‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف دارای دنبان نشان داد که در ساختار خاک و میزان آهک موجود اختلاف کمی وجود دارد و غالب نمونه خاک‌های جمع‌آوری شده از نوع بازی با  $pH$  ۸/۲، غیر شور، با میزان مواد آلی کم، شنی و میزان آهک بالا هستند. در حالی که میزان فسفر در اکثر نمونه‌های خاک کم و تغییرات در مکان‌های نمونه‌برداری یکسان و اختلاف در بین آن‌ها از نظر آماری معنادار نبود.

کلمات کلیدی: ریزوسفر، فسفر، فلور قارچی، *Terfezia claveryi Helianthemum ledifolium*.

#### مقدمه

قارچ‌های دنبان یا سماروغ، گروهی از قارچ‌های خوراکی صحرایی، فاقد کلاهدک، با ارزش غذایی بالا و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند که از زمان رومیان و یونانیان تا امروز به عنوان غذای کامل مورد استفاده بوده است (Dogan and Aydin, 2013). به طوری که یکصد گرم از قارچ تازه حاوی ۱۷۳ میلی‌گرم پروتئین می‌باشد. این قارچ‌ها در ایران اغلب زیر سطح خاک‌هایی که دارای بافت نرم و آهکی‌اند، یافت می‌شوند، به همین علت تحت عنوان قارچ‌های زیرزمینی (*Hypogeous fungi*) مشهور می‌باشند و تاکنون از استان‌های فارس، زنجان، سیستان و بلوچستان، فارس، کرمان، کرمانشاه، لرستان، کهگیلویه و بویراحمد و آذربایجان غربی و شرقی شناسایی و گزارش شده‌اند (Jamali and Banhashemi, 2012). این قارچ‌ها در شاخه آسکومیکوتا (*Ascomycota*) تحت عنوان قارچ‌های دنبان حقیقی (*True truffles*) شناخته شده و در واقع به گروهی از اندام‌های بارده جنسی یا آسکوکارپ‌های تولید شده در زیر سطح خاک که انتشار اسپور غیرفعال دارند، گفته می‌شود (Laessoe and Hansen, 2007). قارچ‌های دنبان از راسته *Pezizales* (Laessoe and Hansen, 2007) بوده که محدود به اکوسیستم‌های حوزه مدیترانه‌ای و صحرای خشک و نیمه‌خشک هستند و در جنس‌های *Terfezia*، *Tirmania* و *Picoa (Phaeangium)* طبقه‌بندی و براساس نحوه فعالیت آن‌ها با عنوان قارچ‌های دنبان صحرایی (*Desert Truffles*) یا قارچ‌ریشه برونی (اکتومیکوریزا) شناخته می‌شوند (Sbissi et al., 2010). رشد کمی و کیفی دنبان‌ها به میزان بارندگی در شروع فصل زمستان و مواد آلی خاک بستگی دارد به طوری که تفاوت میزان بارندگی از سالی به سال دیگر، میزان عناصر موجود در خاک و مواد آلی با جمعیت دنبان‌ها رابطه نزدیکی دارد. این قارچ‌ها معمولاً در کنار

ریشه بوته‌های گیاهی خانواده *Cistaceae* از جمله جنس *Helianthemum* به ویژه گونه‌های *H. salicifolium* و *H. ledifolium* در مناطق مختلف جهان و ایران نیز پراکنش دارند که نشان دهنده محل رویش قارچ دنبلان می‌باشد (Rechinger, 1967). این گیاه در زبان فارسی با عنوان گل رز صخره‌ای و یا گل آفتابی شناخته شده که دارای ۶ گونه یک ساله و چند ساله می‌باشند (Habibi Bibalani et al., 2011). گونه‌های جنس *Helianthemum* به دلیل داشتن همزیستی میکوریزایی با قارچ‌های بومی مناطق خشک و نیمه خشک همانند *Terfezia*، *Tirmania* و *Picoa* نقش مهمی در نگهداری و حفاظت بوته‌زارها و چمن‌زارهای نواحی خشک داشته و در جلوگیری از فرسایش و بیابان‌زدایی اهمیت بسزایی دارند (Diez et al., 2002). به طور طبیعی بسیاری از گونه‌های گیاهی برای مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و زیست محیطی مانند خشکی، شوری، کمبود مواد مغذی با خاصیت میکوریزایی سازگاری یافته‌اند (Querejeta et al., 2003). میکوریزهای همزیست، نقش مهمی را در جذب مواد مغذی خاک و آب توسط اکثر گیاهان به عهده دارند. تحقیقات اسلاما و همکاران (Slama et al., 2012) نشان داد که اندام‌های رویشی با نام ریشه-های میکوریزها قادرند پس از گذشت خشکسالی طولانی، در خاک با پتانسیل منفی ۲۰ مگا پاسگال باقی بمانند. تقریباً همه میکوریزها دارای میسلیوم خارجی هستند که ریشه گیاهان را با ذرات خاک اطراف متصل نموده و منجر به حفظ آب و جذب مواد مغذی با گیاه همزیست از طریق ارتباط با ساختار ریشه می‌گردد (Boulois et al., 2008).

یکی از عوامل مهم بوم‌شناختی در رشد دنبلان‌ها نوع خاک است. بررسی‌ها در ایتالیا نشان داده است چگالی توده خاک در این زیست‌بوم، جز عوامل مهم تشکیل اندام بارده تولید مثل جنسی قارچ (آسکوکارپ) محسوب می‌شود به طوری که خاک مراتع رویشگاه این قارچ، عموماً شنی-آهکی با اسیدیته بازی بوده و دارای خاکدانه‌های مناسب قابل نفوذ می‌باشند (Jamali and Banhashemi, 2012). از جمله عوامل زنده مؤثر در تشکیل اندام باردهی دنبلان‌ها شامل قارچ‌ها، مخمرها و باکتری‌ها و عوامل غیر زنده شامل؛ نوع خاک، pH و آب در دسترس را می‌توان اشاره نمود. در سال‌های اخیر با تغییر الگوی آب و هوایی و کاهش میزان بارندگی، اندام بارده قارچ‌های دنبلان صحرایی خیلی کم مشاهده می‌گردد از سوی دیگر بیم آن می‌رود نظر به هجوم بومیان منطقه و برداشت بی‌رویه آن به جهت ارزش خوراکی، اقتصادی، مصرف آن توسط حیوانات بومی مانند موش‌های مناطق بیابانی، به تدریج جمعیت این قارچ‌ها کاهش یافته و به شدت کمیاب شوند. ضرورت شناخت تعادل شرایط اکولوژیکی و همراهی سایر موجودات ریزوسفری و غیر ریزوسفری در مشارکت میکوریز در این خانواده عمدتاً ناشناخته بوده و نیازمند بررسی‌ها و مطالعات تکمیلی است؛ بنابراین

در این تحقیق با بررسی خاک، قارچ و گیاه همزیست با دنبلان صحرایی *T. claveryi* از رویشگاه‌ها در مراتع مختلف استان گلستان خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و شناسایی قارچ‌های ناحیه ریشه مدنظر قرار گرفته و از طرفی به وجود انواع آلودگی‌های پوده‌رست همراه با اندام بارده (آسکوکارپ) دنبلان‌ها و نحوه ارتباط عوامل با آن‌ها جهت درک بهتر از شناخت زیست‌بوم، توجه شده است.

### مواد و روش‌ها

#### منطقه مورد مطالعه

در این تحقیق از رویشگاه‌های گیاهان جنس *Helianthemum* و قارچ دنبلان با طول و عرض‌های جغرافیایی مختلف در ۱۰ روستای شهرستان گنبد کاووس نمونه‌برداری صورت گرفت. به منظور ثبت اطلاعات مناطق پراکنش گیاه میزبان از دستگاه GPS (Global Positioning System) استفاده شد (جدول ۱). داده‌های آب و هوایی از وبسایت هواشناسی ([www.irimo.ir](http://www.irimo.ir)) ثبت گردید.

جدول ۱- اطلاعات مربوط به محل جمع‌آوری نمونه‌های قارچ، خاک و گیاه *Helianthemum* از رویشگاه قارچ دنبلان صحرایی (*T. claveryi*)

نمونه	استان	منطقه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع (متر)	سال نمونه‌برداری
۱	گلستان	گنبد کاووس (بخش داشلی برون)	۳۷° ۵۵' ۲۸"N	۵۵° ۸' ۲۸"E	۸۰	۱۳۹۵
۲	گلستان	گنبد کاووس (بخش داشلی برون)	۳۷° ۵۴' ۵۴"N	۵۵° ۸' ۳۶"E	۷۰	۱۳۹۵
۳	گلستان	گنبد کاووس (بخش داشلی برون)	۳۷° ۵۲' ۵۵"N	۵۵° ۹' ۴۶"E	۹۰	۱۳۹۵
۴	گلستان	گنبد کاووس (روستای کلیچه)	۳۷° ۵۱' ۴۲"N	۵۵° ۱۰' ۵۶"E	۱۲۰	۱۳۹۵
۵	گلستان	گنبد کاووس (روستای کلیچه)	۳۷° ۵۳' ۴۲"N	۵۵° ۱۰' ۵۸"E	۱۰۰	۱۳۹۵
۶	گلستان	گنبد کاووس (روستای کلیچه)	۳۷° ۵۵' ۴۲"N	۵۵° ۱۰' ۵۰"E	۱۰۰	۱۳۹۵
۷	گلستان	گنبد کاووس (روستای کلیچه)	۳۷° ۵۵' ۴۰"N	۵۵° ۱۰' ۱۸"E	۸۰	۱۳۹۵
۸	گلستان	گنبد کاووس (منطقه آق‌بند)	۳۷° ۵۳' ۴۲"N	۵۵° ۸' ۷۳"E	۱۶۰	۱۳۹۶
۹	گلستان	گنبد کاووس (اوج گوی)	۳۷° ۵۸' ۴۳"N	۵۵° ۹' ۹۵"E	۱۷۹	۱۳۹۶
۱۰	گلستان	گنبد کاووس (اوج گوی)	۳۷° ۵۷' ۴۰"N	۵۵° ۹' ۱۸"E	۸۹	۱۳۹۶

### بررسی پوشش گیاهی و نمونه‌برداری از قارچ *Terfezia claveryi* خاک و گیاه *Helianthemum*

طی بازدیدهایی که در فصول پاییز و زمستان سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ صورت گرفت، نمونه‌هایی از قارچ دنبلان، گیاه میزبان و خاک با پوشش گیاهی و بدون پوشش گیاهی جمع‌آوری و با ثبت مشخصات مربوط به زمان و مکان نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شد (شکل ۱). به منظور شناسایی قارچ‌های دنبلان از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و روش‌های مولکولی استفاده شد که نهایتاً نمونه‌های شناسایی شده ابتدا توالی‌یابی و پس از بلاست نمودن در سایت NCBI ثبت گردید. برای جداسازی عوامل قارچی موجود در بافت‌های ریشه گیاه *Helianthemum*، قطعاتی از ریشه به ابعاد یک سانتی‌متر مربع تهیه و با آب مقطر استریل شستشو، سپس به مدت یک دقیقه در الکل اتیلیک ۷۵٪ ضدعفونی سطحی و بعد از شستشوی مجدد با آب مقطر استریل روی کاغذ صافی خشک و قطعات به تشتک‌های حاوی سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato =PDA) Dextrose Agar)، عصاره مالت آگار (Malt Extract Agar=MEA) و موراشیگ واسکوگ (Murashige and Skoog, 1962) منتقل و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته نگهداری شدند. میکروارگانیسم‌های قارچی در نمونه‌های خاک اطراف اندام بارده قارچ *T. claveryi*، ناحیه ریزوسفر گیاه میزبان و ناحیه غیر ریزوسفری به روش تله‌گذاری و با استفاده از محیط کشت‌های ذکر شده نیز جداسازی گردید. در روش تله‌گذاری نمونه‌های خاک مورد مطالعه با آب مقطر مرطوب شده و به منظور جداسازی قارچ‌های موجود در آن، قطعاتی از برگ درختانی چون نارنج در چند نقطه قرار داده می‌شود تا در صورت وجود هرگونه قارچی در اطراف گیاه مورد تله جمع‌گردیده قابلیت جداسازی داشته باشد. پرگنه خالص از جدایه‌های قارچی به روش تک اسپور روی محیط کشت PDA تهیه شدند. شناسایی مورفولوژیک جدایه‌ها با استفاده از کلیدهای معتبر قارچ‌های میتوسپوری و کلید اختصاصی گونه‌های فوزاریوم جهت شناسایی انجام شد (Nelson et al., 1978; Kiffer and Morelet, 2000; Barnett and Hunter, 2006; Ellis, 1971).



شکل ۱- گونه *T. claveryi* جمع آوری شده از مناطق صحرایی گلستان (گنبد کاووس). ۱-۱، نمونه‌ای از اندام بارده یا آسکوکارپ در حال رشد و گیاه احاطه کننده، ۱-۲، اندام بارده *T. claveryi* بعد از حذف خاک سطحی، ۱-۳، برش *T. claveryi*، ۱-۴، گیاه میزبان *H. ledifolium*، ۱-۵ و ۱-۶، آسک گرد یا بیضوی به همراه آسکوسپوره‌های نابالغ، ۱-۷ و ۱-۸، آسکوسپوره‌های گرد و زگیل‌دار.

#### اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی شیمیایی نمونه‌های خاک مورد مطالعه

نمونه‌های خاک هر منطقه از عمق ۱۵-۱۰ سانتی‌متر تقریباً ۵۰۰ گرم با توجه به میزان فراوانی دنبان رشد نموده در آن نمونه بردار و در کیسه‌های پلاستیکی به صورت جداگانه قرار داده سپس به آزمایشگاه منتقل گردید. ابتدا نمونه‌ها در هوای آزاد خشک و برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، بعد از کوبیده شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری، اسیدیته (pH) و هدایت الکتریکی (EC) در عصاره اشباع خاک به ترتیب با دستگاه‌های pH مترو هدایت سنج الکتریکی در عصاره ۱:۲ اندازه‌گیری شد (Rhodes, 1996). نیتروژن کل با استفاده از روش کج‌لدال (Benton and Case, 1990)، میزان فسفر به روش اولسن (Olsen et al., 1954)، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسیدکلریدریک و تیتراسیون برحسب

درصد تعیین گردید (Benton and Case, 1990). برای اندازه‌گیری یون سدیم و مقدار پتاسیم با روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم یک مولار در pH 7 از دستگاه فلاپم فتومتر استفاده شد (Page et al., 1992). جهت تعیین بافت خاک و درصد ذرات به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962). تعیین محتوی کربن آلی خاک از روش اکسایش با دی‌کرومات (Walkley and Black, 1934) و به منظور محاسبه مقدار ماده آلی خاک از معادله ( $OM = OC \times 1.724$ ) استفاده شد (Polidori et al., 2008) که در این رابطه، OC و OM به ترتیب مقدار کربن آلی و ماده آلی خاک می‌باشند.

### روش‌های آماری

پس از جمع‌آوری داده‌های آزمایشگاه، در محیط اکسل گروه‌بندی شدند. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون اندرسون دارلینگ در نرم‌افزار Minitab بررسی سپس اطلاعات مربوط به هر تیمار تفکیک و با آرایش قابل استفاده در برنامه SPSS برای انجام آنالیزهای آماری وارد و جهت بررسی معنی‌داری و تفاوت بین پارامترهای خاک مناطق مختلف نمونه‌برداری شده از آزمون توکی (Tukeys) استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### فلور قارچی جدا شده از مناطق مورد مطالعه

شهرستان گنبد کاووس واقع در استان گلستان با مساحتی حدود ۵۰۷۱ کیلومتر مربع در ارتفاع متوسط ۵۲ متر از سطح دریا، در مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۸ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۷ درجه و ۱۷ دقیقه عرض جغرافیایی واقع شده است. متوسط بارندگی سالانه آن حدود ۵۰۰ میلی‌متر است که در ۸۰ کیلومتری شمال استان گلستان واقع شده است. این منطقه از نظر آب و هوایی جز اقلیم مدیترانه‌ای به حساب می‌آید. میانگین سالانه دمای هوا در این منطقه ۱۸/۶ درجه سانتی‌گراد که میانگین حداکثر و حداقل سالانه دمای هوا به ترتیب ۲۴/۵ و ۱۲/۷ درجه سانتی‌گراد و میانگین سالانه رطوبت نسبی هوا ۶۵ درصد می‌باشد (www.irimo.ir).

در این تحقیق از ایزوله‌های *T. claveryi* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف صحرایی اطراف شهرستان گنبد کاووس استفاده شد که جهت تأیید گونه، شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی انجام و با کدهای MH084950.1، MH084951.1، MH084952.1، MG835370.1، MG836706.1، MG388220.1 و MG845398.1 در بانک ژن ثبت شدند. در همه نمونه‌ها، اندام بارده قارچ هیپوژئوس (شکل ۱-۱)، به

شکل گرد، با وزن تر ۲۰۰-۳۵۰ گرم، پریدیوم زرد تیره تا خرمایی با رنگ نارنجی در بخش جوان و قهوه‌ای در زمان بلوغ، دارای گلبای گوشتی و جامد (شکل ۳-۱)، آسک‌های روشن گرد تا بیضوی (شکل ۵-۱ و ۶-۱)، آسکوسپورها گرد و زگیل‌دار (شکل ۷-۱ و ۸-۱) دارای ۲۰-۱۶ میکرومتر قطر، اغلب ۸-۷ آسکوسپور در آسک، اسپورها از لحاظ اندازه مشابه و دو لایه بودند (Alsheikh and Trappe, 1994).

همان طور که در جدول ۲ مشخص شده است در این مطالعه با کمک کلید شناسایی قارچ‌ها، ۲۱ گونه قارچی متعلق به ۱۳ جنس از محیط کشت‌های PDA, MS, MEA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد از خاک اطراف قارچ دنبلان، ریشه و ناحیه ریزوسفر گیاه *Helianthemum* جداسازی شدند. تعداد نمونه‌های جدا شده از خاک سطح لایه خارجی یا اندام بارده جنسی دنبلان صحرایی *T. claveryi* در مقایسه با گونه‌های قارچی جدا شده از خاک ریزوسفر و خاک بدون پوشش گیاهی بسیار بالا و کمترین مقدار مربوط به خاک بدون پوشش گیاهی بود (جدول ۲). تعداد ۱۹ گونه قارچی از خاک سطح اندام بارده *T. claveryi*، ۱۶ گونه از ریزوسفر و تنها ۹ گونه از خاک بدون پوشش گیاهی جداسازی شد. جنس *Aspergillus* غالب‌ترین جنس جداسازی شده با حدود ۵۵ درصد کل قارچ‌ها از اندام بارده بودند. در مطالعه حاضر، ۴ گونه متعلق به این جنس شامل *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. terreus* و *A. niger* بودند. جنس‌های *Fusarium* و *Mucor* هر کدام با سه گونه دومین و سومین گونه قارچی غالب در فلور جداسازی شده از دنبلان‌های صحرایی *T. claveryi* بودند. گونه *A. niger* و سپس گونه *Fusarium oxysporum* با بیشترین فراوانی در تعداد پرگنه‌ها در هر گرم خاک جداسازی شد. گونه‌های *Acremonium*, *Polyschema*, *Paecilomyces* و *Ulocladium* با کمترین فراوانی حضور داشتند. برخی از جنس‌هایی (*Cunninghamella*, *Circinella*, *Syncephalastrum*) که قبلاً گزارش شده بودند در تحقیق حاضر یافت نشدند (Jamali and Banhashemi, 2012). در این مطالعه گونه *Polyschema sclerotigenum* برای فلور قارچی ایران از مناطق صحرایی گنبد کاووس جدید بود (Habibiet al., 2017; Ershad, 2009).

جدول ۲- تعداد پرگنه‌های گونه‌های قارچی جداشده در هر گرم از خاک مناطق مورد مطالعه در استان گلستان (شهرستان گنبد کاووس)

تعداد پرگنه در هر گرم خاک			گونه‌های قارچی	ردیف
خاک اطراف <i>H. ledifolium</i>	خاک اطراف آسکوکارپ	خاک اطراف <i>T. claveryi</i>		
خاک بدون پوشش گیاهی	خاک ریزوسفری			
-	۹±۳	۱۰±۲	<i>Acremonium</i> sp.	۱
-	۱۴±۲	۷۸±۳	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.:Fr.) Keissler	۲
۱۰±۴	۳۱±۲	۲۳±۴	<i>Aspergillus flavus</i> link: Fr.	۳
۱۳±۲*	۱۹±۴	۳۱±۵*	<i>A. fumigatus</i> Fres.	۴
۲۹±۳*	۴۰±۱	۴۱±۳*	<i>A. niger</i> van Tieghem	۵
۴±۲	۸±۳	۲۶±۳	<i>A. terreus</i> Thom	۶
-	۲۸±۴	۲۳±۲*	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.:Fr.) Link	۷
-	۶±۲	۱۳±۵	<i>Chaetomium</i> sp.	۸
-	۳۲±۴	-	<i>Fusarium citrinum</i> Wollenw	۹
۲۵±۲*	۳۰±۳	۳۸±۸	<i>F. oxysporum</i> Schlect.	۱۰
۹±۳	۱۳±۳	۱۱±۴	<i>F. solani</i> (Mart.) Sacc	۱۱
۱۰±۳*	۳۹±۴	۳۰±۲	<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	۱۲
-	-	۱۳±۵*	<i>M. circinelloides</i> van Tieghem	۱۳
-	-	۱۹±۴	<i>M. racemosus</i> Fres.	۱۴
۱۸±۵	۲۶±۴	۱۹±۸	<i>Ovatospora unipora</i> (Aue & E. Mull.)	۱۵
-	-	۱۱±۳	<i>Paecilomyces variotii</i> Bain.	۱۶
۱۱±۳	۱۳±۶	۳۹±۲*	<i>Penicillium digitatum</i> Sacc.	۱۷
-	۱۲±۶	۲۶±۵*	<i>P. oxalium</i> Currie & Thom	۱۸
-	۹±۲	-	<i>Polyschema sclerotigenum</i> Wiederhold	۱۹
-	-	۱۹±۴	<i>Rhizopus microsporus</i> van Tieghem	۲۰
-	-	۱۶±۵	<i>Ulocladium</i> sp.	۲۱

\* میانگین‌ها از نظر آماری در سطح ۵ درصد ( $P < 0.05$ ) با یکدیگر اختلاف دارند،  $\pm$  انحراف معیار از میانگین

### خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه مورد مطالعه

نتایج آنالیز خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک بخش‌های مختلف شهرستان گنبد کاووس در استان گلستان در جدول ۳ مشخص شده است.

جدول ۳- پارامترهای فیزیکی و شیمیایی ناحیه ریشه نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از بخش‌های مختلف

شهرستان گنبد کاووس در استان گلستان

پارامترها	نمونه ۱	نمونه ۲	نمونه ۳	نمونه ۴	نمونه ۵	نمونه ۶	نمونه ۷	نمونه ۸	نمونه ۹	نمونه ۱۰
رس (%)	۳/۶ <sup>b</sup>	۰/۱۳ <sup>b</sup>	۰/۱۳ <sup>b</sup>	۲۳ <sup>a</sup>	۷/۱ <sup>b</sup>	۳/۳ <sup>b</sup>	۱/۲ <sup>b</sup>	۱۴ <sup>a</sup>	۳/۹۷ <sup>b</sup>	۲۰ <sup>a</sup>
سیلت (%)	۱۶/۷۶ <sup>b</sup>	۳۰/۱۶ <sup>a</sup>	۳۱/۱۷ <sup>a</sup>	۴۸/۵ <sup>a</sup>	۲۰/۲۷ <sup>b</sup>	۱۷/۰۶ <sup>b</sup>	۱۶/۲۹ <sup>b</sup>	۱۳/۴۳ <sup>b</sup>	۱۷/۸ <sup>b</sup>	۴۸ <sup>a</sup>
شن (%)	۷۰/۶۵ <sup>b</sup>	۶۵/۴۳ <sup>c</sup>	۵۸/۷۴ <sup>c</sup>	۲۱/۴ <sup>d</sup>	۷۰/۷۳ <sup>b</sup>	۷۵/۷۴ <sup>a</sup>	۷۵/۹۷ <sup>a</sup>	۶۹/۴ <sup>b</sup>	۶۹/۱۵ <sup>b</sup>	۲۷ <sup>d</sup>
EC <sub>e</sub> (dSm <sup>-1</sup> )	۰/۴۲ <sup>a</sup>	۰/۵۰ <sup>a</sup>	۰/۴۲ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>a</sup>	۰/۴۳ <sup>a</sup>	۰/۴۲ <sup>a</sup>	۰/۴۰ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>a</sup>	۰/۴۰ <sup>a</sup>	۰/۴۳ <sup>a</sup>
pH (1:2)	۷/۸۵ <sup>a</sup>	۸/۲ <sup>a</sup>	۷/۸۲ <sup>a</sup>	۷/۶۵ <sup>a</sup>	۸/۳ <sup>a</sup>	۸/۴ <sup>a</sup>	۸/۲۶ <sup>a</sup>	۸/۳ <sup>a</sup>	۸ <sup>a</sup>	۸/۱ <sup>a</sup>
CaCO <sub>3</sub> (%)	۲۸ <sup>d</sup>	۴۳ <sup>b</sup>	۴۱ <sup>b</sup>	۵۶ <sup>a</sup>	۳۱ <sup>c</sup>	۳۲ <sup>c</sup>	۳۴ <sup>c</sup>	۳۰ <sup>c</sup>	۳۱ <sup>c</sup>	۳۸ <sup>c</sup>
O.M (%)	۱/۹۴ <sup>a</sup>	۱/۷ <sup>a</sup>	۲/۲۵ <sup>a</sup>	۰/۳۶ <sup>a</sup>	۲/۵۰ <sup>a</sup>	۲/۰۲ <sup>a</sup>	۲/۲۶ <sup>a</sup>	۱/۴ <sup>a</sup>	۱/۱ <sup>a</sup>	۲/۳ <sup>a</sup>
نیترژن (%)	۴/۳۲ <sup>a</sup>	۱/۷۵ <sup>d</sup>	۴/۳۰ <sup>a</sup>	۴/۶۵ <sup>a</sup>	۳/۲۰ <sup>b</sup>	۲/۸۰ <sup>c</sup>	۵/۶۱ <sup>a</sup>	۳/۲ <sup>b</sup>	۲/۷۱ <sup>c</sup>	۵/۵۲ <sup>a</sup>
فسفر (mg/kg <sup>-1</sup> )	۲/۴ <sup>a</sup>	۳/۲ <sup>a</sup>	۲/۵ <sup>a</sup>	۲/۳ <sup>a</sup>	۲/۲ <sup>a</sup>	۳/۱ <sup>a</sup>	۲/۵ <sup>a</sup>	۲/۸ <sup>a</sup>	۲/۲ <sup>a</sup>	۲/۱ <sup>a</sup>
پتاسیم (mg/kg <sup>-1</sup> )	۸۳ <sup>a</sup>	۸۶ <sup>a</sup>	۶۴ <sup>b</sup>	۶۶ <sup>b</sup>	۵۳ <sup>c</sup>	۶۳ <sup>b</sup>	۶۰ <sup>b</sup>	۵۸ <sup>c</sup>	۶۱ <sup>b</sup>	۸۷ <sup>a</sup>
سدیم (mg/kg <sup>-1</sup> )	۲۴۴ <sup>a</sup>	۲۰۷ <sup>c</sup>	۲۳۱ <sup>b</sup>	۲۴۵ <sup>a</sup>	۲۳۰ <sup>b</sup>	۲۳۴ <sup>b</sup>	۲۳۰ <sup>b</sup>	۲۰۸ <sup>c</sup>	۲۱۲ <sup>c</sup>	۲۵۲ <sup>a</sup>

EC<sub>e</sub> (۱:۲)، pH، CaCO<sub>3</sub>، O.M. به ترتیب قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع، pH عصاره ۲ به ۱ آب به خاک، کربنات کلسیم معادل و ماده آلی خاک هستند. داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار در هر نمونه ارائه شده است. حروف کوچک نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین مکان‌های مختلف مطابق با آزمون توکی می‌باشد (P<0.05).

آنالیز آماری با استفاده از آزمون توکی (Tukeys) نشان داد که تفاوت اندکی در ساختار پارامترها و مقدار کربنات کلسیم معادل (CaCO<sub>3</sub>) در هر بخش وجود دارد. با توجه به اینکه خاک جمع‌آوری شده مورد مطالعه از مناطق مختلف شهرستان گنبد واقع در استان گلستان بود، مشخص گردید که مناطق با رشد گسترده دنیلان صحرایی و پوشش گیاهی میزبان، عمدتاً دارای بافت شنی و لومی-شنی، pH قلیایی، ماده آلی (O.M) کم و کربنات کلسیم معادل بالایی هستند. نتایج آنالیز نمونه‌های خاک مناطق مختلف دارای دنیلان صحرایی (*T.claveryi*) نشان داد که در ساختار خاک و میزان آهک اختلاف کمی وجود دارد و

غالب خاک‌های جمع‌آوری شده بازی (قلیایی)، غیر شور، با میزان مواد آلی کم، شنی و میزان آهک بالا هستند.

خاک ناحیه ریزوسفر معمولاً به علت دفع و ترشحات عصاره ریشه که حاوی ترکیبات نیتروژنی و کربنی می‌باشد، دارای تعداد قارچ بسیار بیشتری نسبت به خاک‌های بدون پوشش گیاهی هستند (Massaccesi et al., 2015). این موضوع در تحقیق حاضر نیز مشهود بود. از طرفی خاک اطراف اندام بارده دنبلان *T. claveryi* نسبت به خاک ریزوسفر گیاه گل آفتابی *H. ledifolium* دارای تعداد زیادی پرگنه قارچ بودند. نتایج به دست آمده نشان‌دهنده این واقعیت است که اندام بارده دنبلان‌ها مواد مغذی بیشتری را نسبت به ریشه گیاه *H. ledifolium* به خارج از پوسته اندام بارده به صورت مواد بخارزا (فرار) دفع می‌کنند که جاذبه زیادی برای سایر عوامل فعال میکروبی در زیست‌بوم خاک دارد. این دسته از ترکیبات شیمیایی اکولوژیکی که امروزه به عنوان متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها (مانند ترپن‌ها و سیسکوئیدی‌ترین) مطرح می‌باشند، اغلب به صورت رایحه معطر و آروماتیک هستند (Shahiri et al., 2016). به عبارتی وجود بیشترین تعداد قارچ‌ها در سطح اندام بارده دنبلان ناشی از غنی بودن آن‌ها از انواع مواد مغذی مختلف می‌باشد (Slama et al., 2012). از طرفی نتایج بررسی مشخص نمود که تعدادی از قارچ‌های جداسازی شده از سطح اندام بارده قارچ دنبلان *T. claveryi* (مانند جنس‌های: *Fusarium*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus* و *Cladosporium*) پتانسیل تشکیل زهرابه‌هایی چون آفلاتوکسین و اکراتوکسین را دارند و ممکن است از طریق مصرف دنبلان سلامتی انسان را تهدید نمایند (Mohawed et al., 2001). بنابراین وجود گونه‌های متنوع در بیومس میکروبی خاک با این قارچ‌ها نشان از توانایی‌های مختلف این قارچ در برهم کنش با محیط اطراف می‌باشد؛ زیرا ثابت شده است که برخی از این قارچ‌ها مانند جنس *Fusarium* در شرایط خشکی تحمل بیشتری نسبت به جنس‌های *Aspergillus* و *Penicillium* داشته و در خاک‌های ریزوسفری سازگارتر هستند. در حالی که جنس *Rhizopus* با شرایط پوده زیستی از جمله قارچ‌هایی بوده که در تجزیه بقایا و استفاده از منابع کربوهیدرات با برهم کنش مواد آلی خاک پیش‌تاز هستند. با این وجود در تحقیقی که در سال ۱۹۸۶ در انگلیس صورت گرفت به اهمیت بیومس میکروبی به‌عنوان منبع اصلی نیتروژن برای گیاهان حامل میکوریزا اشاره و یکی از علل اصلی دفع سایر آلودگی‌های ناشی از قارچ‌های بیمارگر و آفات در زیرزمین برای این قارچ‌ها بیان نمودند (Abuzinadah et al., 1986). آکیوز و همکاران (Akyuz et al., 2012) در تحقیقات خود پی بردند که در شرایط میکوریزایی، بالاترین میزان جذب مواد

مغذی از خاک به علت فعالیت آنزیم‌های خاص جذب‌کننده در گیاه میکوریز است. با توجه به داده‌های به دست آمده از جدول ۳ مشخص می‌شود که میزان پتاسیم به‌مراتب نسبت به نیتروژن و فسفر بیشتر بوده که یکی از دلایل قابل توجه، ایجاد شرایط میکوریزایی و جذب فعال ریشه گیاهان میزبان می‌باشد (Slama et al., 2012). آن‌ها بیان نمودند که در اکوسیستم‌های مدیترانه‌ای نیز خاک‌ها به‌طور کلی دارای فسفر ضعیفی هستند و این شرایط اکوسیستمی موقعیت‌های میکوریزایی مناسبی را برای تغذیه و زنده‌مانی گیاهان مفید فراهم نموده است و هر گونه‌ی قارچ با میزبان، نیازهای بوم‌شناختی ویژه‌ای دارد. در این بررسی نیز مشهود بود که میزان فسفر در تمام مناطق مورد مطالعه نسبت به داده‌های مورد انتظار کمتر می‌باشد؛ که شرایط زیستی مناسبی را در اکوسیستم‌های بیابانی برای همزیستی و سازگاری بهتر بین میکوریز به صورت الگوی طبیعی جهت تکثیر دنبان صحرایی همراه با ریشه گیاه گل آفتابی و قارچ *T. claveryi* نشان می‌دهد. از آنجایی که این گونه از خاک‌های بیابانی، بکر بوده و تحت کشت زراعی نیز نبوده‌اند شرایط مطبوعی را برای همبستگی رشد قارچ و ریشه فراهم نموده است. از سوی دیگر هرگونه افزایش فسفر در خاک موجب ایجاد شرایط سمی و عدم فراهم شدن سامانه مناسب میکوریز می‌گردد. به عبارتی وجود رابطه میکوریزو همزیستی منجر به تغذیه و زنده‌مانی گیاهان حتی در تنش خشکی و کمبود مواد مغذی شده است. همچنین تنش خشکی در گیاهان میکوریز منجر به تجمع بیشتر نیتروژن و پتاسیم شده و قارچ‌های میکوریز می‌توانند توانایی جذب آب و کارایی مصرف آب در گیاهان میزبان را تحت تأثیر قرار دهند (Querejeta et al., 2003). این شرایط زیست‌بوم نشان می‌دهد که برای فعالیت سامانه میکوریز لازم است به شرایط موجود در منطقه به عنوان الگوی تکثیر دنبان صحرایی در آینده بیشتر توجه نمود تا بین نحوه ازدیاد میکوریز افزون بر عوامل آب و هوایی مانند رطوبت با تلفیق سایر عوامل تغذیه‌ای گیاه و عناصر موجود در خاک تعادل برقرار نمود. این داده‌ها ما را قادر می‌سازد تا ارتباط بین سامانه مختلف زیستی در محیط طبیعی مانند جانوران، گیاهان، قارچ‌ها و تنش‌های خشکی را با دلایل کاهش همزیستی میکوریز در آینده بیشتر درک نموده و نحوه مدیریت اکوسیستم بیابانی را از طریق حفاظت خاک و جلوگیری از آلودگی خاک توسط کودهای شیمیایی به دست آورد؛ زیرا کودهای فسفوری به طور کلی میزان قارچ‌های میکوریز همزیست با ریشه گیاهان را کاهش می‌دهند. به طوری که پر محصول‌ترین محل پرورش دنبان‌ها در کشور زلاندنو نقاطی بوده است که میزان فسفر قابل دسترس برای گیاه کم باشد (Renowden, 2005)؛ بنابراین موقعیت اکوسیستم بیابانی در نواحی صحرایی مورد مطالعه در این بررسی

و نتایج حاصل، الگوی مناسبی را برای طرح‌های آینده با آزمایش‌های بیشتری در ارتباط با شرایط زیستی برای قارچ دنبلان مطرح می‌سازد.

#### منابع

- Abuzinadah, R.A., Finlay, R.D., Read, D.J. 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. II Utilization of protein `mycorrhizal plants of *Pinus contorta*. *New Phytologist*, 103: 495–506.
- Akyuz, M., Kirbag, S., Kursat, M. 2012. Ecological aspects of the arid and semi-arid truffle in Turkey: evaluation of soil characteristics, morphology, distribution and mycorrhizal relationships. *Turkey Journal Botany*, 36: 386-391.
- Alsheikh, M., Trappe, J. 1994. Keys to the genera of Truffles (Ascomycetes). USDA, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, 18p.
- Barnett, L., Hunter, B. 2006. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourthen edition. APS, U.S. 218 p.
- Benton, J., Case, V.W. 1990. Sampling handing and analyzing plant tissue samples. In: Westerman, R.L. (ed.). *Soil testing and plant analysis*. 3ed. Book series No.3. *Soil Sci*, 389- 428.
- Boulois, H.D., Joner, E.J., Leyval, C., Jakobsen, I., Chen, B.D., Roos, P., Thiry, Y., Rufyikiri, G., Delvaux, B., Declerck, S. 2008. Role and influence of mycorrhizal fungi on radiocesium accumulation by plants. *Journal of Environment. Radioact*, 99: 785–800.
- Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal*, 54: 464–465.
- Diez J., Manjo's, J.M., Martin, F. 2002. Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance. *Mycologia*, 94(2): 247–259.
- Dogan, H., Aydin, S. 2013. Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffle in Turkey. *African Journal Complement Medical*. 10(4): 52-58.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous hypomycetes*. CMI, Kew, 608 p.
- Ershad, D. 2009. *Index of fungi in Iran*. Agricultural Research center organization, Ministry of Jahad, Agriculture. Tehran- Iran. 857p.
- Habibi, R., Rahnema, K., Asef, M.R. 2017. Mycoflora of *Helianthemum ledifolium* roots symbiosis of *Terfezia clavaryi* in Golestan province. 3rd Iranian Mycological Congress, 26-28 August, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

- Habibi Bibalani, Ch., Joudi, L., Shadkami-Til, H. 2011. Stem biomass of *Helianthemum ledifolium* in Zanjan, Iran, International Journal of Academic Research, 3(2), 411-415.
- Hansen, K., Lassoë, T. 2007. Truffle trouble: what happened to the Tuberales. Mycologia Research, 3: 1075-1099.
- Jamali, S., Banihashemi, Z. 2012a. Fungal associated with ascocarps of desert truffles from different parts of Iran. Journal of Crop Protection, 1(1): 41-47.
- Jamali, S., Banihashemi, Z. 2012b. Host and distribution of desert truffles in Iran based on morphological and molecular criteria. Journal of Agricultural Science and Technology, 14(6): 1379- 1396.
- Kiffer, E., Morelet, M. 2000. The Deuteromycetes mitosporic fungi classification and generic keys. Science Publishers, 273 p.
- Laessoe, T., Hansen, K. 2007. Truffle trouble: what happened to the Tuberales?. Mycological Research, 3: 1075- 1099.
- Massaccesi, L., Benucci, G.M.N., Gigliotti, G., Cocco, S., Corti, G., Agnelli, A. 2015. Rhizosphere effect of three plant species of environment under periglacial conditions (Majella Massif, central Italy). Soli Biology & Biochemistry, 89: 184-195.
- Mohawed, S.M., Badran, R.A.M., El-Kholy, H. 2001. Incidence of fungal species naturally occurring in truffle resources. Egypt. Journal of Microbiology, 36(1): 1-17.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. Physiology of Plant, 15: 473-497.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. 1978. *Fusarium* species an illustrated manual for identification. 201p.
- Olsen, S.R.C. Cole, V., Watanabe, F.S., Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA. Cir. 939, US Govern. Printing office, Washington. DC.
- Page, A.L., Miller, R.H., Jeeney, D.R. 1992. Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and mineralogical properties. SSSA Pub., Madison. 1159 p.
- Polidori, A., Turpin, B.J., Davidson, C.I., Rodenburg, L.A., Maimone, F. 2008. Organic PM2.5: fractionation by polarity, FTIR spectroscopy, and OM/OC ratio for the pittsburgh aerosol. Aerosol Science and Technology, 42: 233-246.
- Querejeta, J.I., Egerton-Warburton, L.M., Allen, M.F. 2003. Direct natural water transfer from oaks to their mycorrhizal symbionts during severe soil drying. Oecologia, 134: 55-64.
- Renowden, G. 2005. The Truffle Book. Limestone Hills Publishing, Amberley, New Zealand.

- Rechinger, K.H. 1967. Flora Iranica. No. 46, *Cistaceae*. Graz, Austria: Akademische Druck, 8 p.
- Rhodes, J.D. 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved soils. P. 417-436. In. D. L. Sparks et al., (ed.) Method of soil analysis. Part3., SSSA, ASA, Madison WI, 417- 435.
- Shahiri Tabarestani, M., Rahnama, K., Jahanshahi., M., Nasrollanejad., S., Fatemi., M.H. 2016. Identification of volatile organic compounds of *Trichoderma* spp. using static headspace gas chromatography-mass spectrometry. *Mycologia Iranica*, 3(1): 47-55.
- Sbissi, I., Neffati, M., Murat, C., Gtari, M. 2010. Phylogenetic affiliation of the desert truffles *Picoajuniper* and *Picoalefevrei*. *Antoni Van Leeuwenhoek*, 98(4): 429-436.
- Slama, A., Gorai, M., Fortas, Z., Boudabous, A., Neffati, M. 2012. Growth, root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. Inoculated with a desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19: 25-29.
- Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the degtareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37: 29-38.