مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۴، شماره ۱، ۱۳۹۲ (۸۰-۷۱)

شناسایی و بیماریزایی گونه‌های فوزاریوم مرتبط با ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی در منطقه‌ی مرودشت

جهانشیر امینی[1*]، مرضیه کاظمی[2]، جعفر عبداله زاده[3] و مصطفی درویش نیا[4]
۱، ۲ و ۳ دانشیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان،
۴، استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه لرستان
(تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۳ - تاریخ تصویب: ۹۱/۱۲/۱)

چکیده

در طول فصول زراعی ۱۳۸۹-۱۳۸۸ ضمن بازدید از مناطق کشت گوجه فرنگی در شهرستان مرودشت، در مجموع ۹۶ جدایه فوزاریوم از ریشه، طوقه و ساقه گوجه فرنگی جمع آوری شد. جدایه های فوزاریوم بر اساس مطالعات مورفولوژیکی با استفاده از منابع معتبر شناسایی گردیدند. در این مطالعه گونه های *F. equiseti*، *F. solani*، *F. pseudoanthophilum* و *F. oxysporum* بترتیب با فراوانی۱۰/۴، ۴۷/۹، ۱۸/۷۵و ۲۲/۹ درصد جداسازی شدند. گونه *F. equiseti* با ۱۰ و گونه *F. solani* با ۴۶ جدایه به ترتیب کمترین و بیشترین فراوانی را داشتند. نتایج بیماریزایی جدایه ها با دو روش مایه زنی ریشه (Root dip) در سوسپانسون اسپور قارچ بمدت سه دقیقه و اضافه کردن زاد مایه دانه های گندم آلوده به خاک در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS نشان داد که همه گونه ها بجز گونه *F. pseudoanthophilum* بیماریزا بوده و باعث پوسیدگی ریشه، طوقه و زردی و پژمردگی در گیاه گوجه فرنگی شدند، بطوریکه بین گونه‌ها از نظر بیماریزایی اختلاف معنی داری در سطح ۱٪ وجود داشت. نتایج آزمون تعیین فرم اختصاصی دو گونه *F. oxysporum* و *F. solani* روی گیاهان مختلف به ترتیب نشان داد که جدایه *F. oxysporum* صرفا روی گوجه فرنگی ایجاد پژمردگی، زردی و نکروز ساقه می کند و تحت عنوان *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* نام گرفت. در صورتیکه *F. solani* علاوه بر گوجه فرنگی روی نخود، تاج خروس و بادام زمینی باعث پوسیدگی ریشه و طوقه شده و قارچ مذکور از آنها مجددا جداسازی شد.

واژه های کلیدی: پوسیدگی ریشه، پژمردگی، نخود، تاج خروس، دانه های گندم

مقدمه

گوجه‌فرنگی زراعی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) یکی از پر مصرف‌ترین و مشهورترین سبزی‌جات در جهان می‌باشد. این گیاه نیز مانند سایر گیاهان در معرض خطر آفات، بیماری‌های گیاهی، رقابت با علف‌های هرز و شرایط نامساعد محیط قرار می‌گیرد (Jones *et al*., 1991). از جمله عوامل بیمارگر گیاهی، می‌توان به قارچ‌های بیماریزای گیاهی به ویژه گونه‌های فوزاریوم اشاره کرد (Howard, 2005). گونه‌های مختلف این جنس در گیاهان علائم متفاوتی از جمله پوسیدگی ساقه، انسداد آوندها و پژمردگی، پوسیدگی ریشه، شانکر، لکه برگی، پوسیدگی‌های انباری و پوسیدگی‌های میوه پس از برداشت ایجاد می‌کنند (Vakalounakis, 1996). علاوه بر این، برخی از گونه‌های فوزاریوم قدرت تولید و ترشح مایکوتوکسین های مختلف را دارند که برای سلامت انسان و دام ضرر دارند (Chibundu *et al*., 2008). گونه‌های فوزاریوم می توانند از طریق بذر، خاک و علف های هرز منتقل و قادر هستند در اقلیم‌های مختلف زندگی کنند (Nur Ain Izzati *et al*., 2011; Latiffah *et al*., 2009).

این قارچ می تواند درخاک بصورت ساپروفیت و بوسیله میسلیوم و یا اسپور های مقاوم دوام و بقاء خود را حفظ

* نویسنده مسئول: جهانشیر امینی تلفن: ۰۹۱۸۸۷۲۳۵۶۳ E-mail: aminij2002@yahoo.com

کنـــد (Leslie & Summerell, 2006). گـــونـــه هـــای *F. solani*، *F. oxysporum*، *F. moniliforme*، *F. chlamydosporum* از گیاه گوجه فرنگی جداسازی و شناسایی گردید (Rozlinah & Sariah 2010). نژاد یک قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* در مزارع گوجه فرنگی در کردستان شناسایی شد (Amini, 2009). با توجه به سطح زیر کشت گوجه‌فرنگی در شهرستان مرودشت استان فارس و مساعد بودن شرایط محیطی از جمله اسیدیته خاک، باقی ماندن بقایای گیاهی سال قبل در مزرعه برای بروز خسارت بیماریهای فوزاریومی گوجه فرنگی این تحقیق ضرورت پیدا کرد و هدف از انجام آن پراکنش و شناسایی گونه های فوزاریوم و تعیین قدرت بیماریزایی آنها و همچنین تعیین دامنه میزبانی آنها است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

نمونه‌برداری از مزارع گوجه فرنگی در سال های ۱۳۸۸ و ۸۹ از مناطق مختلف شهرستان مرودشت شامل سیوند، مردوشت، فتح آباد، فاروق، ابرج، رامجرد، پاسارگاد و کوشکک به فاصله ۸-۵ کیلومتری بصورت تصادفی در دو مرحله گیاهچه و گیاه کامل صورت گرفت. از هر مزرعه گوجه فرنگی ۸-۶ بوته که دارای علایم زردی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه بودند با بیلچه از خاک خارج و در پاکت های کاغذی به آزمایشگاه منتقل شدند.

جدا سازی و خالص سازی نمونه ها

برای جداسازی جدایه های فوزاریوم از بافت‌های ریشه، طوقه و ساقه قطعات ۳-۲ میلی متری تهیه گردید. قطعات مذکور پس از شستشو با آب معمولی در محلول هیپو کلریت سدیم نیم درصد بمدت ۲-۱ دو دقیقه ضدعفونی و سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو و روی کاغذ صافی سترون خشک گردید. در هر تشتک پتری ۵-۴ قطعه روی محیط های غذایی Potato Dextrose Agar (PDA) و Special Nutrient Agar (SNA) قرار داده و در دمای ۲۶-۲۴ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند (Nash and Snyder, 1962). برای اسپوزایی قارچ، جدایه ها روی محیط غذایی CLA (Carnation leaf Agar)کشت و زیر نور NUV وادار به اسپور دهی شدند و با استفاده از محیط کشت آب آگار دو درصد به روش نوک ریسه و تک اسپور خالص سازی شدند.

تشخیص گونه های فوزاریوم

به منظور تشخیص گونه های فوزاریوم از محیط های کشـــت SNA، CLA و KCL-Agar جهـــت تـولیـد اسپوردوکیوم، ماکروکنیدیومها، کلامیدوسپـور و زنجیـره میکـروکنیدیوم هـا استفـاده گـردیـــد (Mohammadi & Banihashemi, 2005). در این پژوهش تشخیص کلیه جدایه‌ها بر اساس ویژگی‌های ظاهری آنها انجام شد. برای تشخیص گونه ها از کلید های شناسایی و مقالات منتشر شـده استفـاده گردیـــد (Nelson *et al*., 1983; Leslie & Summerell, 2006; Gerelach & Nirenberg 1982; Mohammadi & Banihashemi, 2005) . برای اندازه گیری کنیدی ها و اسپورهای قارچ از عدسی مدرج استفاده شد و ۱۰۰ اسپور بررسی و اندازه آنها یاداشت و میانگین آن محاسبه گردید.

تهیه گیاهچه های گوجه فرنگی جهت مایه زنی

بذور گوجه فرنگی رقم Beliynalive - 241 به مدت پنج دقیقه با هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضدعفونی و سه بار با آب مقطر سترون شستشو داده شد. سپس بذور در گلدانها کشت و در دمای ۲۵°C و رطوبت ۷۰ درصد در گلخانه نگهداری شدند.

مطالعات بیماریزایی

تهیه زاد مایه بیمارگر و مایه زنی گیاهان

در شرایط *In-vitro* برای تهیه زاد مایه قارچ به دو روش زیر عمل شد ۱- آلوده کردن بذور گندم به قارچ عامل بیماری با استفاده از روش وسترلاند و همکاران (Westerlund *et al*., 1974). در این روش ۲۰۰ گرم دانه گندم داخل ارلن نیم لیتری ریخته و ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر سترون به آن اضافه کردیم و آن را در دمای اتاق ۲۴ ساعت نگهداری شد تا آب در بذر نفوذ کند. بعد درب ارلن ها را با پنبه و فویل آلومینیوم پوشانده و دو بار ، هر بار به مدت ۳۰ دقیقه درون اتوکلاو و به فاصله ۲۴ ساعت در دمای ۱۲۱°C و فشار ۱/۱ اتمسفر سترون شد. بعد از خارج کردن ظرف ارلن ها از اتوکلاو و سرد شدن آنها، تحت شرایط سترون زیر هود، از هر جدایه پنج قطعه از حاشیه کشت ۷ روزه جدایه های قارچ روی CLA به ارلن های حاوی گندم اتوکلاو شده اضافه شد. ظروف ارلن ها سه هفته در

انکوباتور با دمای ۲۴°C نگهداری شدند و هر چند روز یکبار آنها را تکان داده تا مایه قارچ درون ارلن ها بصورت توده بهم چسبیده در نیایند. سپس خاک اطراف ریشه گیاهچه های گوجه فرنگی در مرحله ۳-۲ برگی کنار زده شد و در اطراف طوقه و ریشه هر بوته پنج عدد بذر کلنیزه شده گندم با جدایه های قارچ قرار داده شد و خاک اطراف بوته ها دوباره به جای خود و روی بذور ریخته شد.

گلدانها در دمای °C ۲۶-۲۴، رطوبت ۷۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. ۲- تهیه سوسپانسیون اسپور: جهت تهیه سوسپانسیون اسپور هر کدام از جدایه های قارچ در لوله های آزمایش روی محیط CLA کشت و بمدت دو هفته در دمای ۲۴°C در اتوکلاو نگهداری شدند. سپس به هر لوله آزمایش ۲۰ میلی لیتر آب مقطر سترون اضافه و کاملا تکان داده شد تا کنیدیوم ها جدا گردد. شمارش اسپور ها توسط هماسیتومتر انجام گردید. غلظت ۱×۱۰^{۶} اسپور در میلی لیتر برای مایه زنی استفاده شد (Banihashemi, 1968). گیاهچه های گوجه فرنگی در مرحله ۳-۲ برگی به آرامی از گلدان خارج شدند، بطوریکه آسیبی به ریشه ها وارد نشود. سپس ریشه گیاهچه ها بمدت سه دقیقه در سوسپانسیون اسپور (Root dip) قرار داده و بعد از آن در گلدانهای که یک روز قبل آبیاری شده بودند نشاء شدند.

ریشه گیاهچه های شاهد نیز در همان زمان با آب مقطر سترون قرار داده شد. کلیه گلدانها در گلخانه در دمای °C ۲۶-۲۴، رطوبت ۷۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری و هر روز از گلدانها بازدید و پیشرفت علایم بیماری از قبیل زردی و پژمردگی و پوسیدگی اندام های آلوده شده یاداشت برداری گردید. در هر دو روش هر تیمار شامل چهار تکرار و هر تکرار شامل سه گیاه بود.

تعیین دامنه میزبانی و فرم اختصاصی قارچ *F. oxysporum* و *F. solani*

جهت بررسی فرم اختصاصی دو قارچ بیماریزای فوق روی گوجه فرنگی، جدایه های که روی گوجه فرنگی بیماریزا بودند انتخاب و با استفاده از روش کیستلر (Kistler, 2001) دامنه میزبانی تعیین گردید.

جهت تعیین دامنه میزبانی قارچ *F. oxysporum*، گیاهانی از شش خانواده گیاهی مختلف شامل گوجه‌فرنگی (*Lycopersicom esculentum* Mill.) رقم Beliynalive - 241، گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم مرودشت، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) رقم لوبیا چیتی، نخود (*Cicer arietinum* L.) رقم کاکا، ریحان (*Ocimum basilicum* L.) رقم سبز، تاج خروس وحشی معمولی (*Amaranthus retroflexus* L.) و طالبی (*Cucumis mello* L.) رقم سبز ورامین انتخاب شدند. بعد از مایه‌زنی قارچ به روش مایه زنی ریشه با سوسپانسیون اسپور، گیاهان روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و پس از گذشت ۴۰ روز بررسی علائم بیماری و یادداشت برداری صورت گرفت. همچنین جهت تعیین دامنه میزبانی قارچ *F. solani* از گیاهان نخود رقم کاکا، بادام زمینی (*Arachis hypogea* L.) رقم محلی گرگان، گوجه‌فرنگی رقم Beliynaliv- 241، و تاج خروس وحشی معمولی استفاده شد. پس از این که گیاهان به مرحله دو تا چهار برگی رسیدند آنها را با سوسپانسیون تهیه شده از گونه *F. solani* مایه‌زنی و پس از گذشت ۴۰ روز علائم بیماری بررسی ویادداشت برداری صورت گرفت.

ارزیابی بیماری

بعد از ۵۰ روز از مایه زنی بوته ها توسط جدایه های قارچ شدت بیماری در بوته های آلوده گوجه فرنگی با استفاده از روش فوتاسون (Phoutthasone *et al*., 2010) بشرح زیر ارزیابی گردید:

۱، بدون علایم بیماری؛ ۲، ۲۰-۱ درصد زردی و پژمردگی بوته ها؛ ۳، ۴۰-۲۱ درصد زردی و پژمردگی؛ ۴، ۶۰-۴۱ درصد زردی و پژمردگی؛ ۵، ۸۰-۶۱ درصد زردی و پژمردگی؛ ۶، ۱۰۰-۸۱ زردی و پژمردگی بوته ها بعد از پایان آزمایش مجددا قطعات ریشه، طوقه و ساقه از هر نمونه شستشو، ضدعفونی و روی محیط غذایی PDA جهت جداسازی مجدد قارچ کشت داده شد.

تجزیه و تحلیل داده ها

طرح آماری مورد استفاده در این آزمایش طرح کامل تصادفی بود که برای هر تیمار ۴ تکرار (هر تکرار شامل یک گلدان و در هر گلدان سه گیاهچه کشت گردید) و

یک تیمار شاهد در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده ها و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD و نرم افزار SAS انجام گردید.

نتایج و بحث

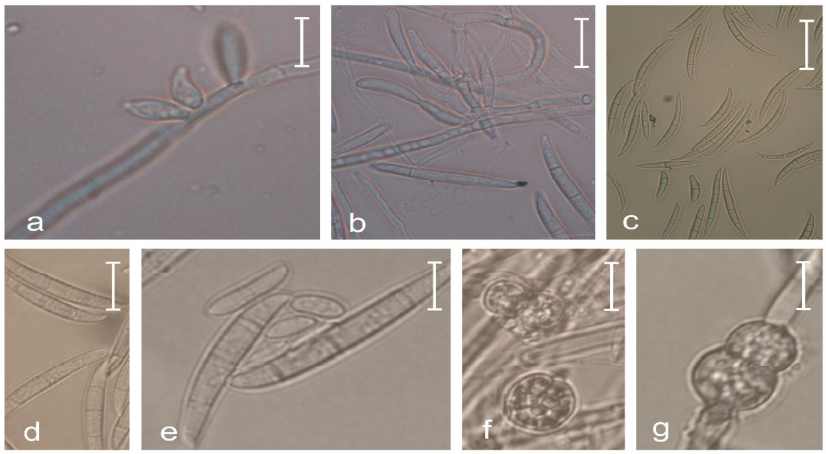
جداسازی و شناسایی جدایه ها

از مجموع ۹۶ جدایه به دست آمده از مناطق مختلف منطقه‌ی مرودشت که مورد بررسی تاکسونومیکی قرار گرفتند، ۴۶ جدایه *F. solani*، ۲۲ جدایه *F. oxysporum*، ۱۸ جدایه *F. pseudoanthophilium* و ۱۰ جدایه *F. equiseti* تشخیص داده شدند. گونه *F. equiseti* با ۱۰,۴ درصد و گونه *F. solani* با ۴۷,۹ درصد به ترتیب کمترین و بیشترین فراوانی را داشتند.

مشخصات گونه های جدا شده و بیماریزایی

گونه *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen از این گونه ۲۲ جدایه از مناطق گوجه‌کاری منطقه‌ی مرودشت جمع آوری و شناسایی شد. رنگ سطح زیرین پرگنه روی محیط کشت PDA متنوع و از سفید تا بنفش تیره متغیر بود. میزان رشد پرگنه روی محیطPDA بعد از 10 روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ۷/۴ تا ۸/۵ سانتیمتر بود. پرگنه پنبه‌ای و دارای میسلیوم هوایی فراوان و در برخی جدایه‌ها به مقدار کم تشکیل شده و به رنگ سفید تا سفید مایل به بنفش و در مرکز به صورت سفید مایل به بنفش تیره بود. کنیدیوفورهای این گونه به صورت منوفیالید ساده و منشعب که معمولاً کوتاه هستند. اندازه منوفیالیدها (۱۵-) ۵ /۱۴- ۸/۵ (-۸)× (۳-) ۳-۲ (-۲/۵) میکرومتر بود. میکروکنیدیوم در این قارچ به وفور و به‌صورت یک تا دوسلولی و به اشکال تخم‌مرغی، بیضوی و قلوه‌ای تشکیل شده و اندازه آنها (۲۲-)۱۵ - ۴ (-۴)× (۳-) ۳-۲/۵ (-۲/۲) میکرومتر بود. ماکروکنیدیوم‌های سیلندری شکل و کمی خمیده و نوک تیز و به فراوانی در اسپورودوخیوم‌های نارنجی رنگ تشکیل شدند و در برخی جدایه‌ها به مقدار کم تولید شدند. ماکروکنیدیوم‌ها در دو انتها کمی باریک شده، سلول انتهایی مقداری خمیده و کمی نوک تیز و سلول پایه پاشنه‌ای شکل و نسبتاً ساقه‌دار است.

غالباً سه بندی و گاهی چهار تا پنج بندی هستند. اندازه کنیدوم های سه بندی (۴۸-) ۴۵- ۲۶ (-۲۹)× (۶/۱-) ۵-۲/۵ (-۲/۳) میکرومتر بود.کلامیدوسپورهای ریسه‌ای و کنیدیومی روی محیط PDA و CLA به فراوانی و به صورت منفرد، جفتی با سطح صاف تشکیل شدند (شکل ۱).



شکل۱- *Fusarium oxysporum*: a و b منوفیالید، c و d ماکروکنیدیوم، e ماکرو و میکروکنیدیوم، f و g کلامیدوسپور. مقیاس ۱۰ میکرومتر

مشخصات این جدایه ها با مشخصات گونه *F. oxysporum* مطابقت داشت (Leslie & Summerell 2006; Nelson et al., 1983). گونه‌ی *F. oxysporum* از نظر تولید کلامیدوسپور و گاهی رنگ پرگنه شبیه گونه‌های *F. solani*، *F. subglutinans* و *F. redolans* است که تشخیص این گونه را کمی مشکل می‌سازد. وجود فیالدهای کوتاه، نحوه رشد و رنگ پرگنه، این گونه را از *F. solani* متمایز می کند (Gerlach &

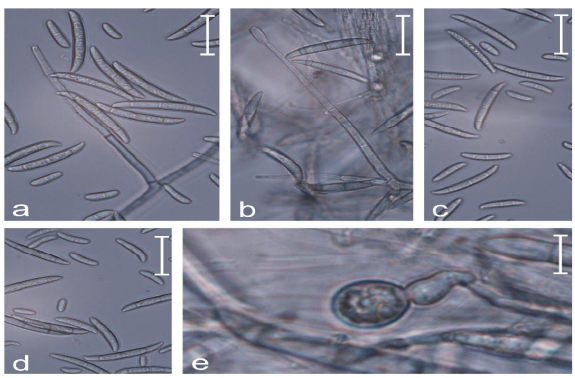
Nirenberg, 1982; Nelson *et al*., 1983). بیشترین مطالعات و تحقیق در مورد این گونه به لحاظ اهمیت اقتصادی و پراکنش جغرافیایی صورت گرفته است و سبب بیماری‌های مختلفی از جمله پژمردگی، انسداد آوندی زردی برگها در گیاهان می‌شود و توسط عوامل مانند باد، خاک، بذور و مواد آلوده گیاهی منتشر شود (Leslie & Summerell 2006).

F. oxysporum یکی از مهمترین گونه‌های تغییر پذیر در بین گونه‌های فوزاریوم است. این گونه یک بیمارگر گیاهی خاکزاد با سطح انتشار وسیع می‌باشد (Bogale *et al*., 2006). بیماری پژمردگی فوزاریومی در گیاهان مربوط به خانواده بادمجانیان از اهمیت خاصی برخوردار بوده و معمولاً علائم آن در برگ‌های پایینی به صورت زردی مشاهده می‌شود. علت آن استقرار قارچ در آوندها یا پوسیدگی ساقه و ریشه می‌باشد. در ایران گونه *F. oxysporum* برای اولین بار توسط فصیحیانی از مزارع گوجه فرنگی استان هرمزگان جداسازی و گزارش کرد (Ershad, 2009; Fassihiani, 1985).

همچنین این قارچ از ساقه گوجه فرنگی در مزارع گوجه فرنگی در شهرستان ورامین جداسازی و باعث پژمردگی و زردی این گیاه شد (Etebarian, 1992). علایم بیماری پس از دو هفته از مایه زنی مشاهده و بصورت زردی و پژمردگی برگها ظاهر شد و سرانجام بوته ها کوتوله و آوندها بصورت قهوه ای و نکروز درآمدند. علایم بیماری با نتایج امینی (Amini, 2007) مطابقت داشت. قارچ مجددا از ساقه گیاهان آلوده جداسازی گردید.

گونه *Fusarium solani* (Martius) Appel &Wollenweber emend. Snyder & Hansen میزان رشد پرگنه این قارچ روی محیط PDA بعد از ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ۷/۵ تا۸/۵ ساتیمتر بود. رنگ سطح زیرین پرگنه روی محیط کشتPDA سفید مایل به کرم تا آبی تیره مایل به بنفش و در برخی جدایه‌ها زرد مایل به کرم و دارای میسلیوم هوایی فراوان و به صورت پنبه‌ای و گاهی کم پشت که مماس با سطح محیط کشت رشد می کند و به رنگ سفید تا سفید مایل به بنفش و در مرکز به صورت آبی مایل به تیره تا بنفش می‌باشد. کنیدیوفورهای این گونه به صورت منوفیالید ساده و منشعب که معمولاً بلند هستند و اندازه آنها (۴۰-) ۳۸- ۱۷ (-۱۵)× (۳-) ۳/۷-۲/۵ (-۲) میکرومتر می‌باشند. میکروکنیدی‌ها در این قارچ فراوان و در برخی جدایه ها کم و یک تا دو یاخته ای و اندازه آنها (۴/۷-) ۵- ۳ (-۲)× (۱۳-) ۱۱-۷ (- ۸) میکرومتراست. ماکروکنیدی‌ها به فراوانی در اسپورودوخیوم‌های نارنجی تا کرم رنگ تشکیل و خمیده و دارای انحنای مشخص و دیواره‌های نسبتاً ضخیم و در انتها باریک با یاخته انتهایی باریک وکشیده و یاخته پایه پاشنه‌ای شکل است.

غالباً چهار تا پنج بندی بوده و اندازه کنیدیوم های سه بندی (۵۹-) ۵۶- ۳۲ (-۳۰)× (۶-) ۵/۵-۳ (- ۴) میکرومتر است. کلامیدوسپورها روی محیط PDA و CLA به فراوانی و به صورت منفرد و جفتی با سطح صاف یا خشن تشکیل می‌شوند (شکل ۲).



شکل ۲- *Fusarium solani*: a و b منوفیالید، c و d میکرو و ماکروکنیدیوم، e کلامیدوسپور، مقیاس ۱۰ میکرومتر.

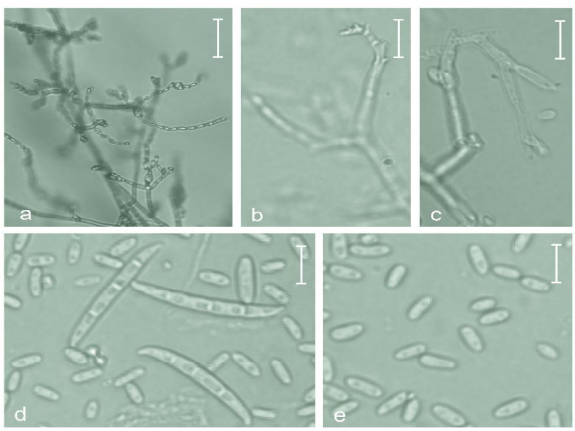
تمام خصوصیات جدایه‌های مورد بررسی با توصیف این گونه در منابع مطابقت داشت (Leslie & Summerell 2006; Summerell, 2006).

گونه‌ی *F. solani* از نظر نحوه تشکیل کلامیدوسپور، رنگ پرگنه و شکل ماکرو و میکروکنیدیوم شبیه *F. oxysporum* می‌باشد. این گونه با تولید فیالیدهای طویل، شکل ماکروکنیدیوم، دیواره کنیدیوم، رنگ پرگنه و نحوه رشد پرگنه از *F. oxysporum* متمایز می‌شود. بعضی از جدایه‌های این گونه هموتالیک بوده و به راحتی بارور می‌شوند و تولید مثل جنسی کرده که باعث تولید پریتسیوم‌های نارنجی متمایل به قرمز می‌شوند.

F. solani به عنوان عامل بیماریزا در تعدادی از لگوم‌ها، مرکبات، آوکادو، نخود فرنگی، ارکید، فلفل، سیب‌زمینی و بادمجان گزارش شده است. این گونه به عنوان یک گونه‌ی همه جا زی در سراسر جهان پراکنده و با سایر میکروارگانیزم‌ها در ارتباط می‌باشد (Burgess *et al*., 1994). این گونه تاکنون از گوجه فرنگی گزارش نشده است و گوجه فرنگی برای این گونه میزبان جدید است. علایم بیماری بعد از سه هفته بصورت زردی و پژمردگی برگهای پایینی ظاهر و بعد از مدتی برگهای بالایی هم شروع به زرد شدن کردند و دست آخر بوته ها خشک و براحتی از خاک کنده می شدند. علایم بیماری روی ریشه و طوقه بصورت پوسیدگی سیاه بود و تعداد ریشه های فرعی نیز کاهش پیدا کرد.

گونه *Fusarium pseudoanthophilum* Nirenberg, O'Donnell & Mubatanhem

میزان رشد پرگنه این قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ده روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ۸ سانتیمتر بود. رنگ ریسه‌های هوایی سفید متمایل به نارنجی و رنگ پرگنه از پشت تشتک لیمویی بود. سلول‌های کنیدیوم‌زا به صورت استوانه‌ای روی ریسه‌های هوایی به صورت منوفیالید و پلی فیالید منشعب تشکیل شدند که تقریباً ۲۵ میکرومتر طول داشتند. این گونه میکروکنیدی‌های تخم مرغی، گرزی، بیضی و گلابی شکل که غالباً تک سلولی بوده تولید می کنند که به صورت سر دروغین و زنجیره‌های کوتاه تشکیل می‌شوند. میکروکنیدیهای گلابی شکل و اندازه آنها ۶/۳ (۴/۵-) ۳/۲ × ۸ (۷-)۵/۵ میکرومتر بودند. ماکروکنیدی‌ها بسیار شبیه بخش لیزیولا بوده و دارای سه تا پنج بندی و سلول انتهایی پاشنه ای شکل و انتهای تیز دارند. ماکروکنیدی ها چهار سلولی۴ و اندازه آنها (۳-) ۲/۵ × ۵۳ (۴۵-) ۳۷ میکرومتر و اندازه ماکروکنیدیهای شش سلولی ۴ (۳-) ۳/۵ × ۷۱/۳ (۶۵-)۵۶ میکرومتر بود. در این گونه کلامیدوسپور به صورت زنجیری تشکیل می شوند (شکل ۳).



شکل ۳- *F. pseudoanthophilum*: a، زنجیره کاذب کنیدیوم و سر دروغین، b و c منو و پلی‌فیالید، d میکرو و ماکروکنیدیوم، e میکروکنیدیوم. مقیاس 10 میکرومتر.

تمام خصوصیات جدایه‌های مورد بررسی در آرایه *F. pseudoanthophilum* با توصیف‌های لزلی و سامرل (Leslie & Summerell, 2006) مطابقت دارد. این گونه از نظر تولید میکروکنیدی‌های گلابی شکل و انشعابات

سلول‌های کنیدیوم‌زا منوفیالید و پلی فیالید شبیه گونه *F. anthophilum* است. نتایج آزمون بیماریزایی نشان داد که جدایه های این قارچ قادر نیستند در مقایسه با سایر گونه های جدا شده در روی گوجه فرنگی علایم بیماری نشان دهند. در نتیجه ارزیابی بیماری بعد از دو ماه علایم قابل قبولی روی بوته های گوجه فرنگی مشاهده نشد.

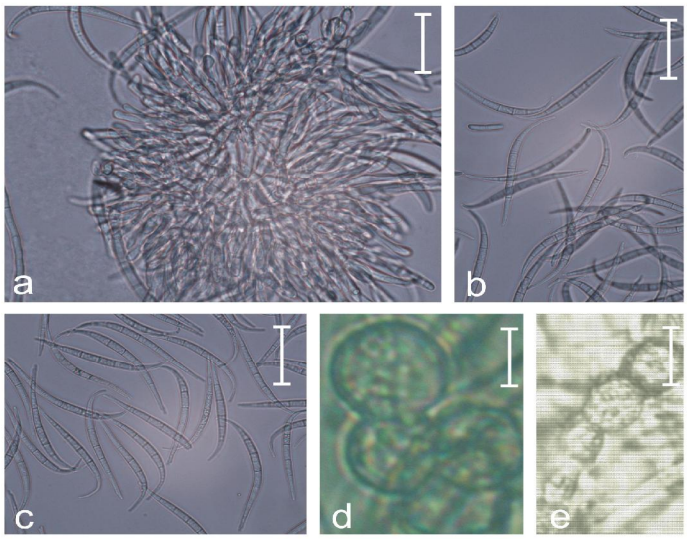
گونه *Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo

این قارچ میسلیوم‌های متراکم و یکنواخت تولید می‌کند و رنگ آنها معمولاً سفید تا قهوه‌ای روشن می‌باشد. قطر پرگنه نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بعد از ۱۰روز به ۶ تا ۸ سانتیمتر می‌رسد. اسپوردوخیوم‌ها در مرکز پرگنه به صورت متراکم و قهوه‌ای تشکیل می‌شوند و ممکن است در زیر پوشش میسلیوم پنهان شوند. رنگ پرگنه از پشت تشتک پتری به صورت قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره می‌باشد که این رنگ در مرکز پرگنه تیره است (شکل ۴).

ماکروکنیدیهای فراوان بر روی اسپوردوخیوم‌های نارنجی تشکیل می‌شوند.

دارای انحنای شدید ۵ تا ۷ جدار عرضی و سلول انتهایی کشیده و به نقطه ای ختم می شود. ماکروکنیدیهای ۵ بندی (۸۵-) ۸۳- ۳۰ (-۱۸)× (۵-) ۵-۳/۳ (- ۳) میکرومتر است. دیواره آنها ضخیم و طول آنها بسیار متغیر است.

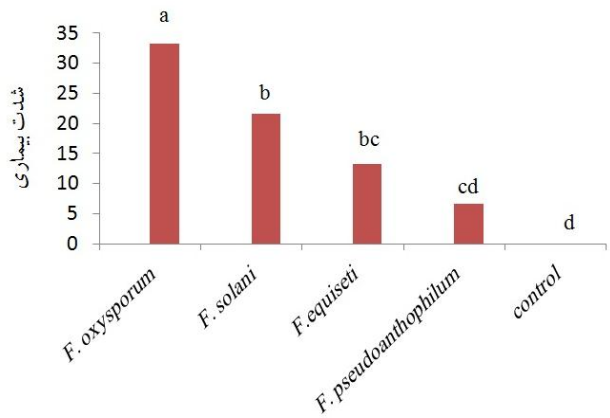
میکروکنیدی‌ها در این گونه تشکیل نمی‌شوند. کلامیدوسپورهای فراوان زنجیری یا خوشه‌ای روی ریسه‌های هوایی یا اطراف محیط کشت تشکیل می‌شود (شکل ۴). تمام خصوصیات جدایه‌های *F. equiseti* مورد بررسی با توصیف‌های لزلی و سامرل (Leslie & Summerell, 2006) مطابقت دارد. این گونه شباهت زیادی به گونه *F. scripi* دارد. گونه‌ی *F. scirpi* به علت تشکیل میکروکنیدی‌های فراوان تفاوت آشکاری با *F. equiseti* دارد (Lesile & Summerell 2006).



شکل ۴- *F. equiseti*: a مونوفیالید، b ماکرو و میکروکنیدیوم، c ماکروکنیدیوم، d و e کلامیدوسپورها، مقیاس ۱۰ میکرومتر

این گونه از گوجه فرنگی توسط ویانی در ۱۳۷۴ گزارش شده است (Ershad, 2009). علایم بیماری در این قارچ بصورت زردی و پوسیدگی ریشه و طوقه ظاهر گردید. نتایج بیماریزایی چهار گونه قارچ نشان داد که بجز گونه *F. pseudoanthophilium* بقیه گونه ها توانستند روی گوجه فرنگی ایجاد بیماری و خسارت نمایند و سبب علایم پژمردگی، زردی، کوتولگی و پوسیدگی ریشه و طوقه در بوته های گوجه فرنگی شدند. هر سه گونه از لحاظ آماری در سطح ۱٪ نسبت به شاهد اختلاف معنی دار نشان دادند، در صورتیکه علایم بیماری در گونه *F. pseudoanthophilium* در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری نشان نداد. مقایسه دو روش بیماریزایی نشان داد که روش Root dip نسبت به روش دومی مناسب تر است

نتایج بیماریزایی جدایه های قارچ به دو روش مایه زنی ریشه (Root dip) و خاک توسط دانه گندم در شکل ۵ و ۶ نشان داده شده است.



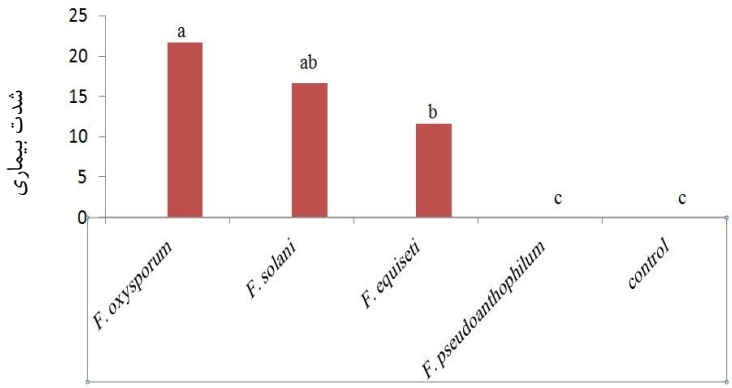
شکل ۵- شدت بیماریزایی گونه های فوزاریوم به روش Root dip پس از ۵۰ روز

نتایج دامنه میزبانی یا تعیین فرم اختصاصی

از میان ۷ گونه‌ی گیاهی که با قارچ *F. oxysporum* مایه زنی شدند، فقط گیاه گوجه فرنگی علایم بیماری از قبیل زردی، پژمردگی و کوتولگی را نشان داد و بقیه گونه های گیاهی مثل گندم، لوبیا، نخود، ریحان، طالبی و تاج خروس علائمی نشان ندادند و هیچ گونه قارچی پس از پایان آزمایش از گیاهان مذکور بجز گوجه فرنگی جدا نشد. نتایج حاضر با نتایج دیگر محققین مطابقت داشت (Kistler, 2001; Rowe, 1980).

نتایج بیماریزایی نشان میدهد که این جدایه صرفا روی گوجه فرنگی بیماریزا بود و علایم بصورت زردی، پژمردگی و قهوه ای شدن آوند ها ایجاد کرد.

بررسی انجام شده مشخص کرد که عامل پژمردگی و زردی در گوجه فرنگی همان فرم اختصاصی *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* است. این گونه برای اولین بار از منطقه‌ی مرودشت استان فارس گزارش می‌شود.



شکل ۶- شدت بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم به روش مایه‌زنی دانه گندم به خاک پس از ۵۰ روز

نتایج دامنه میزبانی *F. solani* از میان ۳ گونه‌ی گیاهی مایه‌زنی شده با قارچ مذکور نشان داد که هر چهار گیاه گوجه فرنگی، نخود، بادام زمینی و تاج خروس علایم بیماری از قبیل پوسیدگی و سیاه شدگی ریشه و طوقه را نشان دادند. در نتیجه با توجه به اینکه قارچ *F. solani* روی تمام گیاهان مورد بررسی علایم بیماری نشان داد نمی‌توان گفت که این گونه فرم مخصوص گیاه گوجه فرنگی است. همچنین نتایج نشان می دهد که

این گیاهان بعنوان حاملین قارچ *F. solani* عمل می کنند و در انتقال بیماری از یک سال به سال بعد نقش دارند. همچنین این تحقیق مشخص می کند که مناطق زیر کشت گوجه فرنگی شهرستان مرودشت مورد هجوم گونه های فوزاریوم بخصوص دو گونه *F. solani* عامل پوسیدگی ریشه و طوقه و *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* عامل پژمردگی قرار می گیرد و در برنامه کنترل و مدیریت سلامت این گیاه باید این مهم لحاظ گردد.

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج بدست آمده، در مجموع ۹۶ جدایه فوزاریوم از مزارع گوجه فرنگی شهرستان مرودشت جداسازی و بر اساس مطالعات مرفولوژیکی چهار گونه فوزاریوم شامل *F. equesti*, *F. solani*, *F. pseudoanthophilum*, *F. oxysporum* شناسایی شد که بیشترین فراونی به‌ترتیب مربوط به *F. solani* و *F. oxysporum* بود. نتایج بیماریزایی گونه‌ها روی گوجه فرنگی نشان داد که همه آنها بجز گونه *F. pseudoanthophilum* بیماریزا و سبب علایم زردی و پژمردگی در گیاه گوجه فرنگی شدند. همچنین نتایج تعیین فرم اختصاصی نشان داد که جدایه های *F. oxysporum* صرفا روی گوجه فرنگی بیماریزا و بصورت *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* بوده و از ساقه گوجه فرنگی های آلوده جداسازی گردید، در صورتیکه جدایه های قارچ *F. solani* علاوه بر گوجه فرنگی روی نخود، بادام زمینی و تاج خروس نیز علایم بیماری نشان داد. گونه *F. pseudoanthophilum* روی گوجه فرنگی بیماریزا نبود، ولی *F. equiseti* روی گوجه فرنگی سبب پژمردگی، زردی، کوتولگی و پوسیدگی طوقه و ریشه شد.

سپاسگزاری

هزینه و امکانات مورد استفاده در این طرح از محل گرانت و اعتبارات دانشکده کشاورزی و معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان تامین شده است. بدین وسیله نگارندگان مراتب قدردانی خود را ابراز میدارند.

REFERENCES

1. Amini, J. (2007). Soil sterilization by Basamid granulates to control Fusarium wilt of tomato under glasshouse conditions. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 43, 257- 265.
2. Amini, J. (2009). Physiological race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Kurdistan Province of Iran and reaction of some tomato cultivars to race 1 of pathogen. *Plant pathology Journal*, 8(2), 68-73.
3. Banihashemi, Z. (1968). *The Biology and Ecology of Fusarium oxysporum f. sp. melonis in soil and the Root Zones of Host and non host plants*. Ph. D. Thesis, Michigan State University. 114 pp.
4. Bogale, M., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J. & Steenkamp, E. T. (2006). Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from Ethiopia using AFLP, SSR and DNA sequence analyses. *Fungal Diversity*, 23, 51-66.
5. Burgess, L. W., Summerell, B. A., Bullock, S., Gott, K. P. & Backhouse, D. (1994). *Laboratory Manual for Fusarium Research, 3rd ed. University of Sydney, Australia* 133pp.
6. Chibundu, N., Ezekiell, Adegboyega, C., Odebode. & Fapohunda, S. O. (2008). Zearalenone production by naturally occurring Fusarium species on Maize, wheat ans soybeans from Nigeria. *Journal of Biology and Environmental Science*, 2(6), 77-82.
7. Ershad, G. (2009). *Fungi of Iran*. 2nd ed. Ministry of Agriculture, Agricultural Research Education and Extension Organization. Publication No. 10, Tehran, 874 pp.
8. Etebarian H. R. (1992). Studies of Fusarium wilt of tomato and its chemical control in Varamin area. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 23, 1–14.
9. Fassihiani, A. (1985). Occurrence of Fusarium wilt of tomato in Hormozgan province of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 21, 9-11.
10. Gerlach, W. & Nirenberg, H. (1982). The Genus Fusarium- a Pictorial Atlas. Mitt. Boil. *Institut Microbiology, Berlin-Dahlem*. 406p.
11. Howard, R. (2005). Management of major greenhouse vegetable diseases. *Presented at the 27th Annual Canadian Greenhouse Conference*, Mississauga.
12. Jones, J. B., Stal, J. P. & Zitter, T. A. (1991). *Compendium of tomato disease*. APS Press. 73 p.
13. Kistler, H. C. (2001). *Evoluation of host specificity in Fusarium oxysporum*. P. 70-96. In B. A. Suummerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (eds), Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minnesota.

14. Latiffah, Z., Nur Hayati, M. Z., Baharuddin, S., Maziah, Z. (2009). Identification and pathogenicity of Fusarium species associated with root rot and stem rot of Dendrobium. *Asian Journal of Plant Pathology*, 3(1), 14-21.
15. Leslie, J. F. & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing professional, Ames, lowa, USA.
16. Mohammadi, H. & Banihashemi, Z. (2005). Distribution, Pathogenicity and survival of *Fusarium* spp., the causal agents of chickpea wilt and root rot in Fars Province. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 41(4), 687-708.
17. Nash, S. M. & Snyder W. C. (1962). Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot Fusarium in field soils. *Phytopathology*, 52,567-572.
18. Nelson, P. E., Tousson, T. A. & Marass, W. F. D. (1983). *Fusarium species*: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press. 193 pp.
19. Nur Ain Izzati, M. Z., Azmi, A. Z., Siti Nordahlia Wate, M. S. & Norazlina, J. (2011). Contribution to the knowledge of diversity of Fusarium associated with maize in Malaysia. *Plant Protection Sci*ence, 47, 20-24.
20. Phoutthasone, S., Keoudone, C., Soytong. K., Cynthia, C., Sofrino, D. & Kalaw. P. (2010). A new mycofungicide from *Emericella nidulans* against tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in vivo. *Journal of Agricultural Technology*, 6 (1), 19-30.
21. Rowe, R. C. (1980). Comparative pathogencity and host arranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field grown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology*, 70, 1143-1148.
22. Rozlianah, F. S. & Sariah, M. (2010). Characterization of Malaysia isolation of Fusarium from tomato and pathogenicity testing. *Research Journal of Microbiology*, 5(6), 553-559.
23. Vakalounakis, D. J. (1996). Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Journal of Plant Disease*, 81, 313-316.
24. Westerlund, F. V., Campbell, R. N. & Kimble, K. A. (1974). Fungal root rots and wilt of chickpea in California. *Phytopathology*, 64, 432-436.