

شناسایی گونه‌های فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه گندم در منطقه گرگان و بررسی بیماری‌زایی آنها

راحله مقصودلو، عبدالحسین طاهری و * کامران رهنما

به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۴/۶/۲؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۷/۴

چکیده

این تحقیق در سال زراعی ۸۳-۸۲ به‌منظور شناسایی گونه‌های فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه از یازده مزرعه حومه شهرستان گرگان شامل: نودیجه، ورسن، حیدرآباد، مزارع گندم در ابتدای جاده قدیم کردکوی، سدن، سیاهتلو، جلین، سرخنکلاته، آلوکلا، تقی آباد و نوده ملک صورت گرفت. در این تحقیق قطعاتی از بافت‌های پوسیده و قهوه‌ای شده ریشه و طوقه گندم، پس از ضدعفونی سطحی روی محیط کشت سیب زمینی - دکستروز - آگار (PDA) اسیددار کشت گردیدند و تحت شرایط استاندارد نگهداری شدند. از بافت‌های آلوده ۱۸ جدایه فوزاریوم به‌دست آمد که با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی و براساس خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی در ۶ گونه: *F. solani*, *F. nygamai*, *F. moniliforme*, *F. semitectum*, *F. equiseti* و *oxysporium* جای گرفتند. گونه‌های *F. oxysporium*, *F. moniliforme*, *F. solani* برای آزمون بیماری‌زایی انتخاب شدند و روی گیاهچه‌های گندم در شرایط گلخانه با استفاده از روش سوسپانسیون اسپور و تهیه مایه روی دانه گندم مورد مطالعه قرار گرفتند که گونه‌های *F. semitectum* و *F. equiseti* بیماری‌زا شناخته شدند.

واژه‌های کلیدی: گونه‌های فوزاریوم، گندم، پوسیدگی ریشه و طوقه، گرگان

مقدمه

پوسیدگی‌های ریشه و طوقه از جمله بیماری‌های با اهمیتی هستند که هر ساله به گیاه گندم و محصولات آن خسارت وارد می‌نمایند. به همین دلیل در بیشتر نقاط جهان پوسیدگی‌های ریشه و طوقه چه از جنبه تاکسونومی عامل بیماری و چه از نظر بیماری‌زایی قارچ‌های همراه، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. نتیجه این تحقیقات جداسازی و تشخیص گونه‌های قارچی از

گیاه گندم به تعدادی از بیماری‌های ریشه، طوقه، ساقه و برگ حساس می‌باشد (بوتلر، ۱۹۶۱) که غالب این بیماری‌ها توسط قارچ‌ها ایجاد می‌گردد. براساس منابع موجود حدود ۲۰۰ بیماری در گندم شناخته شده است که از این تعداد ۵۰ نوع آن دارای اهمیت هستند (وایز، ۱۹۸۷).

فوزاریوم‌های جدا شده از ریشه و طوقه گندم مزارع حومه شهر گرگان انجام شد. ایزوله‌های جدا شده از نظر موقعیت جغرافیایی محل نمونه‌برداری، و اندام نمونه‌برداری با نتایج تحقیقات قبلی مورد مقایسه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: در سال زراعی ۸۳-۱۳۸۲ از مزارع حومه شهرستان گرگان (نودیجه، ورسن، حیدرآباد، مزارع گندم در ابتدای جاده قدیم کردکوی، سدن، سیاهتلو، جلین، سرخنکلاته، آلوکلا، تقی آباد، نوده ملک) بازدید به عمل آمد. در این بازدیدها از ریشه و طوقه گیاهانی که حالت کوتولگی، زردی و پژمردگی نشان می‌دادند نمونه‌برداری صورت گرفت و نمونه‌ها در داخل کیسه کاغذی قرار داده شدند و در اسرع وقت جهت جداسازی به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

جداسازی و خالص‌سازی: برای جداسازی قارچ، قطعاتی به اندازه ۵-۳ میلی‌متر از قسمت‌های تغییر رنگ یافته ریشه و طوقه جدا شد. سپس نمونه‌های جدا شده با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۱ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و پس از شستشو با آب مقطر سترون و خشک‌شدن بر روی کاغذ صافی سترون بر روی محیط کشت سیب‌زمینی - دکستروز- آگار (PDA) اسیددار کشت گردیدند خالص سازی این جدایه‌ها بر روی محیط کشت آب آگار ۲ درصد به روش تک اسپوری انجام شد.

بررسی ریخت‌شناسی جدایه‌ها: جدایه‌ها بر روی محیط کشت (PDA) کشت داده شدند و در دمای 25 ± 1 و 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی نگهداری شدند. دو قطر عمود برهم پرگنه‌ها پس از ۳ روز اندازه‌گیری شد.

همچنین در بررسی دیگر جدایه‌ها بر روی محیط PDA با تناوب ۱۲ ساعت نور و دمای 25 درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 20 درجه سانتی‌گراد بررسی شدند و

جنس فوزاریوم و قارچ‌های غیر فوزاریومی از ریشه و طوقه غلات می‌باشد. از جمله قارچ‌های خاک‌زی که باعث محدودیت غلات می‌گردند می‌توان به بیماری‌هایی نظیر پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه^۱، پوسیدگی پیتیومی ریشه^۲، پاخوره^۳ پوسیدگی عمومی ریشه^۴ و پوسیدگی فوزاریومی^۵ اشاره نمود. (اسمایلی و ویتاگر، ۲۰۰۴؛ دراپر، ۲۰۰۰). گونه‌های فوزاریوم غالباً خاکزاد بوده و بندرت ریشه نکروتیک گیاهی در خاک‌های کشاورزی یافت می‌شود که بوسیله گونه فوزاریوم کلنیزه نشده باشد (نلسون، ۱۹۸۳). تعداد زیادی از گونه‌های فوزاریوم موجب پوسیدگی ریشه و طوقه گندم می‌گردند که پوسیدگی‌های حاصل از آن‌ها را پوسیدگی‌های طوقه و پایه^۶ می‌نامند (وایز، ۱۹۸۷). گونه‌های خاک‌زی فوزاریوم، زخم‌های قهوه‌ای شکلاتی تا قهوه‌ای مایل به قرمز روی ریشه‌ها و میان‌گره زیر طوقه ایجاد می‌کنند.

براساس گزارش اسمایلی و پترسون (۱۹۹۶)، ۲۴ گونه از جنس فوزاریوم از ریشه و طوقه گندم زمستانه از منطقه پاسفیک نورث‌وست ایالات متحده آمریکا گزارش شده است و برطبق گزارش‌های موجود داخلی (امینی و ارشاد، ۱۳۷۷، ببادوست، ۱۳۷۴؛ درویش‌نیا و علیزاده، ۱۳۷۷؛ روانلو، ۱۳۷۹؛ روحی بخش و ارشاد، ۱۳۷۹؛ زارع و ارشاد، ۱۳۷۶؛ صفایی و حجارود، ۱۳۷۹؛ اسکندری و همکاران، ۱۳۷۷) تاکنون حدود ۲۴ گونه از جنس فوزاریوم از قسمت‌های مختلف گیاه گندم و جو شامل بذر، ریشه، طوقه، ساقه و خوشه در داخل کشور جدا و گزارش گردیده است.

زارع و ارشاد (۱۳۷۳) ۲۰ گونه فوزاریوم از قسمت‌های مختلف غلات (گندم، جو، برنج و ذرت) از استان گلستان جدا کردند. تحقیق حاضر با هدف شناسایی و بیماری‌زایی

- 1- *Rhizoctonia* root rot
- 2- *Pythium* root rot
- 3- Take all
- 4- Common root rot
- 5- *Fusarium* foot and crown rot

درون ارلن‌ها در سه روز متوالی توسط دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مکعب به مدت یک ساعت سترون شدند. سپس محتویات هر یک از فلاسک‌های مذکور با یک گونه مایه‌زنی شد و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و نور متناوب ۱۲ ساعت روشنایی به مدت سه هفته نگهداری شدند و هر هفته تکان شدیدی به ارلن داده شد تا قارچ به قسمت‌های بذور سرایت کند. مخلوطی از خاک مزرعه و شن و خاک برگ به نسبت وزنی ۱:۱:۱ تهیه گردید و در سه روز متوالی به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. سپس مایه تلقیح هر یک از گونه‌ها به نسبت ۲ درصد وزنی به‌طور یکنواخت با خاک مخلوط گردید و داخل گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۲ سانتی‌متر ریخته شد. در یک گلدان نیز به جای مایه تلقیح، فقط از خاک سترون استفاده شد و به‌عنوان شاهد انتخاب شد. مقداری بذر رقم تجن (رقم غالب کشت شده در استان) با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی شد و پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون، بر روی کاغذ صافی سترون مرطوب قرار گرفت و به مدت ۲ روز در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی (درون یخچال) قرار داده شد. سپس به مدت یک روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا جوانه بزند. آنگاه از گیاهچه‌های سالم که دارای سه ریشه‌چه به طول ۱ سانتی‌متر بودند برای کاشت در هر گلدان استفاده شد (طاهری، ۱۹۹۶). گلدان‌ها به مدت ۲ ماه در گلخانه با دمای 25 ± 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری و برحسب نیاز گیاه آبیاری شدند.

نتایج و بحث

از قسمت‌های پوسیده و قهوه‌ای شده ریشه و طوقه قارچ‌های همراه مانند *Aspergillus spp.*, *penicillium* *Gaeumannomyces graminis spp.* عامل پاخوره،

تأثیر این عوامل بر میزان رشد قارچ، رنگ و مرفولوژی پرگنه پس از ۱۲ روز مورد بررسی قرار گرفت.

جهت تحریک به اسپوردهی و مرفولوژی اندام‌های تولید مثل غیرجنسی (شکل ماکروکنیدیوم، میکروکنیدیوم، نحوه تشکیل میکروکنیدیوم، تشکیل یا عدم تشکیل کلامیدسپور و همچنین وضعیت فیالیدها)، جدایه‌ها بر روی محیط کشت برگ میخک-آگار (CLA) کشت گردیدند.

شناسایی گونه‌های فوزاریوم: شناسایی جدایه‌ها براساس ویژگی‌های ظاهری از قبیل نحوه رشد پرگنه و شکل ماکروکنیدیوم صورت گرفت. برای تشخیص گونه‌ها از کلیدهای معتبری چون نلسون و همکاران (۱۹۸۳)، برگیس و همکاران (۱۹۹۴) و مقالاتی که اخیراً منتشر شده‌اند، استفاده شد (سومرل و همکاران، ۲۰۰۳؛ گزو همکاران، ۲۰۰۴).

بررسی بیماری‌زایی گونه‌ها: برای اثبات بیماری‌زایی از دو روش استفاده شد:

الف- آغشته کردن بذور گندم ضدعفونی شده با سوسپانسیون اسپور (گونه‌های فوزاریوم در محیط برگ میخک-آگار کشت شدند و پس از ۱۴ روز سطح محیط کشت بوسیله آب مقطر سترون شستشو داده شد و سوسپانسیون اسپور هر گونه تهیه گردید) با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر و قرار دادن ۲ عدد بذر گندم در داخل هر لوله آزمایش حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب آگار ۲ درصد (بصورت مایل). در لوله شاهد نیز فقط دو عدد بذر ضدعفونی شده به‌عنوان شاهد قرار گرفت. لوله‌ها در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت ۷-۴ روز نگهداری شدند (روانلو و بنی‌هاشمی، ۱۳۷۸).

ب: تهیه مایه تلقیح (اینوکولوم) روی دانه گندم و اضافه کردن آن به خاک سترون شده و کاشت بذور ضدعفونی شده گندم در آن (سینگلتون، ۱۹۹۲). برای این منظور ابتدا بذور گندم به مدت ۲۰ ساعت در آب خیس‌انده و بعد مقدار ۱۶۰ گرم از آن در یک فلاسک ارلن مایر یک لیتری ریخته شد و بذور

Bipolaris spicifera, Fusarium spp. جدا سازی

شد که بیشترین جدایه‌ها مربوط به جنس و گونه‌های فوزاریوم بود. در این بررسی ۱۸ جدایه فوزاریوم به دست آمده که به شش گونه تعلق داشتند (جدول ۱). خصوصیات مهم جدایه‌های بررسی شده به شرح زیر ذکر گردیده است:

***F. moniliforme* Scheldon**: این گونه بر روی محیط کشت سیبزمینی - دکستروز - آگار رشد یکنواختی داشت، میزان رشد پرگنه در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد بعد از سه روز $3/4$ سانتی‌متر و در دمای 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد $3/5$ سانتی‌متر بود. قارچ، میسلیم پنبه‌ای فراوان تولید نمود که ابتدا سفید رنگ و به تدریج به رنگ بنفش در آمدند. رنگ سطح زیرین پرگنه ارغوانی بود. میکروکنیدی‌های این گونه فراوان و غالباً تک سلولی، چماغی شکل و در انتها مسطح بودند. کنیدیوفرها ابتدا به صورت منوفیالیدهای بدون انشعاب و یا با انشعابات محدود و پراکنده روی میسلیم هوایی تشکیل شدند سپس به صورت فشرده و متراکم در آمدند. این گونه فقط منوفیالید تولید می‌کند، ماکروکنیدی‌ها نسبتاً راست و سلول انتهایی آنها خمیده و باریک بود و سلول پایه آنها به طور مشخصی پاشنه‌ای شکل است. ماکروکنیدی‌ها اغلب ۳-۴ دیواره عرضی داشتند، اندازه میکروکنیدی‌های تک سلولی $(2-3/5) \times 2/4$ تا $(4/8-12) \times 9/6$ میکرومتر و اندازه ماکروکنیدی‌های ۳-۴ بندی $(3-4) \times 3/6$ تا $(24-40/8) \times 33$

میکرومتر می‌باشد. در این گونه کلامیدسپور وجود ندارد، اما سلول‌های متورم شده در این گونه تشکیل شده که نباید به عنوان کلامیدسپور تلقی شوند. این قارچ گسترش جهانی داشته و از نقاط مختلف دنیا به عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه غلات گزارش گردیده است (اسمایلی و پترسون، ۱۹۹۶). این گونه قبلاً توسط زارع و ارشاد (۱۳۷۶) از اندام‌های هوایی گندم، برنج، جو و ذرت از استان گلستان (عراقی محله، رامیان، آقلا، فاضل آباد و بندر ترکمن) جدا شده بود، اما در این بررسی تعداد ۳ جدایه از ریشه گندم از گرگان (آلوکلا، تقی‌آباد، سرخنکلاته) جدا شد (جدول ۱). بابادوست (۱۳۷۴) آن را به عنوان یکی از گونه‌های غالب فوزاریوم جدا شده از بذر گندم در آذربایجان شرقی گزارش کرده است. این گونه از ریشه و طوقه گندم از استان‌های لرستان (درویش‌نیا، ۱۳۷۷)، آذربایجان غربی (روانلو، ۱۳۷۹)، فارس (روانلو و بنی‌هاشمی، ۱۳۷۸)، کرمانشاه (صفایی و حجارود، ۱۳۷۹)، خراسان (مرادی زاده اسکندری، ۱۳۷۷) و خوزستان (وفایی، ۱۳۷۹) جدا سازی و گزارش گردیده است (شکل ۱). از این گونه تاکنون مایکوتوکسین‌های بسیاری با ساختار شیمیایی مختلف به نام فومونیسین‌ها شناسایی شده است (علامه و رزاقی آبیانه، ۱۳۸۰).

جدول ۱- درصد فراوانی و محل جمع‌آوری گونه‌های فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه‌ی گندم از منطقه‌ی گرگان.

گونه قارچ	تعداد نمونه	درصد فراوانی	محل جمع‌آوری
<i>F. semitectum</i>	۴	۲۲،۲۲	ابتدای جاده قدیم کردکوی، نودیجه
<i>F. equiseti</i>	۳	۱۶،۶۶	روستای سیاه تلو، ورسن، سدن
<i>F. nygamai</i>	۱	۵،۵	روستای سرخنکلاته
<i>F. oxysporium</i>	۳	۱۶،۶۶	روستای ورسن، جاده قدیم کردکوی، حیدر آباد
<i>F. solani</i>	۴	۲۲،۲۲	روستای سیاه تلو، تقی آباد
<i>F. moniliform</i>	۳	۱۶،۶۶	روستای سرخنکلاته، تقی آباد، آلوکلا

جدول ۲ - مقایسه وضعیت گونه‌های فوزاریوم جدا شده از گندم در مناطق جدیدی از استان گلستان با سایر نقاط کشور.

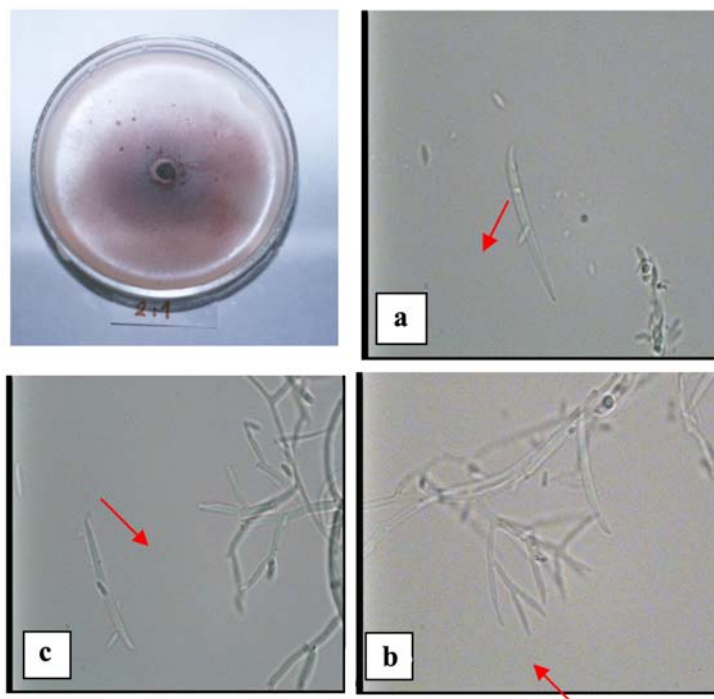
گونه‌های فوزاریوم	مناطق	گزارش قدیم (۱)	بیماریزا	گزارش جدید (۲)	مناطق	بیماریزا
<i>F. semitectum</i>	آذربایجان غربی	روانلو، ۱۳۷۹	---	۱۳۸۳	ابتدای جاده قدیم کردکوی - نودیجه	+
<i>F. equiseti</i>	ایلام	روحی بخش و ارشاد، ۱۳۷۹	---	۱۳۸۳	سدن، ورسن، سیاهتلو	+
	کرمانشاه	صفایی و حجارود، ۱۳۷۹	---			
	آذربایجان غربی	روانلو، ح. ۱۳۷۹	---			
	فارس	روانلو و بنی هاشمی، ۱۳۷۸	---			
خراسان	مراد زاده اسکندری، ۱۳۷۷	+				
<i>F. moniliforme</i>	کرمانشاه	صفایی و حجارود، ۱۳۷۹	---	۱۳۸۳	آلوکلا، سرخنکلاته و تقی‌آباد	پوسیدگی بذر
	آذربایجان غربی	روانلو، ح. ۱۳۷۹	---			
	خراسان	مراد زاده اسکندری، ۱۳۷۷	+			
	فارس	روانلو و بنی هاشمی، ۱۳۷۸	---			
<i>F. nygamai</i>	کرمانشاه	صفایی و حجارود، ۱۳۷۹	---	۱۳۸۳	سرخنکلاته	---
	فارس	روانلو و بنی هاشمی، ۱۳۷۸	---			
<i>F. solani</i>	ایلام	روحی بخش و ارشاد، ۱۳۷۹	---	۱۳۸۳	تقی‌آباد، سیاهتلو	---
	آذربایجان غربی	روانلو، ح. ۱۳۷۹	---			
	خراسان	مراد زاده اسکندری، ۱۳۷۷	+			
<i>F. oxysporium</i>	خراسان	مراد زاده اسکندری، ۱۳۷۷	+	۱۳۸۳	حیدرآباد، جاده قدیم کردکوی، ورسن	---
	ایلام	روحی بخش و ارشاد، ۱۳۷۹	+			
	کرمانشاه	صفایی و حجارود، ۱۳۷۹	---			
	آذربایجان غربی	روانلو، ح. ۱۳۷۹	---			
	فارس	روانلو و بنی هاشمی، ۱۳۷۸	---			

(۱) گزارش مربوط به بررسی‌هایی است که تست بیماری‌زایی انجام داده‌اند.

(۲) گزارش مربوط به این بررسی است.

+ تست بیماری‌زا مثبت بوده است.

-تست بیماری‌زایی منفی بوده است.



شکل ۱- خصوصیات شکل کلنی و انواع اسپوره‌های قارچ *F. moniliforme*.

a. شکل پرگنه *F. moniliforme* بر روی محیط کشت PDA

b, c. منوفیالید منشعب با بزرگنمایی ۴۰۰ X

d. ماکروکنیدی با بزرگنمایی ۴۰۰ X

۲/۴ × (۱۲-۱۴/۸-۷/۲) میکرومتر و اندازه ماکروکنیدی‌ها ۴/۸-۳/۶ (۲/۴ × ۲۱/۶-۳۲/۶) میکرومتر بود. قارچ، کلایمیدسپور فراوانی تولید نمود که به شکل‌های منفرد، جفتی و زنجیره کوتاه دیده می‌شوند. این گونه پراکنش جهانی داشته و یک گونه توکسین‌زا می‌باشد (نلسون، ۱۹۸۳). در ایران در ارتباط با غلات این گونه تاکنون از ریشه گندم از استان تهران (امینی، ۱۳۷۷)، از بذور گندم از استان آذربایجان شرقی و اردبیل (بابادوست، ۱۳۷۴)، از بذور جو و نیز از ریشه و طوقه گندم از استان‌های آذربایجان غربی (روانلو، ۱۳۷۹)، خراسان (مرادزاده اسکندری، ۱۳۷۷)، کرمانشاه (صفایی و حجارود، ۱۳۷۹) و فارس (روانلو و بنی‌هاشمی، ۱۳۷۸) گزارش شده است. این گونه از ساقه، خوشه و ریشه گندم از استان گلستان (فاضل آباد، عراقی محله، گنبد و آقلا) توسط زارع و ارشاد (۱۳۷۶) جدا شده

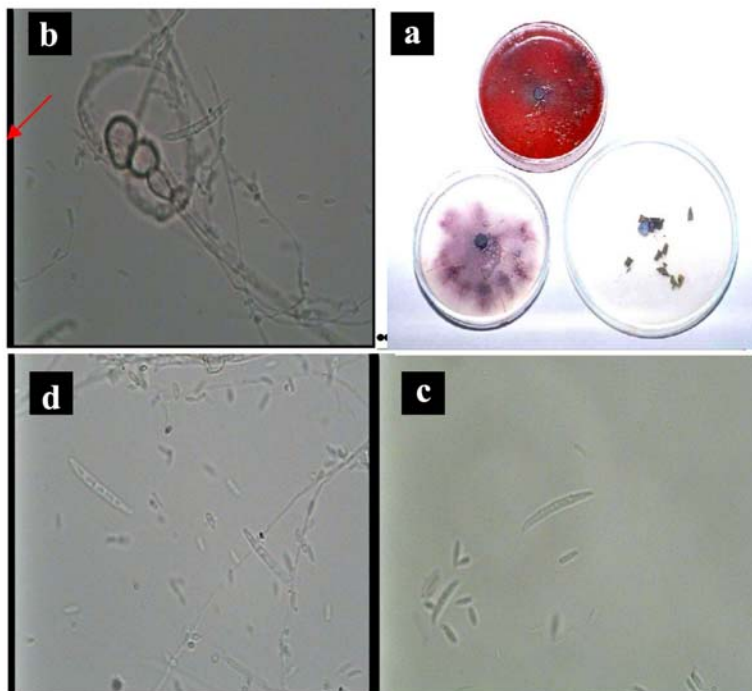
F. Schlecht. Emend. Snyder & Hansen

oxysporum: رشد قارچ بر روی محیط سیب زمینی-

دکستروز - آگار سریع بود. میزان رشد پرگنه در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد پس از سه روز ۳ سانتی‌متر و در 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد ۲/۸ سانتی‌متر بود. میسلیم هوایی روی محیط کشت مذکور به صورت انبوه تشکیل شده که ابتدا به برنگ سفید بود سپس به‌رنگ بنفش در آمد. رنگ سطح زیرین پرگنه، بنفش تیره بود. میکروکنیدی‌ها فراوان، تک‌سلولی، تخم مرغی و قلوهای هستند. قارچ فیالیدهای منفرد و کوتاه در روی ریشه‌های هوایی تولید می‌کند. ماکروکنیدی‌ها، داسی شکل تا کمی کشیده بودند و اغلب دارای سه جدار عرضی نازک می‌باشند. سلول انتهایی ماکروکنیدی نوک تیز و کمی خمیده و سلول پایه آن پاشنه‌ای شکل می‌باشد. اندازه میکروکنیدی‌ها (۲-۳)

بود. در تحقیق حاضر نیز تعداد ۳ جدایه از گرگان (ابتدای جاده قدیم کردکوی، حیدرآباد و سرخنکلاته) جدا شد

(جدول ۱) (شکل ۲).



شکل ۲- خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *F. oxysporium*
 a. شکل پرگنه *F. oxysporium* بر روی محیط کشت PDA و برگ میخک آگار (CLA)
 b. کلامیدسپور؛ c. ماکروکنیدی با بزرگنمایی X ۴۰۰

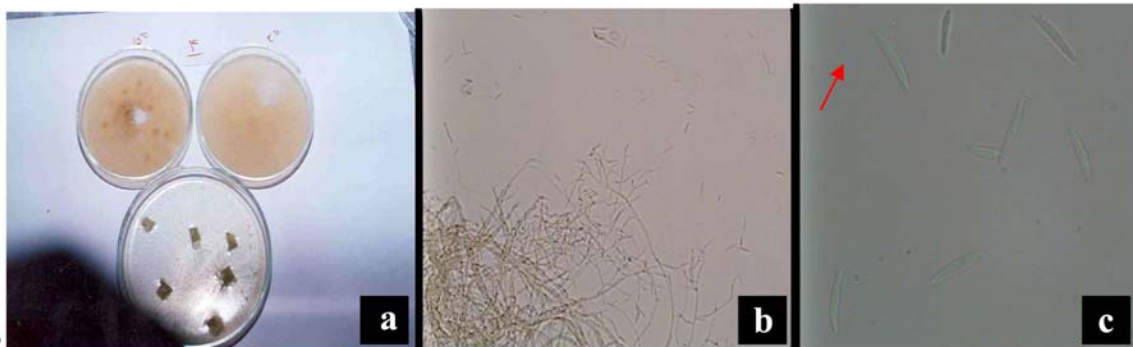
اسپروودوخیومها تولید می‌شوند و دارای سلول پایه پاشنه‌ای شکل هستند. ماکروکنیدی‌ها غالباً دارای ۴-۳ دیواره عرضی هستند. قارچ، فیالیدهای جانبی روی میسلیم‌های هوایی تولید می‌کند که به صورت نامنظم هستند و انشعابات پراکنده دارند. قارچ دارای منوفالید و پلی‌فالید می‌باشد، اندازه میکروکنیدی‌ها $(۲-۴) \times (۲/۴-۴/۸)$ و اندازه ماکروکنیدی‌ها $(۱۶/۸-۲۶/۴) \times (۲۰/۴۴-۲۰/۴۴)$ بود. این گونه پراکنش جهانی داشته و یک گونه توکسین‌زا است (نلسون، ۱۹۸۳).

این قارچ تا کنون از ریشه و طوقه گیاهان گندم از استان‌های آذربایجان شرقی (بابادوست، ۱۳۷۴)، خراسان (مرادزاده اسکندری، ۱۳۷۷)، آذربایجان غربی (روانلو، ۱۳۷۹) و فارس (روانلو و بنی‌هاشمی، ۱۳۷۸) جدا شده

F. semitectum Berk. & Rav. میزان رشد پرگنه روی محیط کشت سیب‌زمینی - دکستروز - آگار در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد پس از سه روز ۴ سانتی‌متر و در 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد ۳ سانتی‌متر بود. قارچ، میسلیم هوایی پر پشت و متراکم تولید کرده که رنگ آنها قهوه‌ای و رنگ سطح زیرین پرگنه نخودی، زرد متمایل به قهوه‌ای بود. اسپروودوخیوم‌ها در مرکز پرگنه به صورت متراکم و قهوه‌ای تشکیل می‌شوند که در زیر پوشش میسلیمی پنهان شده‌اند. میکروکنیدی در این گونه نادر است و تعداد کمی میکروکنیدی ۱ تا ۲ سلولی دیده می‌شود. قارچ دو نوع ماکروکنیدی تولید می‌کند، ماکروکنیدی‌های تولید شده در ریشه‌های هوایی راست و میله‌ای شکل بوده و سلول پایه‌ای شکل ندارند، نوع دوم داسی شکل بوده که در

شده بود، در تحقیق حاضر نیز تعداد ۳ جدایه از مزارع گندم در ابتدای جاده قدیم کردکوی، نودیجه جدا شد (جدول ۱) (شکل ۳).

است و نیز به عنوان عامل فوزاریوز خوشه گندم از شمال کشور معرفی شده است (گلزار، ۱۳۷۳). این گونه قبلاً توسط زارع و ارشاد (۱۳۷۶) از ریشه گندم از گرگان جدا



شکل ۳- خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *F. semitectum*
 a. شکل پرگنه *F. semitectum* بر روی محیط کشت PDA و برگ میخک آگار (CLA)
 b. فیالید منشعب با بزرگنمایی X ۱۰۰؛ c. ماکروکنیدی دوکی شکل با بزرگنمایی X ۴۰۰

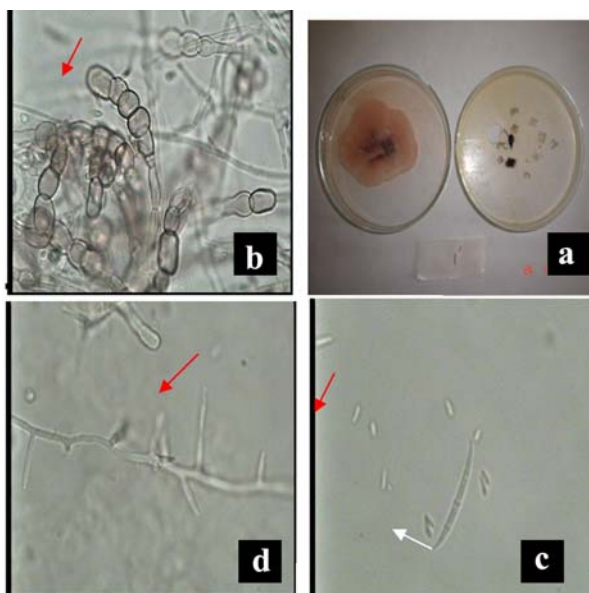
فراوان و غالباً زنجیری و برخی منفرد با دیواره ضخیم می‌باشند. این گونه اولین بار از ریشه و طوقه گندم توسط زارع و ارشاد (۱۳۷۶) از استان گلستان (عراقی محله، آقلا، گنبد) جداسازی شده است. در تحقیق حاضر ۱ جدایه از گرگان (روستای سرخنگلاته) جدا شد (جدول ۱). همچنین روانلو (۱۳۷۹) و صفایی (۱۳۷۹) هم آن را به عنوان یکی از قارچ‌های همراه ریشه گندم از استان‌های آذربایجان غربی و کرمانشاه گزارش کردند. بیماری‌زایی این گونه به اثبات رسیده است (شکل ۴) و گزارش بیماری‌زایی آن بر روی ریشه گندم جدید است (روانلو، ۱۳۷۹؛ صفایی، ۱۳۷۹). این گونه از دانه‌هایی نظیر ارزن و ذرت خوشه‌ای جداسازی شده است و از جمله مهمترین قارچ‌های مولد فومونیسین‌ها (B₁) محسوب می‌شود که تاکنون از استرالیا و آفریقای جنوبی گزارش گردیده است (علامه و رزاقی، ۱۳۸۰).

***F. solani* (Mart.) Appel & Wollenw. emend. Snyd. & Hans.**
 سیب‌زمینی - دکستروز - آگار رشد سریعی داشته و میزان رشد پرگنه در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد پس از سه روز ۳ سانتی‌متر و در 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد ۲/۵ سانتی‌متر بود.

***F. nygamai* Burgess & Trimboli**
 پرگنه روی محیط کشت سیب زمینی - دکستروز - آگار در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد پس از سه روز ۳/۱ سانتی‌متر بود. قارچ روی محیط کشت مذکور تولید میسلیموم پنبه‌ای می‌کند که ابتدا سفیده بوده سپس به صورت کبود تا بنفش تیره تغییر می‌کند. سطح زیرین پرگنه بنفش تیره است قارچ، میکروکنیدی‌های فراوانی که اغلب یک سلولی و بندرت دو سلولی بودند بر روی فیالیدها تولید می‌کند. میکروکنیدی‌ها هم به صورت زنجیری و هم در سرهای دروغی بر روی منوفیالیدهای منشعب ایجاد می‌شوند، میکروکنیدی‌ها تخم‌مرغی تا بیضوی شکل هستند. این گونه بر روی محیط کشت سیب‌زمینی - دکستروز - آگار بندرت ماکروکنیدی تولید می‌کند. ماکروکنیدی‌ها باریک، ظریف، تقریباً راست و معمولاً دارای ۳ دیواره عرضی بودند. سلول پایه آنها پاشنه‌ای که کمی شکستگی داشته و سلول انتهایی آنها کوتاه و کمی خمیده و تیز است. اندازه میکروکنیدی‌ها $(2-4) \times 2/4$ و $(1/4-2) \times 9/9$ و ماکروکنیدی‌ها $(3/6-4) \times 2/4$ میکرومتر بود. کلامیدسپورها

دارای ۱ یا ۲ سلول می‌باشند. ماکروکنیدی‌ها غالباً سوسیسی شکل بوده و ضخامت آنها زیاد است. ماکروکنیدی‌ها کمی خمیده بوده و دارای ۳-۴ دیواره عرضی مشخص هستند.

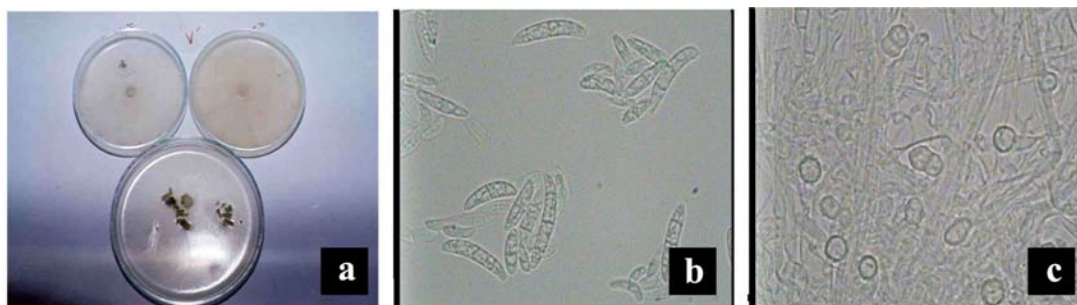
این گونه، میسلیم‌های سفید تا کرم رنگ و به صورت پراکنده تولید می‌کند. رنگ پرگنه بیرنگ تا کرم بود. میکروکنیدی‌ها به صورت فراوان بیضوی یا قلوهای و معمولاً



شکل ۴- خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *F. nygamai*
 a. شکل پرگنه *F. nygamai* بر روی محیط کشت PDA و برگ میخک آگار (CLA)
 b. منوفالید ساده ؛ c. ماکروکنیدی و میکروکنیدی ؛ d. کلأمیدسپور با بزرگنمایی X ۴۰۰

کلأمیدسپور فراوان تولید می‌نماید که به صورت منفرد، جفتی و زنجیری به صورت انتهایی یا میانی تشکیل می‌شود، این گونه دارای پراکنش جهانی بوده و در ایران از روی گیاهان مختلف از جمله قسمت‌های مختلف گیاه گندم گزارش شده است. انتقال این گونه با بذر گندم به اثبات رسیده است (بابادوست، ۱۳۷۴). در تحقیق حاضر تعداد ۴ جدایه از گرگان (تقی‌آباد، سیاه تلو) جدا شد (جدول ۱) (شکل ۵).

ماکروکنیدی‌ها از منوفالیدهای منشعب بر روی اسپوردوخیوم تشکیل شده و اسپوردوخیوم‌ها کمرنگ می‌باشند. اندازه میکروکنیدی‌ها $(۳/۶-۴/۸) \times (۱/۴-۱/۲)$ و اندازه ماکروکنیدی‌ها $(۳/۶-۶) \times (۳/۸-۱/۳)$ میکرومتر بود. اندازه ماکروکنیدی‌ها در این جدایه به دست آمده در مقایسه با جدایه‌های به دست آمده در استان‌های مختلف، کوتاه‌تر و قطورتر بود (روانلو و بنی‌هاشمی، ۱۳۷۸؛ وفایی و همکاران، ۱۳۸۰). قارچ،

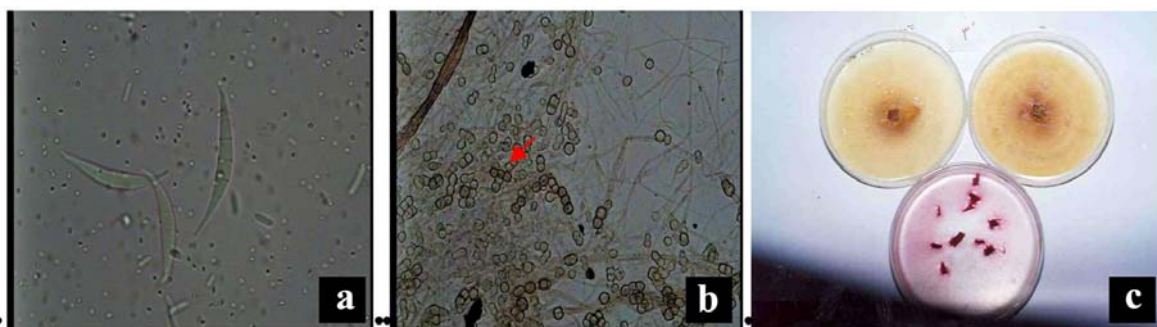


شکل ۵- خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *F. solani*
 a. شکل پرگنه *F. solani* بر روی محیط کشتهای PDA و برگ میخک آگار
 b. ماکروکنیدی ؛ c. کلأمیدسپور با بزرگنمایی X ۴۰۰

***F. equiseti* (Corda) Sacc.** قارچ روی محیط

کشت سیب زمینی - دکستروز - آگار رشد سریعی داشته و میزان رشد پرگنه در دمای 25 ± 1 درجه سانتی گراد پس از سه روز $3/7$ سانتی متر و در 30 ± 1 درجه سانتی گراد ۳ سانتی متر بود. این گونه میسلیم‌های هوایی انبوه و متراکمی تولید کرده که رنگ آنها کرم متمایل به زرد - قهوه‌ای بوده و رنگ سطح زیرین پرگنه قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره می‌باشد. قارچ، منوفیلیدهای منشعب تولید می‌کند. میکروکنیدی در این گونه بندرت تولید می‌شود و ماکروکنیدی‌ها به فراوانی در اسپور دوخیوم‌های نارنجی رنگ تشکیل می‌شوند. ماکروکنیدی‌ها ۵-۴ بندی دارای انحنا پشتی - شکمی مشخص بوده و سلول پایه آن حالت پاشنه‌ای شکل مشخص دارد. اندازه ماکروکنیدی‌ها $4/8 - 4/5$ میکرومتر بود. این گونه، کلامیدسپور فراوان به صورت منفرد، جفتی و زنجیزی به صورت میانی یا

انتهایی تولید می‌نماید. این گونه همه‌جازی بوده و از اکثر خاک‌ها جدا می‌گردد (سومرل و همکاران، ۲۰۰۳). این گونه در ایران در ارتباط با غلات، از گندم در استان‌های آذربایجان غربی (روانلو، ۱۳۷۹)، ایلام (روحی بخش و ارشاد، ۱۳۷۹)، تهران (امینی و ارشاد، ۱۳۷۷)، لرستان (درویش نیا و علیزاده، ۱۳۷۷)، فارس (روانلو و بنی‌هاشمی، ۱۳۷۸)، کرمانشاه (صفایی و حجارود، ۱۳۷۹) و خوزستان (وفایی، ۱۳۸۰) گزارش گردیده است. در استان گلستان از ریشه و ساقه گندم، طوقه و ساقه جو، بذر و ساقه ذرت و برنج توسط زارع و ارشاد (۱۳۷۶) جدا شده بود. در این تحقیق نیز تعداد ۴ جدایه از ریشه گندم از گرگان (سدن، ورسن) جدا شد (جدول ۱) (شکل ۶). این قارچ در کشور کانادا در ردیف قارچ‌های عامل بیماریزای بلایت خوشه گندم معرفی شده است (گزو و همکاران، ۲۰۰۴).



شکل ۶- خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی قارچ *F. equiseti*

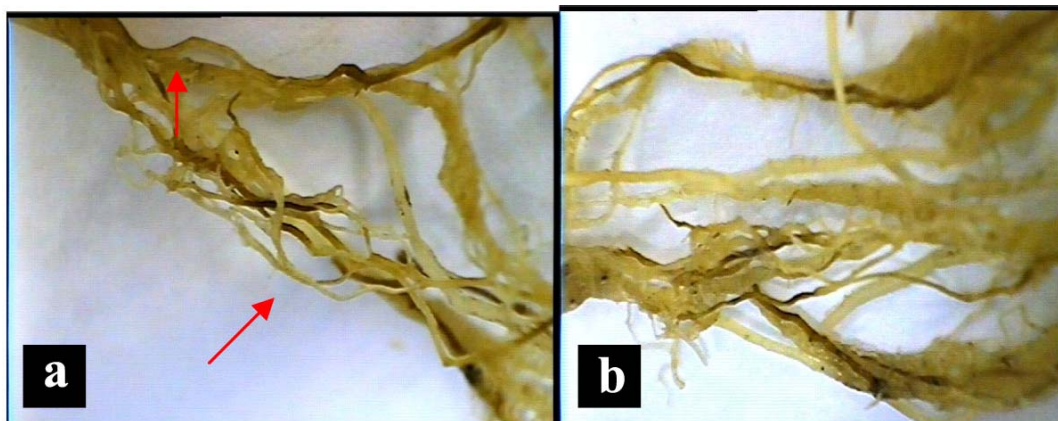
a. شکل پرگنه *F. equiseti* بر روی محیط کشت PDA و برگ میخک آگار

b. کلامیدسپور با بزرگنمایی $100 \times$ ؛ c. ماکروکنیدی با بزرگنمایی $400 \times$

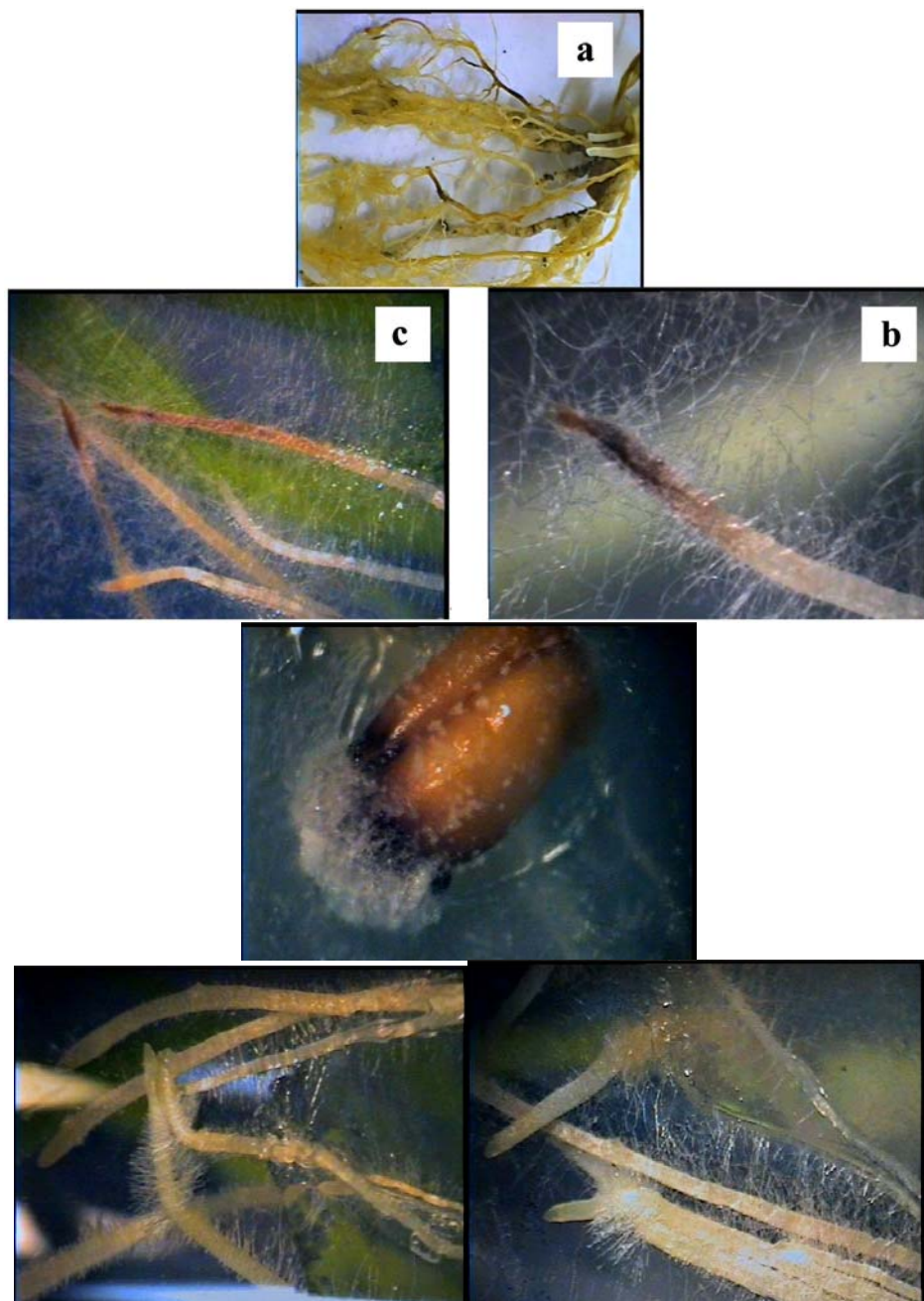
مطالعات بیماری‌زایی: در روش آغشته کردن بذور در سوسپانسیون اسپور و رشد آن بر روی محیط کشت آب آگار ۲ درصد که برای هر ۵ گونه *F. solani*, *F. semitectum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. equiseti* صورت گرفت، بغیر از گونه‌های *F. semitectum* و *F. equiseti* که بعد از ۴-۳ روز علایم سوختگی و قهوه‌ای شدن نوک ریشه‌ها روی آنها مشاهده شد (شکل ۸ a و b) و در بقیه گونه‌ها علایمی ظاهر نشد (شکل ۸ d و e) اما گونه *F. moniliforme* باعث پوسیدگی بذر در داخل لوله آزمایش شد (شکل ۸ c).

تغییر رنگ بافت‌های ریشه و قهوه‌ای شدن آنها در گونه *F. equiseti* در مقایسه با *F. semitectum* شدت بیشتری داشت. از ۲ گونه *F. semitectum* و *F. equiseti* برای تست بیماری‌زایی به روش تهیه مایه تلقیح روی دانه گندم و اضافه کردن آن به خاک سترون استفاده شد. بعد از پایان آزمایش و شستن کامل ریشه‌ها، علایم بارز نکروز و تغییر رنگ بافت‌ها روی ریشه‌ها مشخص بود. در ریشه‌های آلوده به *F. equiseti* در

مقایسه با *F. semitectum* این حالت شدت بیشتری داشت و بافت‌های قهوه‌ای در سراسر ریشه پراکنده بودند، در حالی که در *F. semitectum* کم و محدود به نوک ریشه‌ها بود. هر دو گونه دوباره از بافت‌های آلوده از ریشه جدا شدند (شکل ۷). به‌طورکلی، بیماری‌زا نبودن برخی گونه‌ها مثل *F. solani* در این بررسی بدین سان قابل توضیح است که برخی از این قبیل گونه‌ها فاقد قدرت بیماری‌زایی بوده و اغلب در خاک به‌صورت ساپروفیت روی ریشه‌های پوسیده فعالیت داشته و قابل جداسازی هستند (نیکول و ریدر، ۲۰۰۵)، بنابراین، عامل بیماری‌زای کلیدی محسوب نمی‌شوند. اگرچه در سال‌های اخیر برخی از فرم‌های اختصاص یافته براساس نوع میزبان اختصاصی برای گونه *F. solani* معرفی شده‌اند، به‌طوری‌که در صورت وجود فرم‌های اختصاصی، در کدوئیان و نخود قادر به بیماری‌زایی توسط *F. solani f.sp. cucurbitae* و *F. solani f.sp. pisi* هستند (استرنج، ۲۰۰۲). بررسی بیشتر در آینده برای تعیین فرم‌های اختصاصی براساس نوع میزبان لازم به نظر می‌رسد.



شکل ۷- خصوصیات ماکروسکوپی علائم بیماری و آسیب آنها بر روی ریشه گندم.
 a- نکروز و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها در اثر قارچ *F. equiseti* در روش افزودن مایه تلقیح به خاک
 b- نکروز و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها در اثر قارچ *F. semitectum* در روش افزودن مایه تلقیح به خاک



شکل ۸- بررسی بیماری‌زایی انواع گونه‌های فوزاریوم.

a و b. سوختگی و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها در اثر قارچ *F. semitectum* در روش کشت در آب آگار دو درصد در داخل لوله

C. پوسیدگی بذر توسط قارچ *F. moniliforme* در روش کشت در آب آگار دو درصد در داخل لوله

D. ریشه بدون علائم در آغشته کردن بذر گندم با سوسپانسیون اسپور قارچ *F. solani*

E. شاهد

دارد. دو گونه *F. culmorum* و *F. equiseti* تولید تریکوئیسین‌ها^۱ و دیگر متابولیت‌های ثانویه می‌کنند (هستجرگ و همکاران، ۲۰۰۲) و در سویه‌هایی از گونه‌های ذکر شده، توکسین زرالینون به میزان ۵ تا ۳۰۰۰ قسمت در میلیون (ppm) از ایتالیا گزارش گردیده است (علامه و رزاقی، ۱۳۸۰). با توجه به شرح مسایل فوق در بررسی قارچ‌های همراه با ریشه و طوقه گندم از نظر اکولوژیکی و دامنه میزبانی گونه‌ها به همراه عوامل بیماری‌زا لازم است مطالعات پیوسته‌ای در جهت پراکنش این گونه‌ها و همبستگی آنها با همدیگر در آینده انجام گیرد.

در میان گونه‌های فوزاریوم، گونه‌های *F. equiseti* و *F. semitectum* از جمله قارچ‌های متداول خاک‌زی بوده که از اکثر خاک‌ها جدا می‌گردند و به‌عنوان عوامل بیماری‌زای ثانویه شناخته می‌شوند از این رو، بیماری‌زایی آنها باید مورد بررسی قرار گیرد (سومرل و همکاران، ۲۰۰۳). در کشورهای ایتالیا و کانادا این دو گونه را به‌ترتیب به‌عنوان عامل بیماری‌زا در میزبان‌های گندم و ذرت گزارش کرده‌اند، به‌طوری‌که گونه *F. equiseti* در گروه قارچ‌های عامل بیماری‌زای فوزاریوز خوشه گندم پس از گونه‌های *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *F. crookwellens* و *avenaceum* در مرتبه پنجم قرار

منابع

۱. امینی، ج.، ارشاد، ج.، و ترابی، م.، ۱۳۷۷. بررسی مایکو فلور ریشه گندم در استان تهران. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. کرج، صفحه ۴۵.
۲. بابادوست، م.، ۱۳۷۴. گونه‌های فوزاریوم در بذور و گیاهان گندم در استان آذربایجان شرقی و اردبیل. بیماری‌های گیاهی ۳۱: ۱۰۰-۸۸.
۳. درویش‌نیا، م.، علیزاده، ع.، و محمدی‌گل‌تپه، الف.، ۱۳۷۷. گونه‌های فوزاریوم و قارچ‌های مرتبط با پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در استان لرستان. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. کرج، صفحه ۲۰.
۴. روانلو، ح.، ۱۳۷۹. اتیولوژی پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در آذربایجان غربی. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. اصفهان. صفحه ۲۱۹.
۵. روانلو، ح.، و بنی‌هاشمی، ص.، ۱۳۷۸. تاکسونومی و بیماری‌زایی فوزاریوم‌های همراه ریشه و طوقه گندم در فارس. بیماری‌های گیاهی ۳۵: ۴۵-۳۷.
۶. روحی بخش، الف.، و ارشاد، ج.، ۱۳۷۹. وقوع قارچ‌های فوزاریوم روی ریشه و طوقه گندم در مناطق سردسیر ایلام. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاه پزشکی ایران. اصفهان. صفحه ۲۱۷.
۷. زارع، ر.، و ارشاد، ج.، ۱۳۷۶. گونه‌های فوزاریوم و جدا شده از غلات در منطقه گرگان. بیماری‌های گیاهی ۳۳(۲-۱): ۱۴-۱.
۸. صارمی، ح.، ۱۳۷۷. اکولوژی و تاکسونومی گونه‌های فوزاریوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱۳۲ صفحه.
۹. صفایی، د.، حجارود، ق.، و اخوت، م.، ۱۳۷۹. گونه‌های فوزاریوم عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گندم آبی در استان کرمانشاه. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاه پزشکی ایران. اصفهان. صفحه ۲۱۶.
۱۰. علامه، ع.، و رزاقی آبیانه، م.، ۱۳۸۰. مایکوئوکسین‌ها. انتشارات دانشگاه امام حسین. ۶۷۸ صفحه.
۱۱. گلزار، ح.، ارشاد، ج.، ۱۳۷۲. بررسی پراکنندگی فوزاریوز خوشه گندم در منطقه گرگان و گنبد و میزان حساسیت ارقام تجاری گندم. خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، رشت. صفحه ۴۲.
۱۲. مرادزاده اسکندری، م.، فلاحتی رستگار، م.، و جعفرپور، ب.، ۱۳۷۷. شناسایی، بیماری‌زایی و پراکنش فوزاریوم‌های همراه ریشه و طوقه گندم در استان خراسان. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. کرج. صفحه ۲۶.

۱۳. وفایی، ح.، فرخی نژاد، ر.، و درویش نیا، م.، ۱۳۸۰. گونه‌های فوزاریوم همراه ریشه و طوقه گندم و جو در استان خوزستان. مجله علمی کشاورزی، جلد ۲۴، شماره ۱. صفحه ۱۰۱-۱۲۵.

14. Burgess, L.W., Liddell, C.M., and Summerell, B.A., 1994. Laboratory manual for *Fusarium* research. Fusarium research laboratory department of crop sciences university of Sydney. 133pp.
15. Butler, F.C., 1961. Root and foot rot diseases of wheat. Department of Agriculture, N.S.W. Science Bulletin No: 77.
16. Draper, M.A., 2000. Common root and crown rots of wheat in South Dakota. Plant science Department South Dakota State University. (SDSU). 3pp.
17. Hestbjerg, H., Nielsen, F., Thrane, U., and Elmholt, S., 2002. Production of Trichothecenes and other secondary metabolites by *F. culmorum* and *F. equiseti* on common laboratory media and soil organic matter agar. J. Agric Food Chem., 50(26), 7593-7599.
18. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., and Marasas, W.F.O., 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, 193pp.
19. Nicol, J.M., and Ryder, M.H., 2005. Soil – borne pathogens of wheat. Training manual. 246 pp.
20. Singleton, L.L., Mihail, J.D., and Rush, C.M., 1992. Methods for research on soil borne phytopathogenic fungi. APS Press, 265pp.
21. Smiley, R., and Patterson, L.M., 1996. Pathogenic fungi associated with foot rot of winter wheat in the semi-arid Pacific Northwest. Plant Diseases 80:944-949.
22. Smiley, R., and Whittaker, R., 2004. Lesion nematodes reduce yield in annual spring wheat. Columbia Basin Agricultural Research Center Annual Report in cooperation with USDA. Agricultural Research Center. 10pp.
23. Strange, R.N., 2003. Introduction to plant pathology, John Wiley & Sons. 464pp.
24. Summerell, B.A., Salleh, B., Leslie, J.F., 2003. A Utilitarian approach to *Fusarium* identification. Plant Disease 87:117-128.
25. Taheri, A.H., 1996. Interaction between root lesion nematode, *Pratylenchus neglectus*, and root rotting fungi of wheat. Ph.D., Thesis. Faculty of Agricultural and Natural Resource Sciences University of Adelaide.
26. Wiese, M.V., 1987. Compendium of wheat diseases. American Phytopathological Society Press, 122pp.
27. Xue, A.G., Armstrang, K.C., Voldeng, H.D., Fedak, G., and Babcock, C., 2004. Comparative aggressiveness of isolates of *Fusarium* spp. causing headblight on wheat in Canada. Can. J. Plant. Pathol. 26:81-88.

Identification and pathogenicity of *Fusarium spp.* isolated from root and crown of wheat in Gorgan area

R. Maghsodloo, A. Taheri and K. Rahnama

¹Former M.Sc. student, ²Assistant Prof. and Associate Prof. of Dept. of Plant Protection, Respectively, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

In order to identify *Fusarium spp.* associated with root and crown rot of wheat, several fields in different regions of Gorgan city were sampled during growing season (2003-2004). Samples with chlorosis, abnormal growth, decay root and foot were collected. For isolation of fungi, discolored segments (root and crown) were surface disinfected with 0.5% NaOCl. Then cultured on Potato Dextrose Agar with pH .For exact observation some characteristics of species were used from Carnation Leaf Agar medium. Among the 18 *Fusarium* isolates, 6 species were identified as: *Fusarium moniliforme*^{*}, *F. nygamai*, *F. solani*^{*}, *F. oxysporium*^{*}, *F. equiseti*^{*}, *F. semitectum*^{*}. A Few isolates (*) were used for pathogenicity tests by mixing autoclaved soil with inoculum (colonized wheat seeds with on isolate) and spore suspension under lab and green house condition. *F. equiseti* and *F. semitectum* were only pathogenic and able to cause root and foot rot in wheat.

Keywords: Fusarium; Wheat; Root and Crown Rot; Gorgan