

بررسی بیماری‌های فوزاریومی گوجه‌فرنگی در استان آذربایجان شرقی

*علی ویانی^۱، عزیزا... علیزاده^۲، محمد بابادوست^۳ و ابراهیم پیغامی^۳

^۱ مربی گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه یاسوج، ^۲ استاد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، ^۳ دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه تبریز
تاریخ دریافت: ۸۴/۷/۹؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۲/۸

چکیده

طی سال‌های ۱۳۷۵ و ۱۳۷۶ آلودگی‌های فوزاریومی در گیاهان گوجه‌فرنگی در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی مورد مطالعه قرار گرفت. مزارع گوجه‌فرنگی در شهرستان‌های بناب، تبریز، شبستر، مراغه، مرند و میانه که مناطق عمده کشت این محصول در استان هستند مورد بررسی قرار گرفته و از گیاهان دارای علائم بیماری نمونه‌برداری به‌عمل آمد. بر اساس نتایج بدست آمده آلودگی‌های فوزاریومی در کلیه مناطق بررسی شده وجود داشت و در سال‌های مذکور به ترتیب ۷۲ و ۷۵ درصد مزارع مورد بازدید دارای آلودگی بودند. بیشترین میزان آلودگی در مناطق عجب شیر و شبستر و میانه مشاهده گردید. میانگین درصد گیاهان آلوده در سال‌های ۱۳۷۵ و ۱۳۷۶ به ترتیب $7/2 \pm 7/9$ درصد و $7/3 \pm 7/4$ درصد تخمین زده شد. جدایه‌های قارچی بدست آمده از کشت‌های خالص تک اسپوری، به‌عنوان گونه‌های *F.solani*, *Fusarium oxysporum*, *F.acuminatum*, *F.equiseti*, *F.proliferatum* تشخیص داده شد و فراوانی گونه‌های مذکور به ترتیب ۳۰، ۳۴/۸، ۲۵، ۸۵/۵ و ۴/۲۱ درصد بود. در آزمون بیماری‌زایی همه گونه‌های فوق در گیاهچه‌ها باعث بیماری و مرگ‌ومیر شدند. غیر از گونه *F.oxysporum* بقیه گونه‌ها به‌عنوان عامل بیماری بر روی گوجه‌فرنگی برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: فوزاریوم، گوجه‌فرنگی، آذربایجان شرقی، بیماری

مقدمه

پژمردگی فوزاریومی یکی از مهمترین و شایع‌ترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی در مناطق زیر کشت این گیاه محسوب می‌شود که تا بحال از پنج قاره جهان و دست کم از ۳۲ کشور دنیا گزارش شده است (بوث، ۱۹۷۱؛ والکر، ۱۹۸۱). در این بیماری گیاهچه‌های آلوده کوتاه و برگ‌های جوان زرد و قهوه‌ای شده و برگ‌های مسن ریزش می‌کنند یا بطرف پایین خم می‌شوند و در نهایت گیاهچه‌های بیمار پژمرده شده و می‌میرند. قهوه‌ای شدن

سیستم آوندی از ویژگی‌های خاص این بیماری بوده و جهت تشخیص بیماری بکار می‌رود. این تغییر رنگ بطرف قسمت‌های بالاتر ساقه نیز ادامه داشته اما قسمت پارانشیم مغز ساقه سالم باقی می‌ماند. در برخی موارد، پژمردگی و علائم بیماری تنها در تعدادی از شاخه‌های گیاهان بیمار مشاهده می‌شود (اگریوس، ۲۰۰۴؛ جونز و همکاران، ۱۹۹۱). عامل اصلی و مهم پژمردگی گوجه-فرنگی عبارت از قارچ *Fusarium oxysporum* Schl. f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen (با نام اختصاری

گوجه فرنگی یکی از استان‌های مهم کشور در تولید این محصول بوده و جهت افزایش عملکرد و جلوگیری از خسارت وارده به آن توجه جدی به بیماری‌های این گیاه از جمله بیماری‌های فوزاریومی باید نمود. از آنجا که تابحال هیچ نوع گزارش رسمی از وقوع و اهمیت این بیماریها در استان آذربایجان شرقی ارائه هر گونه سرمایه‌گذاری در کنترل یک بیماری بدون داشتن اطلاعات اولیه در مورد آن، کاری غیر اصولی و بدور از صرفه اقتصادی خواهد بود، از این رو، تحقیق حاضر با اهداف بررسی و مطالعه در زمینه مناطق انتشار، درصد آلودگی گیاهان در مزارع مختلف استان، شناسایی گونه یا گونه‌های فوزاریوم عامل بیماری و تعیین گونه غالب و اصلی صورت گرفت.

مواد و روشها

جهت بررسی پراکنش و وقوع بیماری‌های فوزاریومی گوجه فرنگی در استان آذربایجان شرقی نمونه‌برداری طی سال‌های ۱۳۷۵ و ۱۳۷۶ از مناطق مهم زیر کشت این محصول شامل بناب، تبریز، خسرو شهر، شبستر، عجب‌شیر، گوگان، مرند و میانه انجام شد. در هر سال تعداد ۷۲ مزرعه در مناطق ذکر شده در طول ماه‌های تیر تا مهر مورد بازدید و نمونه برداری قرار گرفتند. در هر مزرعه با حرکت روی مسیری به شکل M، تعداد یکصد عدد بوته بطور تصادفی بررسی و با توجه به علائم ظاهری بیماری‌های فوزاریومی، درصد آلودگی تخمین زده شد. مهمترین ارقام مورد کشت در مناطق مذکور شامل رد کلود^۱ و وسترن رد^۲ بود که از هر مزرعه مورد بررسی تعداد پنج عدد بوته آلوده بصورت تصادفی انتخاب و پس از انتقال به آزمایشگاه قطعاتی از ریشه و ساقه آنها بر روی محیط‌های عصاره سیب زمینی - دکستروز - آگار حاوی اسید لاکتیک و محیط کشت نش و اسنایدر^۳ (بوث، ۱۹۷۱؛ نلسون و همکاران، ۱۹۸۳) کشت گردید.

FOL می‌باشد (والکر، ۱۹۸۱) اما گونه‌های زیاد دیگری نیز از جمله *F.moniliforme*, *F.acuminatum*, *F.avenaceum*, *F.solani*, *F.equiseti*, *F.culmorum* و *F.semitectum*, *F.lateritium*, به‌عنوان عاملین پژمردگی و یا پوسیدگی ریشه و پایه گوجه‌فرنگی بوسیله بوث (۱۹۷۱)، کوکوزا و همکاران (۱۹۹۲)، کاپور (۱۹۸۸)، واودری و پترسون (۱۹۸۸) و ولکان و لوری (۱۹۹۱) از سرتاسر جهان گزارش شده‌اند. فرم مخصوص دیگری نیز از عامل بیماری بنام *F.oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) از کشورهای مختلف گزارش شده است (برامال و لینچ، ۱۹۹۰؛ جارویس و شومیکر، ۱۹۷۸؛ جونز و همکاران، ۱۹۹۱؛ سیوان و پت، ۱۹۹۳؛ یاماموتو و همکاران، ۱۹۷۴) که عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی بوده و در مقایسه با فرم مخصوص عامل پژمردگی، فاقد حرکت در آوندهای ساقه، دارای دامنه میزبانی بسیار گسترده و نیازمند دمای پایین‌تر برای فعالیت می‌باشد (جارویس و شومیکر، ۱۹۷۸). در ایران پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی برای نخستین بار در سال ۱۳۶۴ از استان هرمزگان و از مناطق گوربند، میناب، قلعه‌قازی، رضوان، سرخون و کهورستان گزارش و عامل بیماری تنها قارچ FOL معرفی شد (فصیحیانی، ۱۹۸۵) و سپس بیماری مذکور از منطقه ورامین با حداکثر آلودگی ۲۷/۳ درصد گزارش گردید (اعتباریان، ۱۹۸۹). در مناطق مختلف استان سمنان نیز بیماری خشکیدگی بوته‌های گوجه فرنگی در مرحله گلدهی از خزانه‌ها و مزارع گزارش شده است (امتی و ارشاد، ۲۰۰۴).

بیماری پژمردگی فوزاریومی به‌علت دارا بودن خصوصاتی از قبیل برخورداری از انتشار گسترده، ایجاد خسارت قابل ملاحظه، بقای طولانی مدت عامل بیماری در خاک، داشتن نژادهای فیزیولوژیک مختلف و مشکل بودن مبارزه شیمیایی با آن در ردیف مهمترین و مورد توجه‌ترین بیماری‌های گوجه فرنگی قرار گرفته است (اگریوس، ۲۰۰۴؛ جونز و همکاران، ۱۹۹۱). استان آذربایجان شرقی به‌دلیل داشتن سطح زیر کشت وسیع

1- Red Cloude
2- Western Red
3- Nash & Snyder medium

قارچ در ارلن مایرهای محتوی محیط مایع عصاره سیب زمینی و دکستروز^۸ و سپس جدا کردن اسپورها و سانتریفیوژ کردن آنها در ۳ هزار دور در دقیقه بدست آمد. بر اساس روش اول اثبات بیماری‌زایی یعنی نگهداری ممتد گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور فوزاریوم^۹ (فریمن و رودریگیوز، ۱۹۹۳) گیاهچه‌های چهارده روزه و سالم گوجه‌فرنگی با دقت از پرلیت بیرون آورده شده و در داخل لوله‌های آزمایش محتوی ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروکنیدی فوزاریوم با تراکم^{۱۰} ۱۰^۶ اسپور در هر میلی‌لیتر نگهداری شدند. در تیمار شاهد ریشه گیاهچه‌ها در لوله‌های آزمایش محتوی آب آگار ۰/۰۵ درصد سترون قرار داده شد. هر جدایه در ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. لوله‌های آزمایش محتوی گیاهچه‌ها در دمای ۲۸- ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در رطوبت نسبی ۷۰-۶۵ درصد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با شدت نور ۸۸ هزار لوکس نگهداری گردید.

در روش دوم برای اثبات بیماری‌زایی یعنی روش استاندارد فرو بردن ریشه گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور و کشت آنها در گلدان^{۱۱} (بوث، ۱۹۷۱؛ باثو و همکاران، ۲۰۰۲؛ فریمن و رودریگیوز، ۱۹۹۳) ریشه سالم گیاهچه‌های چهارده روزه گوجه‌فرنگی پس از شسته شدن با آب مقطر سترون، به مدت یک دقیقه در سوسپانسیون میکروکنیدی فوزاریوم با تراکم^{۱۰} ۱۰^۶ اسپور در هر میلی‌لیتر فرو برده شده و سپس به داخل گلدان‌های محتوی خاک ماسه‌ای سترون انتقال یافت. هر جدایه در چهار تکرار مورد آزمایش قرار گرفت و هر تکرار شامل پنج گیاهچه در هر گلدان بود. گلدان‌ها با مقدار کمی آب مقطر ضدعفونی شده آبیاری شده و ابتدا مدتی در معرض نور غیر مستقیم و سپس در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط طبیعی محیط مزرعه با ۱۴ ساعت دوره نوری نگهداری و هر هفته ۲-۱ بار آبیاری شدند.

پراکنه‌های متعلق به جنس فوزاریوم به روش تک اسپوری کردن (آرمتروت، ۱۹۸۸؛ نلسون و همکاران، ۱۹۸۳؛ صارمی، ۲۰۰۳) خالص سازی و بدخل لوله‌های آزمایش محتوی محیط کشت عصاره سیب زمینی منتقل شد. تمامی کشت‌های قارچی در دمای متناوب ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۰ درجه در شب و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در زیر نور لامپ فلورسنت ۴۰ وات قرار گرفت (صارمی، ۲۰۰۳؛ نلسون و همکاران، ۱۹۸۳). جهت تحریک اسپورزایی در جدایه‌های فاقد اسپور یا فاقد ماکروکنیدی^۱ مشخص از محیط کشت برگ میخک- آگار^۲ و جهت مشاهده میکروکنیدی‌های^۳ زنجیری شکل در جدایه‌های دارای این نوع اسپورزایی از محیط کشت آب آگار دارای کلرید پتاسیم^۴ استفاده شد (نلسون و همکاران، ۱۹۸۳). تشخیص جدایه‌های فوزاریوم با استفاده از روش نلسون و همکاران (۱۹۸۳) و براساس خصوصیتی از قبیل رنگ پراکنه، میزان رشد در روی محیط کشت عصاره سیب زمینی، وجود یا فقدان میکروکنیدی‌ها و نحوه تشکیل آنها، وجود یا فقدان کلامیدوسپورها^۵ و نوع آنها، شکل ماکروکنیدی‌ها و نوع کنیدیوفورها^۶ و فیالیدها^۷ (سلول‌های انگشتی یا بطری شکل) صورت گرفت. ابعاد میکروکنیدی‌ها، ماکروکنیدیها، کلامیدوسپورها و فیالیدها نیز با استفاده از لوله ترسیم و با شمارش تعداد یکصد عدد از هر کدام اندازه‌گیری گردید.

برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم، بذور ارقام حساس گوجه‌فرنگی شامل رد کلود و وسترن رد پس از ضدعفونی با محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه، در جعبه‌های پلاستیکی محتوی پرلیت سترون کشت گردید. مایه تلقیح قارچ عامل بیماری (میکروکنیدی‌ها) به روش باثو و همکاران (۲۰۰۲) و فریمن و رودریگیوز (۱۹۹۳) با کشت یک قطعه از پراکنه

- 1- Macroconidium
- 2- Carnation Leaf Agar (CLA)
- 3- Microconidium
- 4- KCl medium
- 5- Chlamydospore
- 6- Conidiophore
- 7- Phialide

- 8- Potato Dextrose Broth
- 9- Continuous - dip inoculation technique
- 10- Standard root dip inoculation method

در هر دو روش اثبات بیماری‌زایی علائم بیماری و میزان مرگ و میر گیاهچه‌ها به‌طور روزانه یاد داشت گردید. آنگاه اعداد بدست آمده ابتدا با استفاده از فرمول Arcsin جذر درصد مرگ گیاهچه‌ها تبدیل به اعدادی شدند که به توزیع نرمال نزدیک‌تر باشند (تبدیل به زاویه) و سپس تجزیه واریانس به‌روش ترتیبی یا آشیانه‌ای دو سطحه با تعداد نمونه غیریکسان^۱ انجام گرفت.

نتایج

علائم: در بررسی‌های مزرعه‌ای، علائم بیماری بصورت پژمردگی، زرد و قهوه‌ای شدن برگ‌ها، خمیدگی دمبرگ‌ها و در موارد شدید به‌صورت خشکیدگی و سوختگی و ریزش برگ‌ها و خشکیدگی شاخه‌های جوان مشاهده شد. علائم غالباً در یکطرف گیاه و در تعدادی از انشعابات ساقه قابل رویت بود. شاخه‌های آلوده رشد کمتری داشته و در حالت شدت بیماری کوتولگی گیاه کاملاً مشهود بود. در برش‌های طولی و عرضی از ناحیه ریشه و ساقه گیاهان بیمار، بافت آوندی بزرگ قهوه‌ای درآمده و در بررسی‌های میکروسکوپی انسداد آوندی بخوبی دیده می‌شد. در مواردی نیز علائم پوسیدگی بر روی ریشه‌ها مشاهده گردید (شکل ۱ الف - ط). تعداد میوه‌های تشکیل شده بر روی بوته‌های آلوده نسبت به بوته‌های سالم کمتر بوده و وزن آنها نیز کاهش چشمگیری نشان می‌داد. این علائم بر روی هر دو گونه گوجه‌فرنگی مورد کشت در منطقه مشابه بود.

پراکنش و درصد آلودگی: نمونه‌برداری‌های صورت گرفته از مزارع گوجه‌فرنگی نشان داد که بیماری‌های فوزاریومی در کلیه مناطق بررسی شده در استان وجود داشت. این بیماری‌ها در سال‌های ۱۳۷۵ و ۱۳۷۶ به‌ترتیب در ۷۲ و ۷۵ درصد مزارع استان مشاهده گردید. مزارع غیر آلوده در برخی مناطق بناب، تبریز، خسروشهر و مرند

بود. وقوع این بیماری‌ها در مناطق مختلف استان در سال ۱۳۷۵ بین ۵۰-۰ درصد و در سال ۱۳۷۶ بین ۴۱-۰ درصد متغیر بود. بر اساس مشاهدات صورت گرفته، آلودگی مزارع از اواسط تیر ماه کم‌کم نمود پیدا کرد و در اواخر شهریور یا اوایل مهر ماه به نهایت خود رسید و پس از آن بوته‌ها بکلی خشک شده و از بین رفتند. در هر دو سال بیشترین میزان درصد آلودگی گیاهان در مناطق شبستر، عجب‌شیر و میانه مشاهده گردید. در حالت کلی میانگین درصد آلودگی در کل مناطق بررسی شده استان در سال ۱۳۷۵ برابر $7/2 \pm 7/9$ درصد و در سال ۱۳۷۶، $7/3 \pm 7/4$ درصد در هر مزرعه تخمین زده شد (جدول ۲).

شناسایی گونه‌ها و فراوانی آنها: در بررسی‌های آزمایشگاهی، گونه‌های مختلف قارچ فوزاریوم از تمامی بوته‌های آلوده نمونه‌برداری شده و از هر دو رقم گوجه‌فرنگی مورد کشت در منطقه جدا گردید. جدایه‌های فوزاریوم به‌دست آمده از گیاهان بیمار، پس از تک اسپور شدن، به‌ترتیب فراوانی به‌عنوان گونه‌های *F. equiseti*, *F. solani*, *F. oxysporum* و *F. acuminatum* تشخیص داده شدند و فراوانی گونه‌های مذکور به‌ترتیب ۳۰، ۲۵، ۳۴/۸ و ۵/۸۵ درصد بود (جدول ۳).

بنابراین *F. oxysporum* به‌عنوان گونه غالب و اصلی در منطقه شناخته شد. گونه *F. solani* هم از گیاهان بیمار دارای سیستم ریشه‌ای سالم و هم از گیاهان دارای ریشه‌های پوسیده جدا شد. بقیه گونه‌های فوزاریوم ایجاد پوسیدگی در ریشه ننموده و از گیاهان دارای سیستم ریشه‌ای به‌ظاهر سالم جدا سازی گردیدند. برای اطمینان از تشخیص گونه‌های فوزاریوم، جدایه‌های نمونه به مرکز فوزاریوم‌شناسی دانشگاه ایالتی پنسیلوانیای امریکا ارسال گردید و توسط دکتر نلسون مورد تأیید قرار گرفت.



شکل ۱- علائم بیماری‌های فوزاریومی در مزارع گوجه فرنگی در آذربایجان شرقی، الف: پژمردگی بوته‌ها، ب: قهوه‌ای شدن و سوختگی شدید برگها، ج: مشاهده علائم بیماری در برخی شاخه‌ها، د: یک طرفه بودن علائم بیماری و کوتولگی بوته‌ها، هـ - و: تغییر رنگ بافت آوندی گیاهان بیمار در مقایسه با گیاهان سالم، ز: انسداد آوندی در برش میکروسکوپی از آوندهای چوبی بوته‌های آلوده ح: برش میکروسکوپی از آوندهای چوبی بوته‌های سالم، ط: پوسیدگی ریشه‌ها

جدول ۱- درصد آلودگی گیاهان گوجه فرنگی به بیماری‌های فوزاریومی در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی.

منطقه	سال ۱۳۷۵		سال ۱۳۷۶	
	دامنه تغییرات	میانگین	دامنه تغییرات	میانگین
بناب	۰-۲	۰/۵	۰-۴	۰/۹
تبریز	۰-۱۹	۲/۷	۰-۷	۱/۲
خسروشهر	۰-۹	۳/۲۵	۰-۴	۱/۷
شبستر	۴-۲۵	۱۳/۴	۳-۳۲	۱۶/۱
عجب شیر	۵-۴۴	۱۶/۴	۴-۳۰	۱۵
گوگان	۱-۹	۴/۱	۱-۷	۳/۹
مرند	۰-۹	۳/۹	۰-۸	۳/۱
میانه	۶-۵۰	۱۹/۱	۷-۴۱	۱۷/۱
میانگین کل		۷/۹ ± ۷/۲		۷/۴ ± ۷/۳

جدول ۲- درصد جداسازی گونه‌های فوزاریوم از گیاهان بیمار گوجه فرنگی در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی.

منطقه	<i>F.oxysporum</i>	<i>F.solani</i>	<i>F.equiseti</i>	<i>F.acuminatum</i>	<i>F.proliferatum</i>
تبریز	۴۵	۳۵	۲۰	۰	۰
خسروشهر	۱۷	۲۵	۴۲	۸	۸
شبستر	۳۰	۷۰	۰	۰	۰
عجب شیر	۵۷	۱۵	۲۸	۰	۰
گوگان	۲۴	۳۱/۵	۳۶/۵	۴	۴
مرند	۴۵	۲۲	۲۷	۶	۰
میانه	۲۶	۱۲	۲۱/۵	۲۳	۱۷/۵
میانگین	۳۴/۸	۳۰/۰۷	۲۵	۵/۸۵	۴/۲۱

مشخصات گونه‌های فوزاریوم

۱- *F. acuminatum*: رنگ پرگنه ابتدا سفید و سپس کرمی قهوه‌ای و گاهی قرمز ارغوانی یا زعفرانی رنگ سطح زیرین پرگنه قهوه‌ای گاهی قرمز قهوه‌ای تند، رشد در PDA سریع (بیش از ۷ سانتی متر در ۱۰ روز) گاهی نسبتاً آهسته، میکروکنیدی اغلب نادر یا کم، یک یا دو سلولی، تخم مرغی شکل، تشکیل بصورت انفرادی روی فیالید، انواع تک سلولی به ابعاد ۱/۸-۳/۶ × ۱۲-۳/۶ و در حالت دو سلولی به ابعاد ۳/۶-۲۴ × ۲/۴-۱۳/۲ میکرون، ماکروکنیدی داسی شکل و دیواره‌های طولی آن با خمیدگی غیر یکسان، سلول تحتانی بشکل پاشنه و سلول رأسی باریک و نوک تیز، دارای ۶-۳ جداره عرضی (اغلب

۳-۴ جداره) به ابعاد ۴/۳-۳ × ۵۰/۴-۳۱/۲ میکرون، کنیدیوفور تک فیالیدی ساده یا منشعب، طول فیالیدها ۱۳/۲-۴/۸ میکرون، کلامیدوسپور بصورت انفرادی گاهی بصورت جفت و گاهی زنجیری به ابعاد ۱۱/۴-۱۳/۲ × ۶-۱۳/۲-۸/۴ میکرون (شکل ۲).

۲- *F. equiseti*: رنگ پرگنه ابتدا سفید و سپس کرمی قهوه‌ای یا قهوه‌ای مایل به زرد، رنگ سطح زیرین پرگنه کرمی قهوه‌ای یا قهوه‌ای مایل به زرد، رشد در PDA بسیار سریع (بیش از ۷ سانتی متر در ۱۰ روز و پوشاندن تمام سطح محیط کشت)، میکروکنیدی کم یا نادر، تخم مرغی شکل، تشکیل بصورت انفرادی روی فیالید، درحالت یک سلولی به ابعاد ۳-۱۲ × ۱/۸-۵/۴ و در حالت

ابعاد $3-5/4 \times 84-51/6$ میکرون، کنیدیوفور منوفیالیدی ساده یا منشعب، طول فیالید $16/5-9$ میکرون، کلامیدوسپور بصورت زنجیری یا گرهی و گاهی با دیواره‌های بسیار ضخیم و گاهی ناصاف به قطر $13/2-9/6$ میکرون، اسپورزایی در اغلب جدایه‌ها در محیط PDA بسیار کم یا فاقد اسپورزایی (شکل ۳).

دو سلولی به ابعاد $4/8-21/6 \times 2/4-10/8$ میکرون، ماکروکنیدی داسی شکل گاهی با خمیدگی زیاد و دیواره‌های طولی آن با خمیدگی کاملاً غیر یکسان، سلول تحتانی (پایه) مشخصاً بصورت پاشنه و سلول رأسی باریک و طویل و عامل مهم خمیدگی کنیدی، دارای $3-8$ جداره عرضی (اغلب $4-5$ جداره)، انواع $4-5$ سلولی به ابعاد $3/12-4/8 \times 32/4-44/4$ و انواع $6-9$ سلولی به



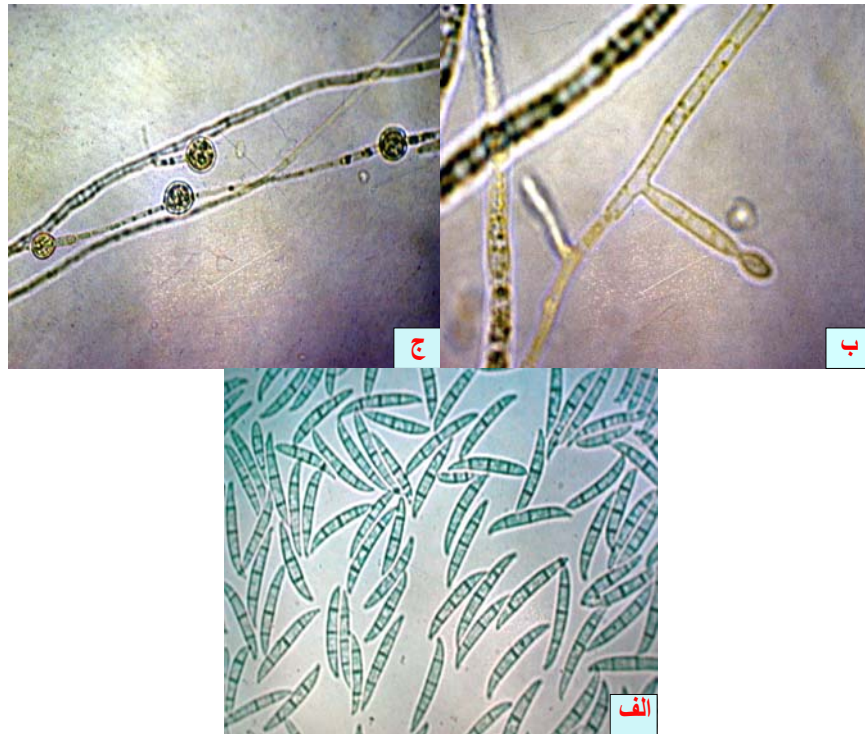
شکل ۲- اندام‌های زایشی در *F. acuminatum*. الف: ماکروکنیدی و میکروکنیدی (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر) ب: کلامیدوسپور زنجیری (بزرگنمایی ۶۰۰ برابر)



شکل ۳- *F. equiseti* (۶۰۰ برابر). الف: ماکروکنیدی، ب: کلامیدوسپور گرهی، ج: کلامیدوسپور زنجیری.

اغلب با خمیدگی غیر یکسان، سلول رأسی نازک و باریک و سلول پایه به شکل پاشنه، دارای $2-5$ جداره عرضی (اغلب 3 جداره)، به ابعاد $3-5/4 \times 27/6-50/4$ میکرون، کنیدیوفور منوفیالیدی کوتاه ساده یا منشعب، طول فیالیدها $14/4-7/2$ میکرون، کلامیدوسپور بصورت انفرادی و جفت به قطر $12-5/4$ میکرون (شکل ۴).

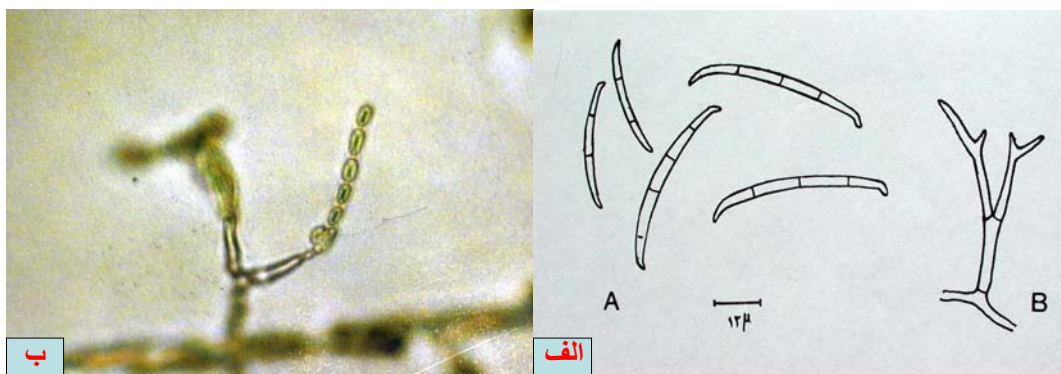
۳- *F. oxysporum*: رنگ پرگنه سفید کرمی مایل به ارغوانی، سطح زیرین پرگنه کرمی ارغوانی، رشد در PDA سریع، میکروکنیدی فراوان، یک تا دو سلولی، بیضوی تا تخم‌مرغی، تشکیل بر روی فیالید بصورت سرکاذب، انواع یک سلولی به ابعاد $3/6-1/8 \times 10/2-3/6$ و انواع دوسلولی $3-3/9 \times 16/2-9/6$ میکرون، ماکروکنیدی تا حدی داسی شکل و دیواره‌های طولی آن



شکل ۴- *F. oxysporum*: الف: ماکروکنیدی (۶۰۰ برابر)، ب: میکروکنیدی روی منوفالید (۱۰۰۰ برابر)، ج: کلامیدوسپور انفرادی (۸۰۰ برابر).

ماکروکنیدی کشیده با خمیدگی کم، دیواره‌های طولی در بیشتر طول اسپور موازی، سلول پایه به شکل پاشنه و سلول انتهایی باریک و نوک تیز، دارای ۲-۴ جداره عرضی، به ابعاد $۳-۳/۶-۴۹/۲ \times ۳-۳/۶$ میکرون، کنیدیوفور منوفالیدی و پلی فیالیدی به صورت ساده یا منشعب، منوفالیدها به طول $۸/۴-۱۴/۴$ میکرون، کلامیدوسپور غیر موجود (شکل ۵).

۴- *F. proliferatum*: رنگ پرگنه سفید مایل به کرمی یا ارغوانی رنگ، سطح زیرین پرگنه سفید کرمی یا کرمی ارغوانی، رشد در PDA سریع، میکروکنیدی فراوان، تک سلولی، گرد یا تخم مرغی، تشکیل بر روی فیالیدها هم بصورت زنجیری و هم بصورت سرکاذب، تشکیل آنها به صورت زنجیری در محیط کشت آب آگار دارای کلریدپتاسیم (KCl medium) بصورت بسیار مشخص، دارای ابعاد $۱۵/۶-۳/۶ \times ۱/۴-۳/۶$ میکرون،



شکل ۵- *F. proliferatum* (۱۰۰۰ برابر): الف (A): ماکروکنیدی، الف (B): پلی فیالید، ب: میکروکنیدی زنجیری.

۵ - *F. solani*: رنگ پرگنه ابتدا سفید و بعد با پوشیده شدن سطح آن توسط اسپورودوکیوم‌های متصل به هم به رنگ کرمی یا کرمی خاکستری یا سبز گاهی ارغوانی تیره، سطح پرگنه به حالت لزج، رنگ سطح زیرین پرگنه ارغوانی کمرنگ یا خاکستری قهوه‌ای یا قهوه‌ای مایل به زرد یا قهوه‌ای تیره مایل به بنفش، رشد در PDA نسبتاً سریع (تا ۷ سانتی متر در ۱۰ روز) گاهی آهسته، میکروکنیدی فراوان، یک تا دو سلولی، تخم مرغی یا بیضوی یا قله‌ای شکل، با دیواره‌های ضخیم، تشکیل بر روی فیالید به صورت سر کاذب، انواع یک سلولی به ابعاد

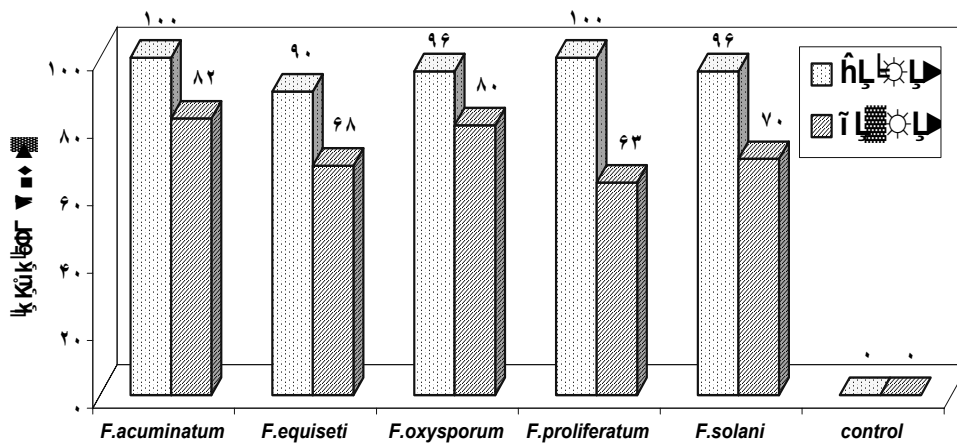
۳-۶ × ۱۶/۲-۵/۴ و انواع دو سلولی به ابعاد ۳-۴/۸ × ۲۵/۲-۱۳/۲ میکرون، ماکروکنیدی بدون خمیدگی مشخص و دیواره‌های طولی آن در بیشتر طول اسپور موازی، دارای دیواره‌های ضخیم، سلول راسی بدون نوک و گرد، سلول پایه گرد یا به صورت فرو رفته، دارای ۳-۶ جداره عرضی (اغلب ۳-۴ جداره)، به ابعاد ۵/۷-۳۲/۴-۵۵/۲ × ۳/۹ میکرون، کنیدیفور منوفیالیدی ساده یا منشعب، فیالیدها بسیار طویل و ۱۲۰-۳۹ میکرون، کلامیدوسپورها انفرادی و جفت به ابعاد ۹/۶-۶ × ۱۰/۸-۷/۸ میکرون (شکل ۶).



شکل ۶- *F. solani* (۴۰۰ برابر)، الف: ماکروکنیدی، ب: منوفیالیدهای بسیار دراز و طویل.

اثبات بیماری زایی: در هر دو روش مورد استفاده جهت اثبات بیماری زایی، تمامی جدایه‌ها از پنج گونه فوزاریوم، علائم بیماری را بصورت زردی و پژمردگی برگ‌ها و در نهایت پژمردگی و مرگ گیاهچه‌های گوجه فرنگی نشان دادند. از کلیه گیاهان بیمار، قارچ فوزاریوم دوباره جدا گردید. در تیمار شاهد هیچ نوع علائم بیماری و مرگ گیاهچه‌ها مشاهده نشد. در بررسی‌های آماری در هر دو

روش مورد استفاده اختلاف شاهد با بقیه جدایه‌های قارچ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. گونه‌های فوزاریوم هیچ نوع اختلاف معنی‌داری با یکدیگر از نظر درصد مرگ گیاهچه‌ها نشان ندادند، اما اختلاف بسیار معنی‌داری ما بین جدایه‌ها در داخل هر گونه وجود داشت (شکل ۷ و جدول ۳).



شکل ۷- میانگین درصد مرگ گیاهچه‌های گوجه فرنگی رقم رد کلود در واکنش به گونه‌های قارچ فوزاریوم.

روش اول: نگهداری مداوم گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور فوزاریوم

روش دوم: فرو بردن ریشه گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور و کشت در گلدان

جدول ۳- خلاصه تجزیه واریانس درصد مرگ گیاهچه‌های گوجه فرنگی رقم رد کلود در اثرگونه‌های مختلف قارچ فوزاریوم.

F		درجه آزادی	منابع تغییر
روش دوم	روش اول		
65**	18/3**	1	شاهد در مقابل بقیه
0/7 ^{ns}	1/7 ^{ns}	4	گونه
14/2**	25/6**	29	جدایه
		105	اشتباه
		139	کل

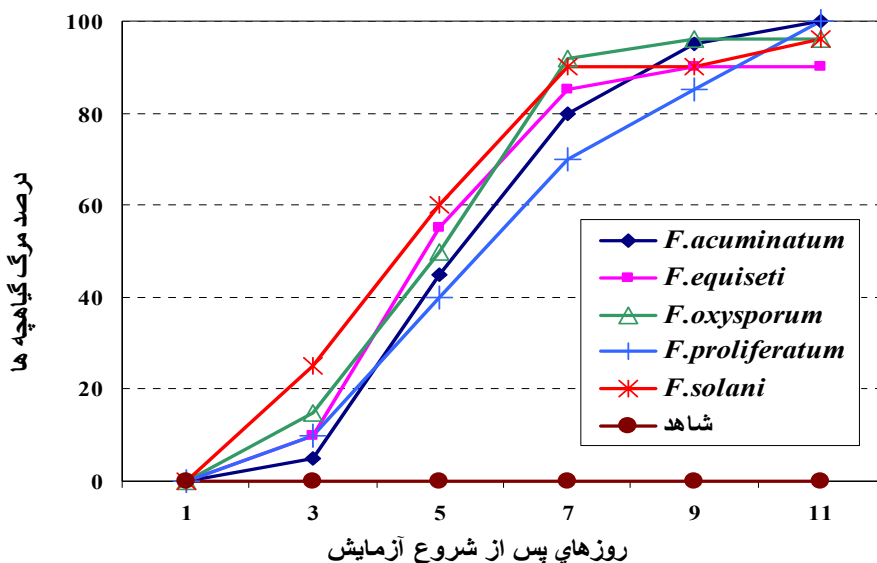
ns: عدم اختلاف معنی‌دار ** : اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

روش اول: نگهداری مداوم گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور فوزاریوم

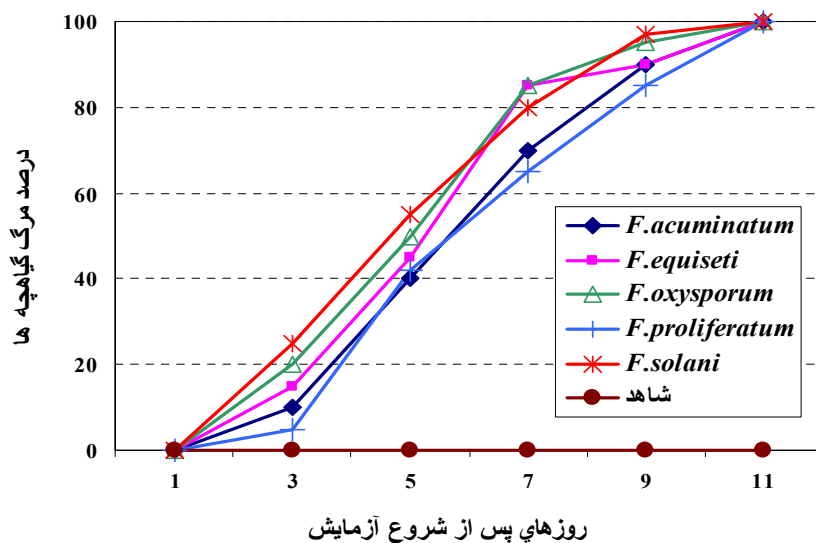
روش دوم: فرو بردن ریشه گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور و کشت در گلدان

آزمایش تقریباً تمامی گیاهچه‌ها پژمرده شده و از بین رفتند در حالی که در تیمار شاهد تمامی گیاهچه‌ها سالم بودند (شکل‌های ۸ و ۹).

در بررسی واکنش ارقام عمده مورد کشت در استان در برابر گونه‌های مختلف قارچ فوزاریوم، هر دو رقم ردکلود و وسترن رد بصورت مشابه، حساسیت شدید به بیماری نشان دادند و پس از گذشت ۹-۱۱ روز از شروع



شکل ۸- واکنش گوجه‌فرنگی رقم ردکلود در برابر گونه‌های مختلف *Fusarium* با استفاده از روش Continuous - dip inoculation.



شکل ۹- واکنش گوجه‌فرنگی رقم وسترنرد در برابر گونه‌های مختلف *Fusarium* با استفاده از روش Continuous - dip inoculation.

شرقی، مطابقت کاملی با علائم مشخص این بیماری داشت. در بررسی‌های مزرعه‌ای، علاوه بر علائم مربوط به پژمردگی، پوسیدگی در ریشه‌ها نیز در گیاهان بیمار در برخی مزارع مشاهده و از اینگونه گیاهان قارچ *F. solani* جدا گردید. این گونه از فوزاریوم به‌عنوان عامل پوسیدگی پایه و ریشه در گزارش‌های کوزا و همکاران (۱۹۹۲)، ولکان و لوری (۱۹۹۱)، کاپور (۱۹۸۸)، واودری و

بحث

از ویژگی‌های بارز بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی، زردی و پژمردگی، نکروز برگ‌ها، قهوه‌ای شدن بافت آوندی در ناحیه ریشه، طوقه و ساقه و بروز علائم بیماری در یکطرف گیاه بیمار می‌باشد (آگریوس، ۲۰۰۴؛ جونز و همکاران، ۱۹۹۱). علائم بیماری مشاهده شده در مزارع گوجه‌فرنگی در مناطق مختلف استان آذربایجان

پترسون (۱۹۸۸)، بوث (۱۹۷۱) نیز اشاره شده است. در بررسی‌های مزرعه‌ای هیچ نوع علائم پوسیدگی ناشی از قارچ فوزاریوم در میوه‌ها مشاهده نگردید. با توجه به موارد فوق می‌توان آلودگی‌های فوزاریومی مشاهده شده در مزارع گوجه فرنگی مناطق مختلف استان را به دو قسمت پژمردگی فوزاریومی و پوسیدگی ریشه یا پایه فوزاریومی تقسیم نمود. آلودگی گیاهان در مناطق مختلف استان بیشتر از نوع اول بوده و بیماری نوع دوم، در منطقه شبستر بیشتر شایع بوده، در بقیه مناطق به صورت پراکنده مشاهده گردید.

بر اساس آمارهای به‌دست آمده در نمونه‌برداری‌های سال ۱۳۷۵ و ۱۳۷۶، بیماری‌های فوزاریومی گوجه‌فرنگی در تمامی نواحی زیر کشت گوجه‌فرنگی در استان شیوع داشت. در مناطق میانه، عجبشیر و شبستر، آلودگی گیاهان به قارچ فوزاریوم بسیار بالا بود که به نظر می‌رسد به دلیل مساعد بودن شرایط محیطی نظیر دمای هوای بالاتر، بافت شنی خاک، کشت مداوم ارقام حساس و عدم رعایت تناوب زراعی باشد. اظهارات آگریوس (۲۰۰۴)، نلسون و همکاران (۱۹۸۱)، جونز و همکاران (۱۹۹۱) و سیوان و چت (۱۹۹۳) مبنی بر اینکه پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی مختص نواحی با آب و هوای گرم بوده و در خاک‌های اسیدی و شنی دارای رطوبت متوسط و با کشت ارقام حساس شایع است می‌تواند تائید کننده و گواه ادعای فوق باشد. در بررسی پراکنش بیماری، بخش‌هایی از مناطق بناب، تبریز، خسرو شهر و مرند عدم آلودگی به بیماری‌های مذکور را نشان دادند. براساس بررسی‌های مزرعه‌ای در نواحی مورد اشاره، گوجه فرنگی برای اولین بار و یا پس از گذشت فاصله زمانی بسیار طولانی مدت مورد کشت قرار گرفته و نیز خاک مزارع در این نواحی اغلب رسی بود و بنابراین با توجه به اینکه ارقام عمده مورد کشت در منطقه مقاومتی در برابر قارچ‌های عامل بیماری از خود نشان ندادند عدم مشاهده بیماری‌های فوزاریومی گوجه فرنگی در نواحی مذکور به احتمال زیاد مربوط به عدم آلودگی یا آلودگی کمتر خاک مزارع به

عامل بیماری در آن مناطق در اثر تناوب دراز مدت و یا در اثر نامساعد بودن شرایط محیطی مانند رسی و سنگین بودن بافت خاک، pH قلیایی و رطوبت زیاد خاک و یا در مواردی کشت بسیار محدود ارقام بومی و ناشناخته مقاوم می‌باشد.

از محیط کشت KCl و CLA پاسخ مناسبی در تشخیص گونه‌های فوزاریوم گرفته شد. محیط کشت CLA در اسپورزایی جدایه‌هایی که در محیط PDA اسپورزایی نکرده و یا ماکروکنیدی‌های غیر مشخص تولید می‌کردند بسیار موثر بود و نتایج بدست آمده با توصیه نلسون و همکاران (۱۹۸۳) و صارمی (۲۰۰۳) مطابقت داشت. همچنین، در محیط کشت KCl، تولید میکروکنیدی‌ها به صورت زنجیری بوضوح مشاهده گردید که کمک زیادی به تشخیص گونه قارچ مربوطه نمود مشخصات ذکر شده برای جدایه‌های فوزاریوم بدست آمده از مناطق مختلف استان با مشخصات شناخته شده و بارز در پنج گونه قارچی *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. acuminatum* و *F. solani* که بوسیله بوث (۱۹۷۱) و نلسون و همکاران (۱۹۸۳) شرح داده شده بود مطابقت داشت و با توجه به تائید تشخیص گونه‌های فوزاریوم توسط دکتر نلسون، مشخص گردید که کارهای جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی گونه‌ها با دقت و به درستی صورت گرفته است.

در بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم، استفاده از روش Continuous-dip inoculation که در سایر گزارش‌ها نیز آمده است روش مناسبی در این تحقیق شناخته شد. فریمن و رودریگیوز (۱۹۹۳) مزایای کاربرد این روش را در سادگی و سهولت، زحمت و کار کمتر، پاسخ سریع، عدم نیاز به فضای گلخانه‌ای وسیع و مواد و وسایل اضافی، امکان بررسی تعداد زیادی جدایه قارچ در زمان کوتاه و بالاخره مطابقت مناسب آن با روش استاندارد root-dipping ذکر کرده‌اند. در تحقیق حاضر نیز جدایه‌های فوزاریوم با استفاده از این روش مورد بررسی قرار گرفته و در مدت زمان کوتاهی، نتیجه مورد

نظر گرفته شد. با استفاده از این روش درصد بالاتری از مرگ گیاهچه‌ها نسبت به روش استاندارد مشاهده گردید. اما در حالت کلی در هر دو روش، جدایه‌های فوزاریوم نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را از نظر مرگ و میر گیاهچه‌ها نشان دادند ولی تفاوت بین گونه‌ها معنی‌دار نبود. این دو روش با یکدیگر تطابق داشتند و این مسئله با اظهارات فری من و رودریگیوز (۱۹۹۳) مطابقت دارد. در بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم، تمامی آنها علائم بیماری را به‌وضوح در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی نشان دادند بنابراین براساس اصول کخ، با توجه به علائم مشاهده شده بر روی گیاهان بیمار در مزارع گوجه‌فرنگی مناطق مختلف مورد بررسی و جداسازی گونه‌های فوزاریوم از آنها و مایه‌زنی گیاهچه‌ها با اسپوره‌های قارچ عامل بیماری و ایجاد علائم پژمردگی و جداسازی مجدد قارچ فوزاریوم از این گیاهچه‌ها، می‌توان تمامی پنج گونه را به‌عنوان عاملین پژمردگی گوجه‌فرنگی در استان آذربایجان شرقی معرفی کرد. قارچ *F. solani* علاوه بر ایجاد علائم پژمردگی، به‌عنوان عامل پوسیدگی ریشه نیز

در برخی مناطق بررسی شده در استان به‌خصوص منطقه شبستر مشاهده گردید و این مشاهده با گزارش‌های ارائه شده در مورد ایجاد پوسیدگی ریشه توسط این گونه توسط کوکوزا و همکاران (۱۹۹۲)، ولکان و لوری (۱۹۹۱)، کاپور (۱۹۸۸)، واودری و پترسون (۱۹۸۸) و بوث (۱۹۷۱) مطابقت دارد. گونه‌های *F. oxysporum*, *F. acuminatum* و *F. solani* قبلاً به‌عنوان عامل بیماری در گوجه‌فرنگی بوسیله بوث (۱۹۷۱)، جونز و همکاران (۱۹۹۱)، کاپور (۱۹۸۸)، کوکوزا و همکاران (۱۹۹۲)، ولکان و لوری (۱۹۹۱) و واودری و پترسون (۱۹۸۸) گزارش شده اند اما بیماری‌زا بودن گونه *F. proliferatum* روی گوجه‌فرنگی برای اولین بار در این تحقیق گزارش می‌شود. اعتباریابان (۱۹۸۹) و فصیحیانی (۱۹۸۵) در گزارش‌های خود از وقوع این بیماری در ایران از منطقه ورامین و از استان هرمزگان تنها قارچ *F. oxysporum* را به‌عنوان عامل بیماری از گیاهان بیمار جدا کردند. بنابراین غیر از گونه فوق، چهارگونه دیگر فوزاریوم برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

منابع

1. Agrios, G.N. 2004. Plant pathology, 4th edit. Academic Press. India, 635p.
2. Armentrout, V.N. 1988. Population assessment of *Fusarium* spp. in soil. chapter 13, In: Baudoin, A.B. (ed.). Laboratory exercises in plant pathology. APS Press. 355p.
3. Bao, J.R., Fravel, D.R., Oneill, N.R., Lazarovits, G., and Berkum, P. 2002. Genetic analysis of pathogenic and non pathogenic *Fusarium oxysporum* from tomato plants. Can. J. Bot. 80:271-279.
4. Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. CMI, Kew, Surrey, England, 237p.
5. Bramall, R., and Lynch, K. 1990. Occurrence of *Fusarium* crown and root rot of tomato in New Brunswick, Canada. Plant Dis. 74:1037.
6. Cucuzza, J.D., Watterson, J.C., and Bernhardt, E.A. 1992. Foot rot of tomato caused by *Fusarium solani* in California. Plant Dis. 76:101.
7. Etebarian, H.R. 1989. Investigation on *Fusarium* wilts of tomato in Varamin. Proceeding of the 9th Iranian plant protection congress, University of Mashhad, Iran.
8. Fassihiani, A. 1985. Occurrence of *Fusarium* wilts of tomato in Hormozgan province. Iranian Journal of Plant Pathology, 21:29-32.
9. Freeman, S., and Rodriguez, R.J. 1993. A rapid inoculation technique for assessing pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Niveum* and *F. O. melonis* on cucurbits. Plant Dis. 77: 1198–1201.
10. Jarvis, W.R., and Shoemaker, R.A. 1978. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. Phytopathology, 68:1679–1680.
11. Jones, J.B., Jones, J.P., Stall, R.E., and Zitter, T.A. 1991. Compendium of tomato diseases. APS Press. 73 p.
12. Kappor, I.J. 1988. Fungi involved in tomato wilt syndrome in Dehli, Maharashtra and Tamil Nadu. Indian Phytopathology, 41: 208–213.

13. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., and Cook, R.J. 1981. *Fusarium*: Disease, Biology and Taxonomy. Pennsylvania St. Univ. Press. Univ. Park and London, 457 p.
14. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania St. Univ. Press. Univ. Park, 193 p.
15. Ommati, F., and Ershad, J. 2004. Identification of fungal agents of tomato wilting from nurseries and fields of Semnan province. Proceeding of the 16th Iranian plant protection congress, University of Tabriz, Iran.
16. Saremi, H. 2003. Distribution pattern of *Fusarium* species in the different climates. Iranian Journal of Plant Pathology, 39:19-22.
17. Sivan, A., and Chet, I. 1993. Integrated control of *Fusarium* crown and root rot in tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarization. Crop Protection, 12 : 380–386.
18. Vawdrey, L.L., and Peterson, R.A. 1988. *Fusarium solani* in cause of foot rot of tomatoes in central Queensland, Aust. Plant Pathol. 17: 24–25.
19. Walker, J.C. 1981. Fusarium wilt of tomato. Monograph no. 6, APS Press. 56 p.
20. Wolcan, S.M., and Lori, G.A. 1993. Tomato foot rot caused by *Fusarium solani*. Rev. Plant Pathol. 72: 2193.
21. Yamamoto, I., Komada, H., and Kuniyasu, K. 1974. A new race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* inducing root rot of tomato. Proc. Kansai Plant Prot. Soc. 16:17–29.

Investigation on *Fusarium* diseases of tomatoes in East Azarbaijan

***A.Viani¹, A. Alizadeh², M. Babadoust³ and E. Peighami³**

¹Lecturer Dept. of plant protection, Yasuj University, Iran, ²Prof. Dept. of plant pathology, Tarbiat Modares University, Iran, ³Associate Prof. Dept. of plant protection, Tabriz University, Iran

Abstract

During 1996 and 1997, *Fusarium* diseases of tomatoes in East Azarbaijan province were studied. Tomato fields were surveyed in Bonab, Maragheh, Marand, Mianeh, Shabestar and Tabriz counties, where most of the tomato fields in the province are located. Specimens from the plants with disease symptoms were collected and studied in laboratory. *Fusarium* diseases were found in all of areas. In these years 72 and 75 percentage of surveyed fields were infected respectively. Most infection was found in Ajabshir, Mianeh and Shabestar areas. The mean of disease incidence was estimated to be 7.9 ± 7.2 in 1996 and 7.4 ± 7.3 in 1997 respectively. Single spore cultures of isolates were identified as *Fusarium acuminatum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum* and *F. solani* and their frequency percentages were 34.8, 30, 25, 5.85 and 4.21 respectively. In pathogenicity test all isolates of *Fusarium* species were found pathogenic to tomato seedlings. Except *F. oxysporum*, this is the first report of four species of *Fusarium* that cause disease on tomato plants in Iran.

Keywords: *Fusarium*; Tomato; Disease; East Azarbaijan