



دانشگاه گوارش و منابع طبیعی گیلان

مجله پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل

جلد نوزدهم، شماره سوم، ۱۳۹۱

<http://jwfst.gau.ac.ir>

شناسایی و بیماری‌زایی گونه *Fusarium oxysporum* عامل پژمردگی نهال‌های بلندمازو در منطقه استان گلستان

*فریدون فریدی^۱ و محمدرضا کاوسی^۲

^۱دانشجوی کارشناسی‌ارشد دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲استادیار دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۸

چکیده

بلندمازو از گونه‌هایی است که زادآوری طبیعی آن به دلیل وجود آفات و بیماری‌های مختلفی از جمله قارچ‌ها، با مشکلات فراوانی مواجه است. به منظور جداسازی و شناسایی یکی از قارچ‌های همراه بذر عامل پژمردگی و اثبات بیماری‌زایی آن بر روی نهال‌های بلندمازو، در سال ۱۳۸۶ از دو منطقه جنگلی در استان گلستان (جنگل تحقیقاتی لوه و پارک جنگلی گلستان) نمونه‌برداری صورت گرفت. بذرهای جمع‌آوری شده پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد، در ۴ تکرار روی محیط کشت غذایی سیب‌زمینی - دکستروز - آگار (PDA) کشت گردید (در هر تکرار ۲۵ بذر). با استفاده از خالص‌سازی و خصوصیات اسپور، اندازه و رنگ آن‌ها، قارچ *Fusarium oxysporum* از روی بذرهای بلندمازو جداسازی و شناسایی شد. فراوانی این قارچ در جنگل تحقیقاتی لوه درصد فراوانی ۳۵ درصد و در پارک جنگلی گلستان درصد فراوانی ۱۹ درصد به‌طور متوسط در هر نمونه به‌دست آمد که این فراوانی در منطقه اول بیش‌تر از منطقه دوم بود. برای انجام آزمون بیماری‌زایی از پرگنه قارچ سوسپانسیون اسپوری با غلظت 2×10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه شد و اطراف طوقه هر نهال تازه جوانه زده اضافه گردید. سپس اندام‌های نهال بیمار شده مانند ریشه و طوقه بعد از ۶ هفته بر روی محیط کشت غذایی PDA قرار داده شد. علائم بیماری بر روی نهال شامل لکه‌های کوچک پژمردگی بر روی برگ‌ها

*مسئول مکاتبه: feridonfaridi@gmail.com

مجله پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل جلد (۱۹)، شماره (۳) ۱۳۹۱

و پوسیدگی ریشه نهال بود. پس از قرار دادن قطعات کوچکی از بافت ریشه بر روی محیط کشت‌های عمومی و اختصاصی، همان گونه فوزاریوم جداسازی شده از روی بذر (*Fusarium oxysporum*) جدا گردید که نشان‌دهنده بیمارگر بودن این قارچ بر روی نهال‌های بلوط می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *Fusarium oxysporum*، بذر، نهال بلندمازو، استان گلستان

مقدمه

نهال‌ها نقش حیاتی در حفظ جنگل‌ها دارند و از طرفی نهالستان‌ها هم به‌عنوان خزانه می‌توانند تأثیر زیادی در کمک به بقای جنگل داشته باشند. سلامتی و توانایی رشد در نهال‌های درختان جنگلی به‌طور قابل‌توجه‌ای به کیفیت بذر بستگی دارد (میتال و ماتیور، ۱۹۹۸). اخیراً مشخص شده که همه بذرهای حامل اسپور قارچ‌های میکروسکوپی بر روی بذر هستند (سینگ و ماتیور، ۱۹۹۳). در شرایط مناسب، بعضی از اسپورهای جوانه زده و پس از توسعه لوله تندش به داخل لپه‌ها نفوذ می‌کنند که از این طریق جنین بذر را مورد تغذیه قرار می‌دهند. قارچ‌های همراه بذر هم به طریق غیرمستقیم و هم به طریق مستقیم می‌توانند سبب ضعف جوانه‌زنی بذر شده و بذر را برای حمله قارچ‌های بیماری‌زای خاک‌زاد مستعد کنند (گیسون، ۱۹۵۷). بذر سالم در جنگل برای زادآوری طبیعی یکی از مهم‌ترین موضوع‌هایی است که حیات آینده جنگل به آن بستگی دارد. بذرهای بیمار و صدمه‌دیده حتی در شرایط مناسب محیطی هم نمی‌توانند یک زادآوری دلخواه و مطلوب را برای بقای جنگل یا یک گونه خاص را به‌وجود آورند. درختانی که از بذور بیمار و آسیب‌دیده به‌وجود می‌آیند دارای رشد کم بوده و بذوری را که در آینده تولید می‌کنند دارای قدرت حیاتی پایین می‌باشند (حجازی، ۱۹۹۴).

قارچ *Fusarium oxysporum* از گونه‌هایی است که می‌تواند سبب خسارت روی انواع نهال‌های درختان پهن‌برگ و سوزنی‌برگ گردد، در نتیجه ضررهای اقتصادی زیادی را در نهالستان‌ها به‌وجود خواهد آورد. این قارچ از مهم‌ترین قارچ‌های همراه بذر به حساب می‌آید که بیش‌تر در نهالستان‌ها به‌صورت پژمردگی فوزاریومی ظاهر می‌شود (استوارت و همکاران، ۲۰۰۶). *Fusarium oxysporum* عامل پوسیدگی سیاه ریشه نیز می‌باشد که زمستان‌گذرانی آن به‌صورت کلامیدواسپور بوده و وقتی درجه حرارت خاک بالا و رطوبت آن پایین و همچنین نیتروژن خاک به اندازه کافی باشد فعالیت خود را شروع می‌کند (اسمیت، ۱۹۷۵). از فاکتورهای محدودکننده در تولید نهال بیماری‌زای پژمردگی است که یکی از مهم‌ترین عوامل آن قارچ خاک‌زی *Fusarium oxysporum* می‌باشد (جیمز و همکاران، ۲۰۰۶).

همچنین فاکتورهایی مثل آب و هوا و رویشگاه نیز می‌توانند نقش مهمی در شدت بیماری ایفا کنند (آندرسون و همکاران، ۲۰۰۲). پژوهش‌های گذشته بیانگر آن است که قارچ *Fusarium oxysporum* ممکن است از طریق بذرهای انتشار یابد (گاردنر، ۱۹۸۰). پژوهش‌های دیگر نشان‌دهنده آن است که بیمارگر از طریق آلوده کردن نهال‌ها در نهالستان می‌تواند در سطح جنگل‌ها انتشار یابد (جیمز و همکاران، ۲۰۰۶).

یوروسویک (۱۹۶۱) قارچ *Fusarium* را از جمله قارچ‌های پارازیت بر روی بذر بلوط معرفی نمود. روان و دی‌بار (۱۹۷۴) شدت کپک روی بذرهای کاج را در طی آزمایش جوانه‌زنی مشاهده کردند که از بذرهای بدون جوانه‌زنی قارچ *F. solani* به‌دست آمد. پاوک (۱۹۷۸) بعد از تلقیح بیش از ۱۲ جدایه از قارچ *Fusarium* روی بذرهای *Pinus patula* مشاهده کرد که ۳ جدایه سبب کاهش جوانه‌زنی و ۹ جدایه از این قارچ سبب افزایش بوته‌میری شدند. ووزو (۱۹۸۴) و گالگو و همکاران (۱۹۹۹) قارچ *Fusarium* را روی بذرهای گونه‌های مختلف بلوط گزارش دادند که باعث پوسیدگی ریشه در نهال‌ها شد، از طرف دیگر حدود ۳۵/۷ درصد از این نهال‌ها مردند و همچنین سبب زوال درخت در آینده خواهد شد. اسویکی و همکاران (۱۹۹۱) بیان کردند بیماری‌هایی که تأثیر عمده‌ای در تکثیر و زنده‌مانی بلوط کالیفرنیا دارند، بیش‌تر از جانب بیمارگرهای قارچی بذر از جمله *Fusarium* می‌باشند. تیبری و همکاران (۲۰۰۲) قارچ‌های *Fusarium solani*، *Fusarium eumartii* را از روی بذر بلوط‌های ایتالیا جداسازی نمودند. ماکرجی و همکاران (۲۰۰۶) برای بررسی تأثیر قارچ‌های همراه بذر روی کیفیت بذرهای بلوط از نظر جوانه‌زنی، پژوهش‌هایی به‌عمل آوردند و توانستند قارچ *Fusarium sp.* را به همراه چند گونه دیگر از روی بذرهای *Quercus robur* جداسازی و شناسایی کنند. ولادمیر و همکاران (۲۰۰۵) قارچ *Fusarium* را جزو قارچ‌های بیماری‌زا بر روی بذر بلوط معرفی کرد به‌طوری‌که این قارچ از قارچ‌های خطرناکی است که در بذر و در نهایت در نهال‌های جوان در جنگل بیماری ایجاد می‌کند. قارچ *Fusarium oxysporum* که از گونه‌های شایع روی بذر درختان جنگلی است (جیمز و همکاران، ۲۰۰۶) عامل زردی و پژمردگی نهال‌ها و یکی از قارچ‌های خاک‌زاد بوده که بعد از زرد و پژمرده کردن گیاه آن را در نهایت خشک خواهد کرد. در بعضی موارد که بیماری شدید می‌باشد کل گیاه خشک شده و برگ‌های خشک شده می‌ریزند. گاهی اوقات فقط یک طرف گیاه علائم را نشان می‌دهد (بصیرنیا و بنی‌هاشمی، ۲۰۰۵).

هدف از این پژوهش اولاً شناسایی قارچ عامل بیماری پژمردگی از روی بذرهای بلندمازو، دوماً مشخص کردن فراوانی آن در مناطق مورد بررسی و در نهایت اثبات بیماری‌زایی این قارچ روی نهال‌های بلندمازو بود.

مواد و روش‌ها

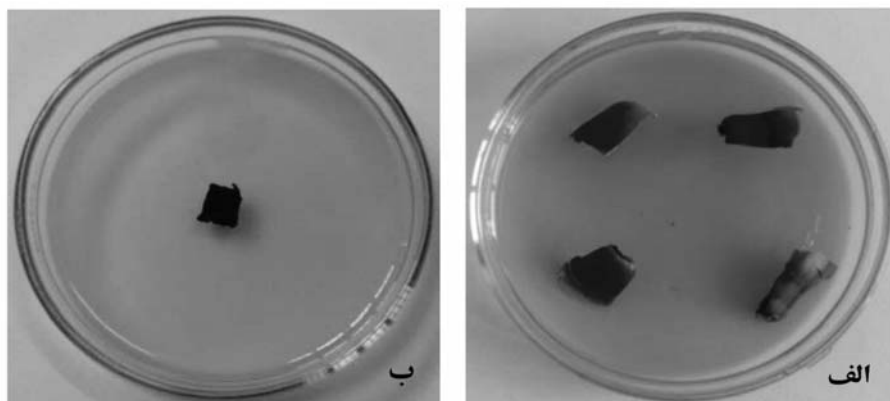
نمونه‌برداری: در اواسط پاییز سال ۱۳۸۶ جنگل‌های لوه و پارک گلستان واقع در استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت و پس از جنگل‌گردشی و مشخص کردن منطقه پراکنش درختان بلندمازو ۴ نمونه بذر در هر منطقه جمع‌آوری و از هر نمونه به صورت تصادفی ۲۵ بذر انتخاب شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در کیسه‌های کاغذی سترون قرار گرفته و پس از درج مشخصات منطقه و تاریخ جمع‌آوری به آزمایشگاه با یک دما و تهویه مناسب انتقال داده شدند. به این ترتیب ۴ نمونه ۲۵ تایی از بذره‌های منطقه جمع‌آوری شدند.

جدا و خالص‌سازی قارچ: به منظور جداسازی قارچ از بذر ابتدا بذرها به قطعه‌های کوچک‌تر تقسیم شدند (شکل ۱). پس از این‌که بذر به قطعات کوچک‌تر تقسیم شد، با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۲-۱ دقیقه ضدعفونی سطحی گردید و ۳ بار با آب مقطر سترون شستشو داده و برای خشک نمودن در لای کاغذ صافی سترون قرار داده شد. آن‌گاه قطعات بذر به صورت مجزا و در ۴ تکرار روی محیط کشت غذایی عصاره سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA)^۱ حاوی اسید لاکتیک کشت گردید و در انکوباتور با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (شکل ۲- الف). بعد از گذشت ۳ روز از جدایه‌های رشدیافته روی محیط کشت به روش نوک ریشه کشت فرعی صورت گرفت و به این ترتیب جدایه‌ها خالص‌سازی شدند (شکل ۲- ب).



شکل ۱- تفکیک بذر بلندمازو به قطعات کوچک‌تر.

1- Potato Dextrose Agar



شکل ۲- کشت بذر به صورت ۴ تکه بر روی محیط کشت PDA (الف)، کشت فرعی به روش نوک ریشه‌ای (ب).

شناسایی قارچ: شناسایی جنس قارچ، پس از رویش بر روی محیط کشت PDA با استفاده از منابع معتبر بارنت و هاتر (۱۹۹۸) و طبقه‌بندی آن‌ها براساس طبقه‌بندی اریکسون و همکاران (۲۰۰۶) و الکسوپولس و همکاران (۱۹۹۶) بود. برای شناسایی گونه قارچ محیط کشت PDA و برگ میخک-آگار مطابق روش دینگرا و سینکلایر (۱۹۹۵) و صارمی (۱۹۹۸) مورد استفاده قرار گرفت. کلیدهای شناسایی نلسون و همکاران (۱۹۸۳) و صارمی (۱۹۹۸) برای شناسایی گونه این قارچ استفاده شد. شناسایی براساس معیارهای مختلفی مانند وجود یا نبود دیواره عرضی، شکل و اندازه کنیدیوفور، کنیدی‌ها و فیالیدها، تعداد کنیدی‌های قرار گرفته بر روی کنیدیوفور و یا فیالیدها، یک یا چندباخته‌ای بودن کنیدی‌ها، حضور یا حضور نداشتن میکروکنیدی‌ها، رشد قطری پرگنه، رنگ و حالت پرگنه و... صورت گرفت.

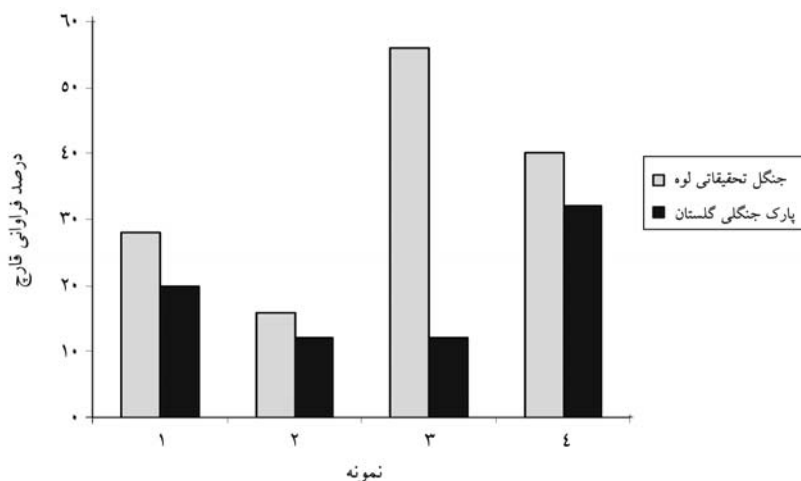
بررسی بیماری‌زایی گونه: برای انجام آزمون بیماری‌زایی از خاک قهوه‌ای جنگلی استفاده گردید. خاک به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد با فشار ۱ اتمسفر در مدت ۲ روز متوالی در اتوکلاو قرار داده شد. برای تهیه مایه، از پرگنه‌هایی که به مدت ۲۵ روز در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی محیط کشت برگ میخک-آگار رشد یافته بودند، سوسپانسیون اسپوری با غلظت 2×10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه شد. برای این کار محیط کشت برگ میخک-آگار^۱ به وسیله آب مقطر سترون شستشو و سوسپانسیون اسپور تهیه گردید. بذرهاى بلندمازو پس از ضدعفونی سطحی به مدت ۲۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد و سه مرتبه شستشو با آب مقطر سترون، در گلدان و

1- CLA (Carnation Leaf Agar)

در عمق ۵-۳ سانتی متری از سطح خاک کشت گردید. ۲ هفته بعد از کشت بذرها، اطراف طوقه هر نهال تازه جوانه زده ۲۰ سانتی متر مکعب از سوسپانسیون اضافه گردید. ظهور علائم و پیشرفت بیماری به مدت ۶ هفته یادداشت برداری شد و ۴۲ روز پس از مایه زنی قارچ‌های فوزاریوم، نهال‌ها را از خاک خارج نموده و برگ‌ها، بافت ریشه و سایر اندام‌های آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و اندام‌های نهال بیمار مانند ریشه و طوقه روی محیط کشت غذایی سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی اسید لاکتیک برای جداسازی قارچ قرار داده شد. برای این کار ابتدا ریشه‌های آلوده از ناحیه طوقه بریده شده و زیر شیر آب شسته شدند. بعد از ضد عفونی با الکل اتیلیک ۷۵ درصد و عبور از روی شعله، از بافت‌های آوندی قطعات ضد عفونی شده، قسمت‌های کوچکی جدا و روی محیط کشت فوق قرار داده شد.

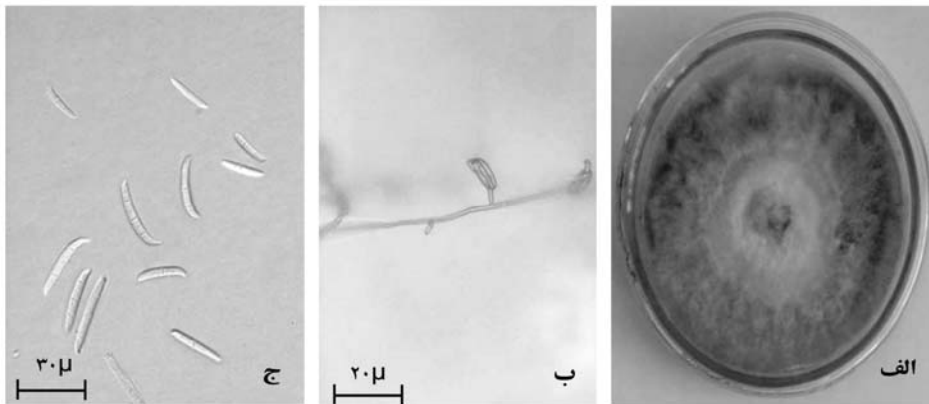
نتایج

از روی بذره‌های بلندمازو تنها جدایه‌ای که از جنس فوزاریوم به دست آمد، گونه *Fusarium oxysporum* بود که فراوانی آن شکل ۳ نشان داده شده است. تمامی جدایه‌های قارچ از بخش درونی بذر جدا گردید و بر روی پوسته بذر هیچ جدایه‌ای از این قارچ مشاهده نشد. فراوانی این قارچ به طور متوسط از چهار نمونه‌ای که در هر منطقه مورد بررسی قرار گرفت، نشان داد که در جنگل تحقیقاتی لوه با میانگین ۳۵ درصد بیش‌تر از پارک جنگلی گلستان با میانگین ۱۹ درصد می‌باشد.



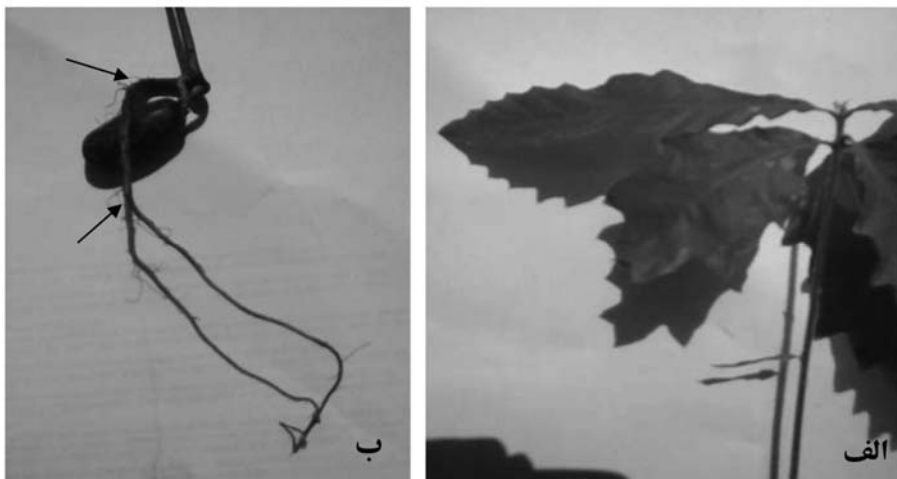
شکل ۳- درصد فراوانی قارچ *Fusarium oxysporum* بر روی بذره‌های بلندمازو در دو منطقه جنگلی لوه و پارک گلستان.

مشخصات گونه *Fusarium oxysporum* Schltdl: رشد قطری پرگنه در محیط PDA و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ۳/۱-۳/۸ سانتی متر اندازه گیری شد، رنگ آن در ابتدا سفید مایل به صورتی کم رنگ و در نهایت به رنگ بنفش درآمد که در مرکز رنگ پرگنه کم رنگ تر و در حاشیه بنفش تیره بود. میسلیم ها پنبه ای و پراکنده که با کامل شدن رشد متراکم می شدند. در پشت ظرف رنگ پرگنه در حاشیه ها بنفش تیره و در مرکز به رنگ نارنجی مات درآمد (شکل ۴- الف). ماکروکنیدی ها بر روی اسپوردوشیوم های فراوان تشکیل شدند که داسی شکل و کمی کشیده، اغلب دارای ۳ جدار عرضی نازک و طول آن ها ۳۰-۲۴×۵-۳ میکرومتر بود (شکل ۴- ج). ماکروکنیدی ها و همچنین میکروکنیدی ها بر روی فیالیدهای منفرد و کوتاه تشکیل شدند که میکروکنیدی ها به صورت مجتمع روی این فیالیدها بودند (شکل ۴- ب). میکروکنیدی ها اغلب تک سلولی تخم مرغی یا بیضوی کشیده و یا به صورت قلوهای شکل بود. کلامیدواسپورهای میانی به فراوانی بر روی میسلیم تشکیل شدند (شکل ۴- ج).



شکل ۴- الف) پرگنه بر روی محیط کشت PDA، ب) فیالید منفرد و ج) میکروکنیدی و ماکروکنیدی ها.

در نهال های سبز شده علایم بیماری در ابتدا به صورت لکه های کوچک پژمردگی روی برگ های نهال بود که در هفته های بعد به صورت پژمردگی و زرد شدن برگ ها نمایان شد (شکل ۵- الف). روی ریشه ها نیز علایم پوسیدگی مشاهده گردید (شکل ۵- ب). برای اثبات بیماری زایی، از بافت های ریشه و طوقه نهال های بلندمازو که بیمار شده بودند، پس از قرار دادن قطعات کوچکی از آن ها بر روی محیط کشت های عمومی و اختصاصی، همان گونه فوزاریوم جداسازی شده از روی بذر (*Fusarium oxysporum*) جدا گردید که نشان دهنده بیمارگر بودن این قارچ بر روی نهال های بلوط می باشد.



شکل ۵- لکه‌های پژمردگی ایجاد شده بر روی برگ‌ها (الف) و پوسیدگی ریشه (ب) نهال بلندمازو بیمار شده در اثر تلقیح بیمارگر *F. oxysporum*

بحث

همان‌گونه که در این پژوهش مشخص شد، گونه *Fusarium oxysporum* از گونه‌های شایع بر روی بذر درختان جنگلی می‌باشد (جیمز و همکاران، ۲۰۰۶) و در بیش‌تر مناطق جنگلی و نهالستان‌ها روی سلامتی نهال‌ها تأثیر می‌گذارد که از قارچ‌های خاک‌زی بوده و در درون بذر می‌تواند مستقر شود (استوارت و همکاران، ۲۰۰۶). علایم بیماری ممکن است بر روی درختان از نهال تا درخت بالغ نیز ظاهر شود (آندرسون و همکاران، ۲۰۰۲؛ گاردنر، ۱۹۸۰) اما این قارچ بیش‌تر نهال‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و نهال‌ها در نهایت به دلیل بیماری به سرعت پژمرده شده و می‌میرند (جیمز و همکاران، ۲۰۰۶). قارچ *Fusarium* جزو قارچ‌های بیماری‌زا بر روی بذر بلوط می‌باشد به طوری که این قارچ از میکروارگانیسم‌های خطرناکی است که در بذر و در نهایت در نهال‌های جوان در جنگل بیماری ایجاد می‌کند (ولادمیر و همکاران، ۲۰۰۵). بیمارگر بودن و تأثیر آن بر روی رشد و سلامت نهال‌های بلوط در مطالعات ووزو (۱۹۸۴) و گالگو و همکاران (۱۹۹۹) نیز به اثبات رسیده است. در بعضی مواقع گونه‌های مختلف *Fusarium* از طریق آفاتی مانند سوسک پوست‌خوار بلوط (*Scolytus intricatus*)، سوسک پوست‌خوار جنگلی (*Xyleborus dispar*) و سوسک چوب‌خوار بلوط (*Agilus biguttatus*) در بذر نفوذ کرده و سبب وارد آمدن خسارت بر روی بخش درونی بذر

می‌شوند (تیری و همکاران، ۲۰۰۲). گاهی هم شکاف‌های موجود بر روی پریکارپ بذر بلوط به قارچ اجازه می‌دهد در درون بذر رشد کنند و سبب آلودگی بذر شده، لپه و رویان بذر را از بین ببرند (ووزو، ۱۹۸۴) و از این طریق جوانه‌زنی بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (ماکرچی و همکاران، ۲۰۰۶). این قارچ چون از دسته قارچ‌های خاک‌زی هستند، گیاه بیش‌تر در قسمت ریشه آلوده به این قارچ می‌شود (گالگو و همکاران، ۱۹۹۹). بیمارگر ابتدا بخش بیرونی ریشه را آلوده می‌کند و سپس به سرعت بخش‌های درونی مثل سیستم آوندی را دربر می‌گیرد و در آن‌جا اسپورها ممکن است به‌صورت سیستماتیک به تمام بخش‌های نهال انتقال یابند. در نتیجه قارچ *Fusarium oxysporum* ابتدا ریشه سپس ساقه و در نهایت شاخه‌ها را آلوده می‌کند (جیمز و همکاران، ۲۰۰۶). این قارچ به سبب پارازیت بودن، برخلاف سایر قارچ‌های پوده‌رست توانایی نفوذ در بذر را ندارد، بلکه باید ابتدا پوسته بذر توسط عوامل زنده یا غیرزنده شکاف برداشته تا قارچ بتواند در بذر استقرار یافته و در آینده سبب بیماری در نهال گردد، بنابراین قارچ فوزاریوم همان‌طورکه در نتایج هم‌آمد فقط از بخش درونی بذر جداسازی شد و بر روی پوسته بذر مشاهده نگردید که با مطالعات ووزو (۱۹۸۴) و سینگ و ماتیور (۱۹۹۳) مطابقت دارد. قارچ *F. oxysporum* تقریباً بعد از ۲ ماه سبب از بین رفتن همه نهال‌های بیمار شد و این موضوع می‌تواند به‌عنوان یک مسأله جدی به‌خصوص در بخش مدیریت نهالستان باشد و کار پرورش نهال را با مشکل مواجه کند. در پایان باید گفت از آنجا که این قارچ می‌تواند از طریق آلوده کردن نهالستان‌ها در سطح جنگل‌ها انتشار یابد، بنابراین با توجه به خطرناک بودن این قارچ باید در کاشت نهال‌ها در سطح جنگل دقت نماییم تا با کاشت نهال‌های آلوده به این بیماری در مناطق جنگلی، سبب انتشار قارچ *Fusarium oxysporum* نگردیم.

منابع

1. Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. and Blackwell, M. 1996. Introductory mycology 4th edition. John Willy and Sons, Inc. 869p.
2. Anderson, R.C., Gardner, D.E., Daehler, C.C. and Meinze, F.C. 2002. Dieback of *Acacia koa* in Hawaii: ecological and pathological characteristics of affected stands. *Forest Ecology and Management*, 162: 273-286.
3. Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Ed. ASP Press, St. Paul, Minnesota, USA, 218p.
4. Basirnia, T. and Banihashemi, Z. 2005. Vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* sp. *sesami* the causal agent of sesame yellows and with in Fars province. *Plant Pathology*, 41: 243-255.

5. Dingra, O.D. and Sinclair, J.B. 1995. Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, 434p.
6. Eriksson, D., Baral, H., Curren, R., Hansen, K., Kurtzman, G. and Laessle, T. 2006. Outline of Ascomycota. Myconet. 109p.
7. Gallego, F.J., De Algaba, A.P., and Fernandez, E.R. 1999. Etiology of oak decline in Spain. Euro. J. For. Path. 29: 17-27.
8. Gardner, D.E. 1980. *Acacia koa* seedling wilt caused by *Fusarium oxysporum*. Phytopathology, 70: 594-597.
9. Gibson, I.A.S. 1957. Saprophytic fungi as destroyers of germinating pine seeds. The East African Agric. J. 22: 203-206.
10. Hejazi, A. 1994. Seed technology. Tehran University publications. 442p. (Translated in Persian)
11. James, R.L., Dudley, N.S. and Yeh, A. 2006. Investigating koa wilt in hawai'i: Examining *Acacia koa* seeds and seedpods for *Fusarium* species. Native Plants J. 7: 3. 76-85.
12. Mittal, R.K. and Mathur, S.B. 1998. Seed Pathology. Chapter 6: 177-190. Old, K., and Yuan, Z. Q. Pathology. Indian Council of Agricultural Research.
13. Mukherjee, M., Watt, D.A. and Berjak, P. 2006. Molecular detection and diagnosis of fungal contaminants of recalcitrant seeds: *Quercus robur* L. acorns as a model system, Seed Sci. and Technol. 34: 415-427.
14. Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* Species. The Pennsylvania State University, 193p.
15. Pawuk, W.H. 1978. Damping-off of container grown long leaf pine seedlings by seed borne fusaria. Plant Disease Report. 62: 82-84.
16. Rowan, S.J. and De Barr, G.L. 1974. Moldy seed and poor germination linked to seedbug damage in slash pine. Tree Planter's Notes, 25: 1. 25-27.
17. Saremi, H. 1998. Ecology and Taxonomy of *Fusarium* Species. Holy War University of Mashhad, 132p.
18. Singh, P. and Mathur, S.B. 1993. Disease problems of forest tree seeds: diagnosis and management. 309-324. Some, L.M., De Kam, M. Seed Problems. International Union of Forest Research Organizations Symposium of Project Group.
19. Smith, R. 1975. Forest nursery diseases in the United States. Agric. Handb Washington, 470: 11-13.
20. Stewart, J.E., Kim, M., James, R.L., Dumroese, R.K. and Klopfenstein, N.B. 2006. Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium commune* isolates from a conifer. Phytopathology, 96: 1124-1133.
21. Swiecki, T.J., Bernhardt, E.A. and Arnold, R.A. 1991. Insect and disease impacts on blue oak seedlings and acorns. Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Pp: 149-155.
22. Tiberi, R., Alessandro, R.A., Marianelli, L., Peverieri, S. and Roversi, P.F. 2002. Insects and Fungi Involved in Oak Decline in Italy. IOBC/wprs Bulletin. 177p.

23. Urosevic, B. 1961. The influence of saprophytic and semi parasitic fungi on the germination of Norway spruce and scots pine seeds, International Seed Testing Association, Pp: 537-556.
24. Vladimir, L., Zlatan, R. and Bozica, J. 2005. Mycoses of forest seed in object for production and warehouse. Bulletin Forestry of Faculty, 4: 15-30.
25. Vozzo, J.A. 1984. Insects and fungi associated with acorns of *Quercus sp.* Department of Agriculture, Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station, 6: 40-43.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 19 (3), 2012
<http://jwfst.gau.ac.ir>

Identification and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* causal agent of wilt seedling Chestnut-leaved oak (*Quercus castaneifolia*) in Golestan province

***F. Faridi¹ and M.R. Kavosi²**

¹M.Sc. Student, Faculty of Forest Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ²Assistant Prof., Faculty of Forest Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 2009/08/08; Accepted: 2011/03/09

Abstract

Chestnut-leaved oak (*Quercus castaneifolia*) is the most important species that its regeneration is limited by several problems such as pests and the fungal diseases. In order to isolate and identify the fungi associated with oak seed and pathogenicity of certain fungi on seedling, sampling carried out during 2007 in Loveh forest and Golestan park of Golestan province. Collected seeds then surface sterilized with 0.5% hypochlorite, each section of seed tissue cultured on potato dextrose agar media. After sub-culture and providing of the fungi pure cultures, *Fusarium oxysporum* isolated and identified by spores characteristics, their size and color with 28, 16, 56, 40 frequency percentages in Loveh forest and 20, 12, 12, 32 frequency percentages in Golestan park. The frequency percent of the fungi in Loveh forest (35) is the higher than Golestan park (19). pathogenicity test, was performed by inoculation of spore suspension (2×10^6) on collar. The re-isolation of test fungi was attempted after 6 weeks, using PDA. The sections were taken from roots near the stem base. Symptom of disease was including spot wilting on leave and rot root seedling. After the re-isolation, *F. oxysporum* was identification that is indication this fungi is pathogen on seedling oak.

Keywords: *Fusarium oxysporum*, Acorn, Seedling, Chestnut-leaved oak, Golestan province

* Corresponding Author; Email: feridonfaridi@gmail.com