شناسایی عوامل بیماری‌زایی قارچی پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی دراستان آذربایجان‌شرقی

سامره خرسندی[۱]، اسداله بابای اهری[۲]، سعید رضایی[۳] و محمد محمدی‌پور[۴]

چکیده

طی بهار و تابستان سال‌های ۱۳۸۷و ۱۳۸۸ از مزارع گوجه‌فرنگی شهرستان‌های آذرشهر، اسکو، بناب، تبریز، شبستر، عجب‌شیر، مراغه، مرند، ملکان و میانه بازدید و از گیاهان مشکوک به بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه و نیز خاک پای بوته‌های آلوده، نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و به منظور جداسازی قارچ‌های بیمارگر، از محیط کشت‌های PDA، PCA و CMA و برای جداسازی عوامل شبه‌قارچی، علاوه از محیط کشت‌های فوق، از روش طعمه‌گذاری در خاک‌های آلوده استفاده شد. محیط‌های کشت CLA، CMA، PCA، PDA برای تشخیص جدایه‌ها در سطح گونه به‌کار برده شد. در مجموع ۷۷۸ جدایه‌ی قارچی و شبه قارچی، جداسازی و مورد بررسی قرار گرفت. گونه‌های *Fusarium oxysporum*، *Fusarium solani*، *Fusarium equiseti*، *Fusarium acuminatum*، *Fusarium latertium*، *Fusarium semitectum*، *Rhizoctonia solani*، *Phytophthora drechsleri* و *Verticillium dahliae* شناسایی شدند. سپس بیماری‌زایی۲۶ جدایه‌ی منتخب روی رقم سوپرچیف مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به تشخیص گونه‌ها پس از مشاهده‌ی علایم تیپیک بیماری در میزبان، شدت بیماری‌زایی هر کدام از جدایه‌ها با استفاده از درصد گیاهان آلوده محاسبه گردید.

واژگان کلیدی: آزمون بیماری‌زایی، *Fusarium*، *Phytophthora*، *Rhizoctonia*.

۱– دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران (نگارنده‌ی مسئول)
samereh_khorsandi@yahoo.com
۲- استاد گروه بیماری شناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
تاریخ دریافت:۸۸/۱۰/۲۰
۳- استادیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران
تاریخ پذیرش:۸۹/۳/۱۰
۴- عضو هئیت علمی بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌شرقی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

گوجه‌فرنگی از لحاظ سطح زیر کشت در درجه‌ی سوم و از لحاظ ارزش اقتصادی دومین محصول سبزی پس از سیب‌زمینی است (۱۲). عوامل بیماری‌زای مختلفی به گوجه‌فرنگی حمله کرده و موجب کاهش کمیت و کیفیت محصول می‌شوند (۲۰). پوسیدگی ریشه و طوقه از جمله پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی فوزاریومی یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی در مناطق زیر کشت این گیاه محسوب می‌شود که تا به حال از پنج قاره و دست کم از ۳۲ کشور دنیا گزارش شده است (۲۶).

گونه‌های زیادی از جنس فوزاریوم از جمله *F. acuminatum*، *F. avenaceum*، *F. moniliforme*، *F. culmorum*، *F. equiseti*، *F.semitectum*، *F. lateritium* و *F. solani* به عنوان عاملین پژمردگی و یا پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه فرنگی به‌وسیله بوث (۱۶)، کوکوزا و همکاران (۱۷)، کاپور (۲۱)، واودری و پترسون (۲۵) و ولکان و لوری (۲۷) از سرتاسر جهان گزارش شده‌اند. ارول و تونالی (۱۸) گونه‌های جنس‌های *Fusarium*، *Pythium* و *Rhizoctonia* را به‌عنوان عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه گزارش کردند. هم‌چنین، جونگ و همکاران (۱۹) گونه‌های *Verticillium* را به عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه شناسایی کردند.

این بیماری در ایران برای نخستین بار در سال ۱۳۶۴ از استان هرمزگان گزارش و عامل آن *Fusarium oxysporum* معرفی شد (۱۱). ویانی و همکاران (۱۴) عامل پژمردگی فوزاریومی را در استان آذربایجان‌شرقی به‌ترتیب فراوانی *Fusarium oxysporum*، *Fusarium solani*، *Fusarium equiseti*، *Fusarium acuminatum*، *Fusarium proliferatum* تشخیص داد.

Rhizoctonia solani به‌عنوان عامل پوسیدگی ریشه‌ی گوجه‌فرنگی در شهرستان‌های بهشهر، ساری و قائم‌شهر توسط رحیمیان (۲) و از سمنان توسط امتی و ارشاد (۳) گزارش شد. *Pythium aphanidermatum* نیز برای اولین بار در سال ۱۳۵۷ از اوین گزارش گردید (۲). هم‌چنین شکاری (۹) سه گونه‌ی *Phytophthora capsici*، *Phytophthora drechsleri* و *Phytophthora parasitica* را به‌عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی معرفی کرد.

با توجه به اینکه عوامل قارچی و شبه قارچی مختلفی در بروز بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه دخالت دارند، شناسایی عوامل مذکور و تعیین شیوع هر کدام از عوامل به‌منظور اعمال تدابیر مدیریتی و کنترل بیماری ضروری به نظر می‌رسد. استان آذربایجان‌شرقی به‌دلیل داشتن سطح زیر کشت وسیع گوجه‌فرنگی، یکی از استان‌های مهم کشور در تولید این محصول بوده و جهت افزایش عملکرد و جلوگیری از خسارت وارده به آن باید توجه جدی به بیماری‌های این گیاه از جمله به بیماری‌های ریشه و طوقه نمود. لذا به‌دست آوردن اطلاعات دقیق و کافی برای کنترل این بیماری اقتصادی خواهد بود. از این رو تحقیق حاضر با اهداف بررسی مناطق انتشار، درصد آلودگی گیاهان در مزارع مختلف مناطق استان، شناسایی

Archive of SID

www.SID.ir

عوامل بیماری و تعیین گونه‌ی غالب و اصلی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

۱-جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها

نمونه‌برداری در سال‌های ۸۷ و ۸۸ از مزارع گوجه‌فرنگی نواحی مختلف استان آذربایجان‌شرقی و از شهرستان‌های آذرشهر، اسکو، بناب، تبریز، شبستر، عجب‌شیر، مراغه، مرند، ملکان و میانه صورت گرفت. گیاهان آلوده پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه منتقل و بلافاصله مورد بررسی قرار گرفتند. قسمتی از حاشیه‌ی زخم‌ها پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد روی محیط‌های کشت PDA [۱]، PCA [۲] و CMA [۳] قرار گرفت. نوک ریسه‌ها پس از گذشت ۲۴ الی ۴۸ ساعت به محیط غذایی PDA منتقل گردید (۵، ۷ و ۸).

برای جداسازی شبه‌قارچ‌ها از روش طعمه‌گذاری استفاده شد. برای این کار از میوه‌ی پرتقال، خیار و سیب به عنوان طعمه استفاده گردید. بدین ترتیب که در درون هر ظرف پلاستیکی ۶۰ ×۴۰ ×۱۰ سانتی‌متری یک عدد پرتقال، سیب یا خیار ضدعفونی شده با الکل ۷۰٪ قرار داده شد. مقداری از خاک پای بوته‌های آلوده‌ی گوجه‌فرنگی در ظرف ریخته شد. چهار تا ده روز پس از اضافه کردن مداوم آب، میوه‌ها از خاک خارج و از ناحیه‌ی پوسیده‌ی قهوه‌ای روی پوست، تکه‌ای برداشته شده و به محیط کشت CMA منتقل شد. سپس ریسه‌های رشد یافته به روش نوک ریسه خالص‌سازی شدند (۱).

۲-شناسایی عوامل بیماری

شناسایی جدایه‌های فوزاریوم با توجه به ویژگی‌های ماکروسکوپی نظیر رنگ و نحوه‌ی رشد پرگنه، وجود یا عدم وجود میسلیوم‌های هوایی روی محیط کشت، رنگ میسلیوم‌های هوایی، رنگ پرگنه از پشت ظروف پتری، وجود اسپوردوکیوم و ویژگی‌های میکروسکوپی مانند نوع فیالید (مونو فیالید یا پلی فیالید)، وجود یا عدم وجود سرهای دروغین، تولید کلامیدوسپور، شکل ماکروکنیدی‌ها و میکروکنیدی‌ها بر اساس کلیدهای شناسایی بوث (۱۶)، نلسون و همکاران (۲۳) و صارمی (۱۰) روی محیط‌های کشت PDA و CLA انجام شد. تشخیص جدایه‌های فیتوفتورا بر اساس ویژگی‌های مرفولوژیک مانند مورفولوژی اسپورانژیوم، تولید اُاُسپور، شکل پرگنه و سرعت رشد با استفاده از کلید شناسایی استمپ و همکاران (۲۴) و ارشاد (۱) روی محیط‌های کشت CMA و PCA صورت گرفت. برای شناسایی جدایه‌های رایزوکتونیا از ویژگی‌های پرگنه، تعداد هسته در هر سلول ریسه، وجود یا عدم وجود اسکلرت و رنگ میسلیوم استفاده شد و از روش کرونلند و استاگلینی (۲۲) جهت تشخیص استفاده گردید. شناسایی جدایه‌های ورتیسیلیوم با استفاده از ویژگی‌های ماکروسکوپی پرگنه‌ها و هم‌چنین، ویژگی میکروسکوپی مانند شکل کنیدی‌ها، شکل و نحوه‌ی قرار گرفتن کنیدیوفورها و فیالیدها، نحوه‌ی تجمع کنیدی‌ها

۱- potato dextrose agar

۲- potato carrot agar

۳- corn meal agar

Archive of SID

www.SID.ir

بـر روی کنیـدیوفورها و وجـود میکرواسـکلرت در کشت‌های ۲۱ روزه انجام گرفت (۱۵).

۳-آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم بـا دو روش انجـام شـد. در روش اول بـرای مایـه‌زنـی گیاهان با بیمارگرهای فوزاریومی، جدایه‌های قارچ در محـیط کـشت PDA کـشت و در دمـای ۲۵ درجه‌ی سـانتی‌گـراد و تنـاوب نـوری ۱۲ سـاعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مـدت ۱۰-۷ روز قرار داده شدند. برای تهیه‌ی سوسپانسیون اسـپور، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون روی محیط مذکور ریخته شـد و بـا لبـه‌ی اسـکالپل، میـسلیوم‌هـا از محیط کشت خراشیده شده و داخـل آب غوطـه‌ور گردیدنـد. بـرای جداسـازی ریـسه‌هـای قـارچ از سوسپانسیون اسپوری، از پـشم شیـشه بـه‌عنـوان فیلتر استفاده شد. پس از شمارش تراکم اسـپورها با لام گلبول‌شمار، سوسپانسیون اسپور بـا غلظـت $۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر برای مایه‌زنی استفاده گردید.

برای مایه‌زنی، ریشه‌های گیاهچـه‌هـای ۸-۶ برگی گوجه‌فرنگی رقم سوپرچیف بعد از شستـشو با جریان آب معمولی، بـه‌مـدت ۱/۵ دقیقـه درون سوسپانسیون اسپور غوطه‌ور شدند. گیاهچه‌هـا در گلدان‌هایی که یـک روز قبـل خـاک آنهـا آبیـاری شده بود، کشت شدند. ریشه‌ی گیاهچه‌های شاهد نیز به‌مدت ۱/۵ دقیقه در آب مقطـر اسـتریل فـرو برده شد و سـپس در گلـدان‌هـا کـشت گردیدنـد. گیاهچه‌های مایه‌زنی شـده بـه طـور مـداوم بـرای ظهور علایم آلودگی مورد بررسی قرار گرفتند (۶). در روش دوم برای تهیه‌ی مایه تلقـیح گونـه‌هـای فوزاریوم از روش وسترلاند و همکاران (بـه نقـل از منبع ۴) استفاده گردیـد. در ایـن روش در داخـل ارلن‌مایرهـای ۵۰۰ میلـی‌لیتـری، ۱۰۰ گـرم بـذر گندم ریخته شده و ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطـر بـه آنها اضافه گردید، بـه طـوری کـه سـطح آب ۲-۱ سانتی‌متر روی بذرها قرار گرفـت. بعـد از گذشـت ۱۲ ساعت، آب ارلن‌مایرها تخلیه و دهانه‌ی آنها بـا فویل آلومینیومی مسدود شد. ارلن‌مایرهـا در سـه نوبت و در هر نوبت به مدت ۲۰ دقیقـه در دمـای ۱۲۱ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد و فـشار یـک اتمـسفر اتوکلاو شدند. پس از آن حلقه‌ای از کشت جامد و جوان جدایه‌ها به قطر ۷ میلی‌متر به درون هر یک از ارلن مایرها اضافه شد. برای رشد قارچ و کلونیزه شدن بذور گندم، ارلن‌ها بـه‌مـدت ۲۰-۱۴ روز در دمای ۲۵ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد نگـه‌داری شـدند. برای مایه‌زنـی گیاهچـه‌هـای گوجـه‌فرنگـی، ابتـدا نشاها به گلدان‌های اصلی منتقل و بعد از گذشـت ۴-۳ روز و آبیاری مجدد، خاک اطراف طوقـه هـر کدام از بوته‌ها کنار زده شده و ریشه‌هـای مـویین هر بوته ۵-۴ بذر گندم آغشته بـه میـسلیوم قـارچ اطراف آنها قرار گرفت. خاک برداشته شده، دوبـاره روی بذرها بازگردانده شد. گیاهچه‌هـای مایـه‌زنـی شده به طور مداوم تا ظهور علایـم آلـودگی مـورد بررسی قرارگرفتند (۱۳).

برای آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ی فیتوفتـورا، جدایه‌ها در محیط کشت PDA، کشت و به مـدت ۷-۵ روز در دمـای ۲۵ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد نگـه‌داری شـدند. پـس از ایـن مـدت پرگنـه‌هـای جدایه‌ها به قطعات ۵ × ۵ میلی‌متری بریده شدند. قطعات میـسیلیومی در اطـراف طوقـه و ریـشه‌ی

Archive of SID

www.SID.ir

گیاهچه‌ها قرار گرفتند و خاک پای بوته‌ها دوباره برگردانده شد (۹).

به‌منظور انجام آزمون بیماری‌زایی، جدایه‌های ورتیسیلیوم از کشت‌های ۳ تا ۴ هفتگی آنها روی محیط کشت PDA استفاده شد. ده میلی‌لیتر آب مقطر روی محیط مذکور ریخته شده و با لبه‌ی اسکالپل، میسلیوم‌ها از محیط کشت خراشیده و در داخل آب غوطه‌ور گردیدند و از غلظت 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر برای مایه‌زنی استفاده گردید. نشاهای ۸-۶ برگی گوجه‌فرنگی در داخل سوسپانسیون اسپوری به مدت ۵ دقیقه قرار گرفته و سپس به گلدان اصلی منتقل شدند. گیاهان تلقیح شده تا ظهور علایم، هر روز مورد بررسی قرار گرفتند (۱۵ و ۱۹).

برای آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ی رایزوکتونیا نیز همانند جدایه‌های فوزاریوم از بذور گندم آغشته به میسلیوم‌های قارچ استفاده شد. تعیین شدت بیماری‌زایی هر کدام از جدایه‌ها از طریق محاسبه‌ی درصد آلودگی گیاهچه‌ها استفاده شد. در هر گلدان تعداد گیاهچه‌های آلوده، شمارش و بر حسب درصد بیان گردید.

آزمون بیماری‌زایی ۲۶ جدایه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۷ تیمار و ۳ تکرار بر روی رقم رایج کشت شده در استان آذربایجان‌شرقی انجام پذیرفت. در این آزمایش در هر تکرار ۲۷ گلدان و در هر گلدان سه نشاء گوجه‌فرنگی کاشته شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی‌ها نشان‌گر تنوع عوامل بیماری‌زای پوسیدگی ریشه و طوقه در مناطق مختلف تحت بررسی بود، به طوری که ۷۷۸ جدایه‌ی متعلق به ۹ گونه‌ی قارچی *Fusarium oxysporum*، *Fusarium solani*، *Fusarium equiseti*، *Fusarium acuminatum*، *Fusarium latertium*، *Fusarium semitectum*، *Rhizoctonia solani*، *Phytophthora drechsleri* و *Verticillium dahliae* از گیاهان بیمار و خاک مزارع آلوده جداسازی و تشخیص داده شد.

مناطق مربوط به هر کدام از قارچ‌های مذکور در جدول ۱ آورده شده است. گونه‌ی *Fusarium oxysporum* با تعداد۲۸۳ جدایه بیشترین فراوانی (۳۶٪) را به خود اختصاص داد. ۱۹۳ جدایه متعلق به *Fusarium solani*، ۹۹ جدایه متعلق به گونه‌ی *Fusarium equiseti*، ۳۸ جدایه متعلق به *Fusarium acuuminatum*، ۲۱ جدایه متعلق به *Fusarium lateritium*، ۱۹ جدایه متعلق به *Fusarium semitectum*، ۱۱۸ جدایه متعلق به *Rhizoctonia solani*، ۵ جدایه متعلق به *Verticillium dahliae* و۲ جدایه متعلق به *Phytophthora drechsleri* بودند. شکل ۱۰ درصد فراوانی هر کدام از گونه‌ها را نشان می‌دهد.

شناسایی جدایه‌های قارچی

۱- *Fusarium oxysporum*: رشد در PDA سریع (بیش از ۷ سانتی‌متر در ۱۰ روز)، رنگ پرگنه سفید کرم و سطح زیرین پرگنه کرمی ارغوانی تا بنفش کمرنگ، ماکروکنیدی‌ها تا حدی داسی شکل، دیواره‌ی طولی با خمیدگی غیر یکسان، سلول رأسی نازک و باریک و سلول پایه‌ی پاشنه‌ای شکل، دارای ۵-۲ جداره‌ی عرضی، به ابعاد ۵/۰۴-۳ × ۵۰/۴-۲۷/۶ میکرومتر، میکروکنیدی‌ها فراوان، یک یا دو سلولی، بیضوی

Archive of SID

www.SID.ir

یا تخم‌مرغی شکل و بر روی فیالیدها به صورت سردروغین، انواع یک سلولی دارای ابعاد ۳/۶-۱/۸ × ۱۰/۲-۳/۶ و انواع دوسلولی ۳/۹-۳ × ۱۶/۲-۹/۶ میکرومتر، کنیدیوفور مونوفیالید کوتاه، ساده یا منشعب،کلامیدوسپورها به آسانی و به وفور، به صورت انفرادی و جفتی تشکیل شدند (شکل ۱).

۲- *Fusarium solani*: رشد سریع در محیط PDA (بیش از ۷ سانتی‌متر در ۱۰ روز)، رنگ پرگنه ابتدا سفید و بعد با پوشیده شدن سطح آن توسط اسپوردوکیوم‌های متصل به‌هم رنگ پرگنه کرمی می‌شود. رنگ سطح زیرین پرگنه قهوه‌ای مایل به زرد، ماکروکنیدی بدون خمیدگی مشخص و دیواره‌ی طولی آنها در بیشتر طول اسپور موازی، دارای دیواره‌ی ضخیم، سلول رأسی بدون نوک و گرد، سلول پایه‌ی گرد یا به صورت فرو رفته، دارای ۶-۳ جداره، به ابعاد ۵/۷-۳/۹ × ۵۵/۲-۳۲/۴ میکرومتر، میکرو کنیدی‌ها فراوان، یک تا دو سلولی، تخم مرغی، بیضوی یا قلوه‌ای شکل، با دیواره‌ی ضخیم، تشکیل میکروکنیدی‌ها بر روی فیالید به صورت سردروغین، انواع یک سلولی به ابعاد ۶-۳ × ۱۶/۲-۵/۴ و انواع دو سلولی به ابعاد ۴/۸-۳ × ۲۵/۲-۱۳/۲ میکرومتر،کنیدیوفورها مونوفیالید ساده یا منشعب و فیالیدها دراز، کلامیدوسپورها به صورت انفرادی و جفتی تشکیل شدند (شکل ۲).

۳- *Fusarium equiseti*: رشد سریع در PDA (بیش از ۷ سانتی‌متر در ۱۰ روز)، رنگ پرگنه ابتدا سفید، رنگ سطح زیرین پرگنه قهوه‌ای مایل به زرد بود. اسپورزایی درمحیط PDA دیده نشد. ماکروکنیدی داسی شکل گاهی با خمیدگی زیاد و دیواره‌های طولی آن با خمیدگی غیر یکسان، سلول پایه مشخصاً به صورت پاشنه و سلول رأسی باریک و طویل، دارای ۸-۳ جداره‌ی عرضی، انواع ۵-۴ سلولی به ابعاد ۴/۸-۳/۱۲ × ۴۴/۴-۳۲/۴، میکروکنیدی کم، تخم مرغی شکل، تشکیل به صورت انفرادی بر روی فیالید، در حالت یک سلولی به ابعاد ۳-۱/۸ × ۱۲-۵/۴ و در حالت دو سلولی به ابعاد ۴/۸-۲/۴ × ۲۱/۶-۱۰/۸ میکرومتر، کنیدیوفورها به صورت مونوفیالیدی ساده یا منشعب، کلامیدوسپورها به صورت زنجیری و خوشه‌ای با دیواره‌های ضخیم بودند (شکل ۳).

۴- *Fusarium acuminatum*: رنگ پرگنه سفید، سطح زیرین پرگنه قهوه‌ای و گاهی قرمز قهوه‌ای، رشد در PDA در ۱۰ روز، بیش از ۷ سانتی‌متر، ماکروکنیدی‌ها داسی شکل، دیواره‌های طولی آن با خمیدگی غیر یکسان، سلول تحتانی به شکل پاشنه و سلول رأسی باریک و نوک تیز، دارای ۶-۳ دیواره عرضی، به ابعاد ۴/۳-۳ × ۵۰/۴-۳۱/۲ میکرومتر، میکروکنیدی‌ها کم، یک یا دو سلولی، تخم‌مرغی انواع تک سلولی به ابعاد ۳/۶-۱/۸×۱۲-۳/۶ و در حالت دو سلولی به ابعاد ۳/۶-۲/۴ × ۲۴-۱۳/۲ میکرومتر،کنیدیوفورها تک فیالیدی ساده یا منشعب،کلامیدوسپور به صورت انفرادی گاهی به صورت جفت و زنجیری بودند (شکل ۴).

۵-*Fusarium lateritium*: رنگ پرگنه سفید، سطح زیرین پرگنه نارنجی روشن تا قهوه‌ای، ماکروکنیدی‌ها طویل و مستقیم تا حدی

Archive of SID

www.SID.ir

خمیده، با دیواره‌های موازی، سلول تحتانی پاشنه‌ای شکل، معمولاً دارای ۵ دیواره‌ی عرضی، به ابعاد ۴-۳ ×۴۰-۲۰ میکرومتر، میکروکنیدی کم، تخم‌مرغی تا دوکی شکل و به صورت سردروغین، کنیدیوفورها تک فیالیدی کوتاه ساده یا منشعب، کلامیدوسپورها به صورت منفرد و زنجیری بودند (شکل ۵).

۶- *Fusarium semitectum*: دارای میسیلیوم فراوان در محیط PDA که ابتدا به رنگ سفید سپس به رنگ سفید مات، پرگنه از پشت پتری سفید و زردکمرنگ، ماکروکنیدی‌ها دوکی شکل تا نسبتاً خمیده و سلول قاعده‌ای به شکل پاپیل، میکروکنیدی‌ها نادر، کنیدیوفورها به صورت مونوفیالید و پلی فیالید، کلامیدوسپور دارای اشکال مختلف انفرادی، زنجیری و خوشه‌ای بودند (شکل ۶).

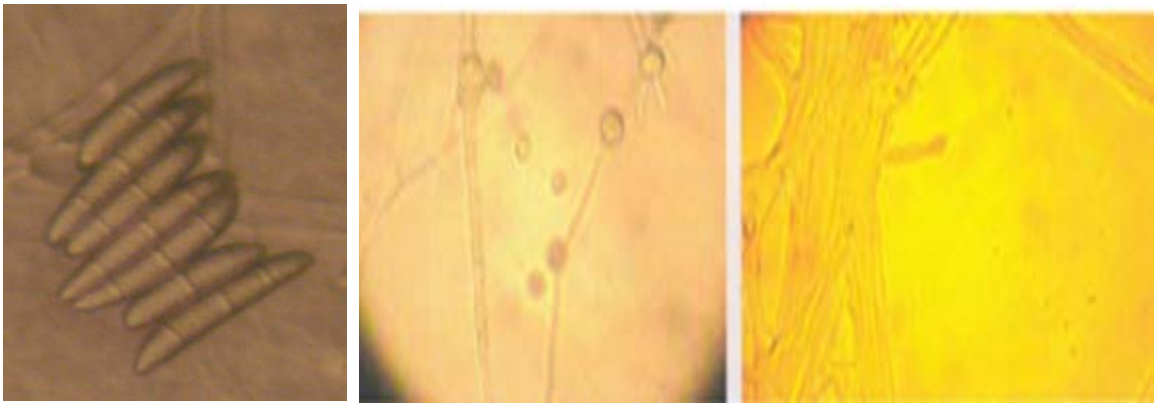
۷- *Rhizoctonia solani*: ریسه‌ها انشعاباتی با زاویه‌ی قائمه داشتند که در محل انشعاب فشردگی ریسه و در فاصله‌ی کمی از محل انشعاب، دیواره‌ی عرضی مشاهده شد. میسیلیوم جدایه‌های مختلف، ابتدا به رنگ سفید و سپس به رنگ زرد یا قهوه‌ای دیده شدند. در مطالعات میکروسکوپی، بیش از دو هسته در هر بخش ریسه‌ای وجود داشت و جدایه‌ها در گروه رایزوکتونیای چند هسته‌ای قرار گرفتند. رنگ اسکلروت‌ها از قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره در جدایه‌های مختلف متفاوت بود (شکل ۷).

۸- *Verticillium dahliae*: کنیدیوفورها ظریف، منشعب و حداقل برخی از انشعابات به حالت فراهم بودند. کنیدی‌ها (فیالوسپورها)، تخم‌مرغی تا بیضی شکل، بی‌رنگ و یک سلولی که به صورت انفرادی یا دسته‌های کوچک در انتهای انشعابات کنیدیوفورها تولید شدند. میکرواسکلرت‌ها در محیط‌های کشت ۲۱ روزه تشکیل شدند (شکل ۸).

۹- *Phytophthora drechsleri*: پرگنه‌ی قارچ کم و بیش کرکی، با حاشیه‌ی مواج، ریسه‌ها تقریباً یکنواخت با زاویه‌ی حاده، دارای تورم ریسه‌ای به قطر ۲۳-۱۰ میکرومتر، اسپورانژیوها با اشکال تخم‌مرغی، گلابی وارونه و به ابعاد ۵۸-۱۱× ۱۰۵-۱۸ میکرومتر، اسپورانژیوفورها کمی باریک‌تر از ریسه‌های معمولی، عرض آنها (۷-۱) ۳ میکرومتر و فاقد کلامیدوسپور بودند (شکل ۹).

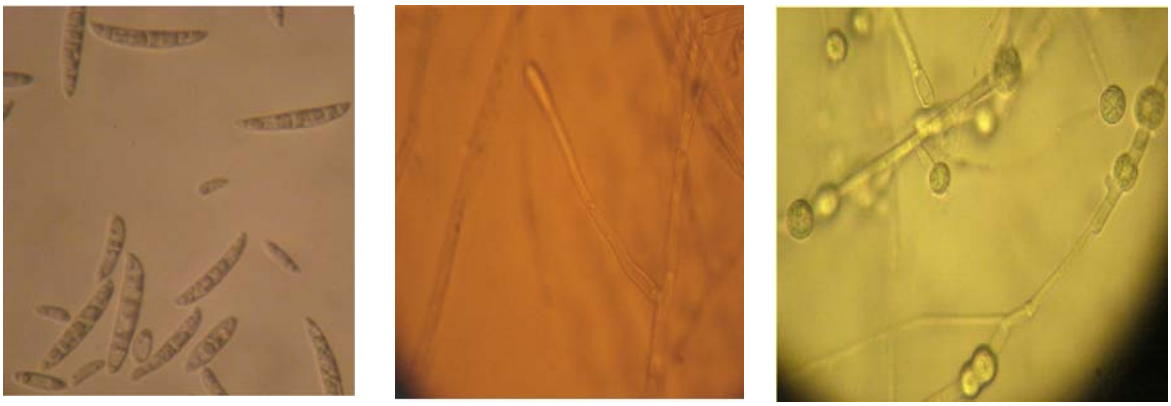
Archive of SID

www.SID.ir



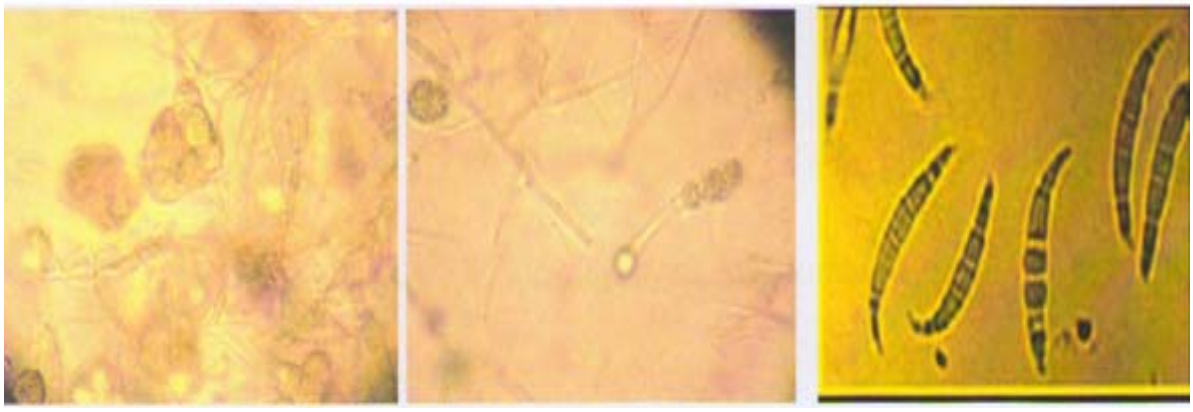
الف ب ج

شکل ۱- *F. oxysporum* الف: ماکروکنیدی (بزرگ‌نمایی ۶۰x)، ب: میکروکنیدی روی مونوفیالید (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ج: کلامیدوسپور انفرادی و جفتی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)



الف ب ج

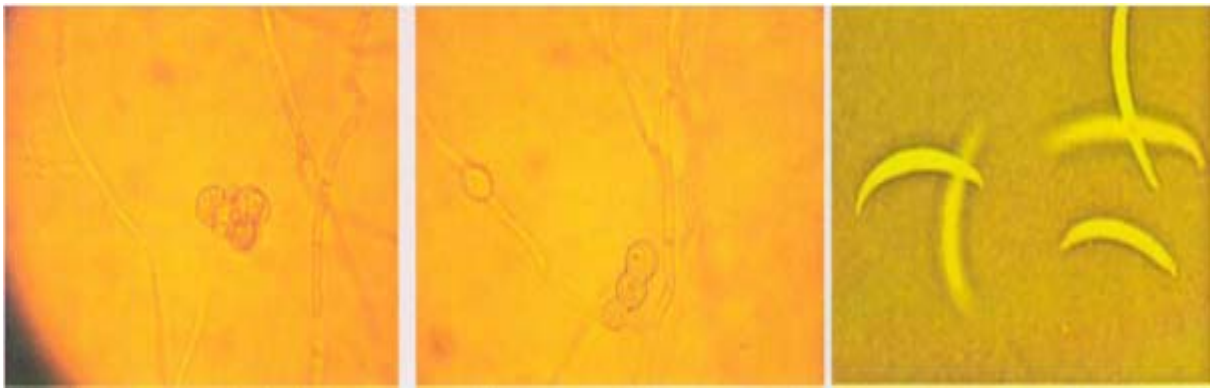
شکل ۲- *F. solani* الف: ماکروکنیدی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ب: مونوفیالیدهای دراز و طویل (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ج: کلامیدوسپور انفرادی و جفتی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)



الف ب ج

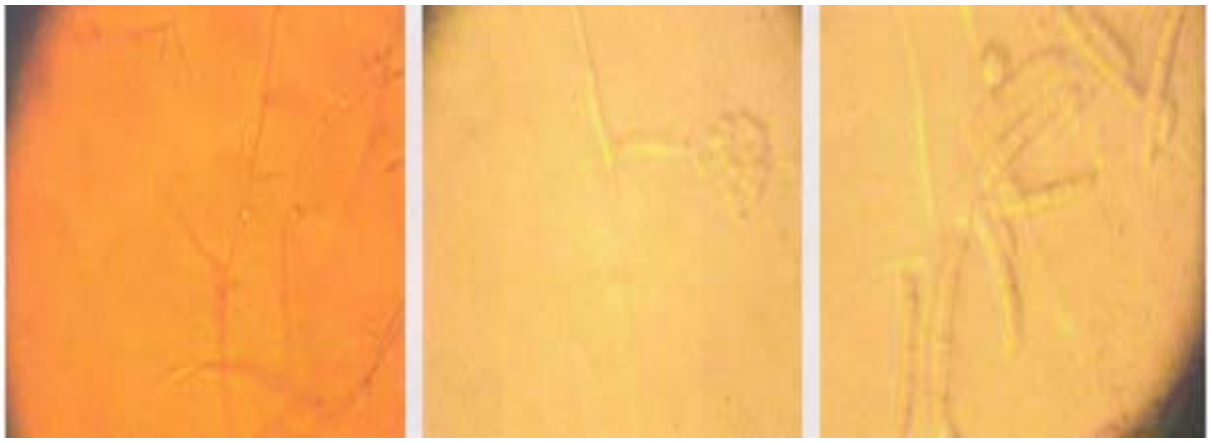
شکل ۳- *F. equiseti* الف: ماکروکنیدی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ب: کلامیدوسپور زنجیری (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ج: کلامیدوسپور گرهی (بزرگ‌نمایی ۱۰x)

www.SID.ir



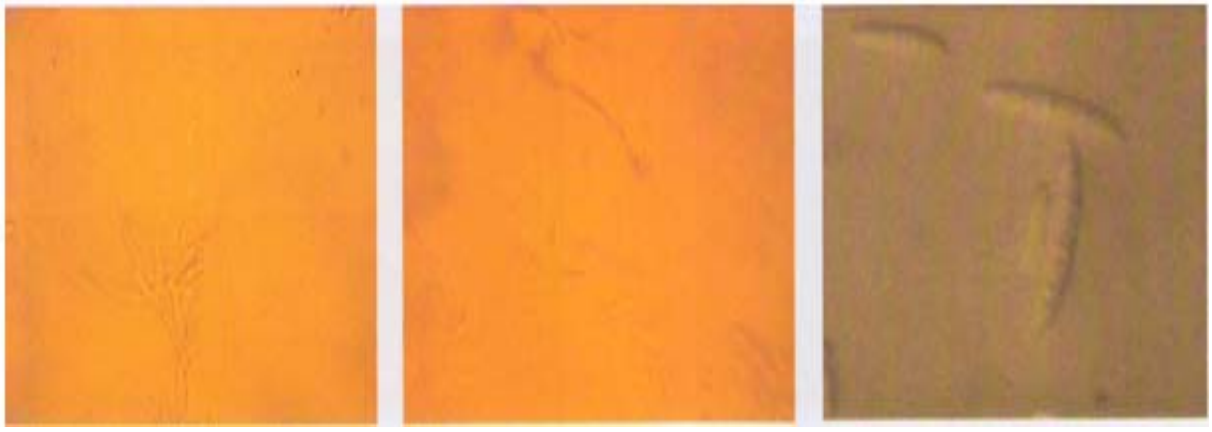
الف ب ج

شکل ۴- *F. acuminatum* الف: ماکروکنیدی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ب:کلامیدوسپور زنجیری (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ج: کلامیدوسپور گرهی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)



الف ب ج

شکل ۵- *F. lateritium* الف: ماکروکنیدی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ب: سردروغین (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ج: مونوفیالیدهای کوتاه (بزرگ‌نمایی ۴۰x)



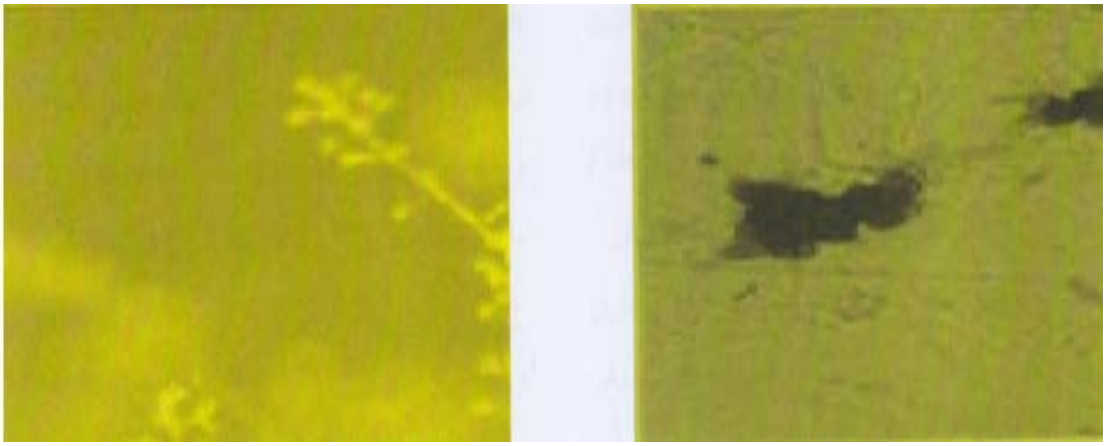
الف ب ج

شکل ۶- *F. semitectum* الف: ماکروکنیدی (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ب: پلی فیالید (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ج: مونوفیالید منشعب (بزرگ‌نمایی ۴۰x)

www.SID.ir

الف ج

شکل ۷- *R. solani* الف: انشعابات ریسه با زاویه‌ی قائمه (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ب: چند هسته‌ای بودن (بزرگ‌نمایی ۴۰x)



الف ج

شکل ۸ - *V. dahliae* الف: میکرواسکلرت (بزرگ‌نمایی ۱۰x)، ب: کنیدیوفور منشعب فراهم (بزرگ‌نمایی ۴۰x)

الف ب ج

شکل ۹- *P. drechsleri* الف: ریسه با زاویه‌ی حاده (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ب: تورم ریسه (بزرگ‌نمایی ۴۰x)، ج : اسپورانژیوم (بزرگ‌نمایی ۴۰x)

www.SID.ir

جدول ۱- چگونگی پراکنش گونه‌های جداسازی شده از مناطق نمونه‌برداری

ردیف	گونه قارچی	محل نمونه‌برداری
۱	*F. oxysporum*	آذرشهر، اسکو، بناب، تبریز، شبستر، عجب‌شیر، مراغه، مرند، ملکان، میانه
۲	*F. solani*	آذرشهر، اسکو، بناب، تبریز، شبستر، عجب‌شیر، مراغه، مرند، ملکان، میانه
۳	*F. equiseti*	آذرشهر، اسکو، بناب، تبریز، شبستر، عجب‌شیر، مراغه، مرند، ملکان، میانه
۴	*F. acuminatum*	آذرشهر، اسکو، شبستر، عجب‌شیر، مرند، ملکان، میانه
۵	*F. latertium*	آذرشهر، اسکو، بناب، تبریز، شبستر، مرند، میانه
۶	*F. semitectum*	آذرشهر، اسکو، بناب، شبستر، مرند، میانه
۷	*R. solani*	آذرشهر، اسکو، بناب، تبریز، شبستر، عجب‌شیر، مراغه، مرند، ملکان، میانه
۸	*P. drechsleri*	اسکو، تبریز
۹	*V. dahliae*	تبریز، شبستر

جدول ۲- تجزیه واریانس درصد آلودگی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی با جدایه‌های مختلف قارچی

منابع تغییر	درجه‌ی آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۲۰/۶۹۷*
تیمار (جدایه‌های قارچی)	۲۶	۹/۴۴۴*
خطا	۵۲	۴/۶۸۶
کل	۸۰	

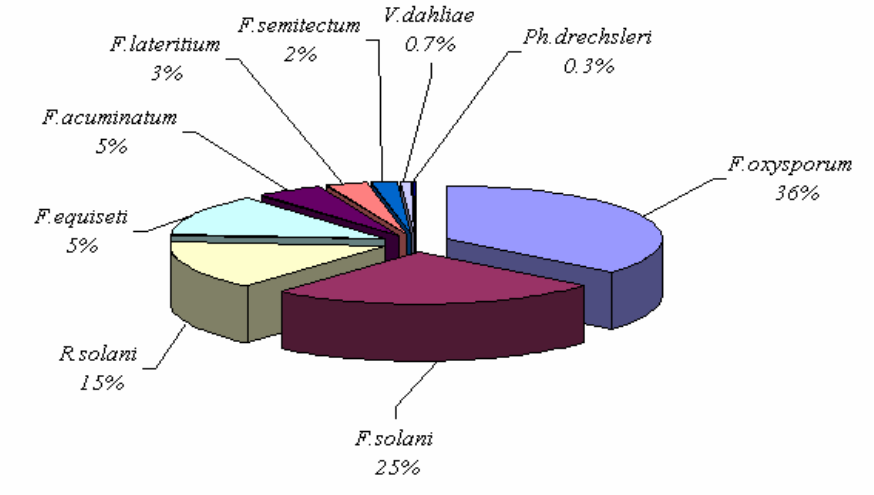
* اختلاف در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌داراست.

جدول ۳- مشخصات ۲۶ جدایه‌ی مورد استفاده در آزمون بیماری‌زایی با شدت بیماری‌زایی

شماره جدایه	گونه	محل جمع‌آوری	شدت بیماری‌زایی برحسب میانگین درصد آلودگی	شماره جدایه	گونه	محل جمع‌آوری	شدت بیماری‌زایی برحسب میانگین درصد آلودگی
۱	*F. oxysporum*	شبستر	۷۷/۳۳^{ab}	۱۵	*F. equiseti*	مرند	۵۵/۰۰^{abc}
۲	*F. oxysporum*	مرند	۶۶/۳۳^{abc}	۱۶	*F. equiseti*	آذرشهر	۳۳/۰۰^{bcd}
۳	*F. oxysporum*	آذرشهر	۴۴/۰۰^{abcd}	۱۷	*F. lateritium*	بناب	۴۴/۳۳ ^{abcd}
۴	*F. oxysporum*	عجب‌شیر	۴۴/۰۰ ^{abcd}	۱۸	*F. lateritium*	تبریز	۲۲/۰۰^{cd}
۵	*F. oxysporum*	میانه	۴۴/۰۰^{abcd}	۱۹	*F. semitectum*	اسکو	۶۶/۳۳^{abc}
۶	*F. oxysporum*	تبریز	۶۶/۳۳^{abc}	۲۰	*F. semitectum*	شبستر	۴۴/۰۰^{abcd}
۷	*F. oxysporum*	اسکو	۳۳/۰۰^{bcd}	۲۱	*R. solani*	آذرشهر	۸۸/۶۷^{a}
۸	*F. solani*	مرند	۶۶/۳۳^{abc}	۲۲	*R. solani*	مرند	۶۶/۳۳^{abc}
۹	*F. solani*	عجب‌شیر	۳۳/۰۰^{bcd}	۲۳	*R. solani*	عجب‌شیر	۶۶/۳۳^{abc}
۱۰	*F. solani*	اسکو	۳۳/۰۰^{bcd}	۲۴	*P. drechsleri*	تبریز	۵۵/۳۳^{abc}
۱۱	*F. solani*	آذرشهر	۳۳/۰۰^{bcd}	۲۵	*V. dahliae*	تبریز	۴۴/۳۳^{abcd}
۱۲	*F. solani*	مراغه	۲۲/۰۰^{cd}	۲۶	*V. dahliae*	شبستر	۴۴/۰۰^{abcd}
۱۳	*F. acuminatum*	مرند	۵۵/۰۰^{abc}	۲۷	شاهد		۰/۰۰^{d}
۱۴	*F. acuminatum*	میانه	۵۵/۰۰^{abc}				

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد است.

www.SID.ir



شکل ۱۰- درصد فراوانی گونه‌ها

با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) جدایه‌ی ۱۸ و ۱۲ دارای کمترین شدت بیماری‌زایی بودند و جدایه‌ی ۲۱ دارای بیشترین شدت بیماری‌زایی در بین جدایه‌ها بود. سایر جدایه‌ها مابین این دو گروه قرار گرفتند.

با توجه به آمار به‌دست آمده در نمونه‌برداری‌های سال ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸، بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی در اکثر مناطق بررسی شده، شیوع داشت. در مناطق شبستر، مرند، آذرشهر و میانه آلودگی گیاهان به عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه بالا بود. در بررسی پراکنش بیماری، بخش‌هایی از مناطق تبریز و عجب‌شیر عدم آلودگی به بیماری فوق را نشان دادند که به احتمال زیاد به خاطر عدم آلودگی خاک مزارع به عامل بیماری و یا نامساعد بودن شرایط محیطی برای عامل بیماری بود.

عوامل بیماری خسارت همه جانبه‌ای به گیاه وارد می‌کرد. علایمی چون زردی، پژمردگی، کاهش رشد و پوسیدگی و تخریب ریشه ایجاد می‌شد. علایم ایجاد شده با گفته‌های جونز و همکاران (۲۰) مطابقت کامل داشت.

در بررسی انجام شده فرم جنسی هیچ‌کدام از قارچ‌ها مشاهده نشد. اما خصوصیات گونه‌های نامبرده‌ی قارچ فوزاریوم در محیط کشت و مشخصات مورفولوژی آنها با شرحی که نلسون و همکاران (۲۳) نوشته بودند مطابقت داشت. خصوصیات قارچ رایزوکتونیا با توصیفی که کرونلند و استاگلینی (۲۲) ارایه دادند، تطبیق کرد. خصوصیات فیتوفتورا با توصیفی که استمپ و همکاران (۲۴) و ارشاد (۱) ارایه داده بودند، مطابقت داشت. خصوصیات قارچ ورتیسیلیوم با توصیفی که بات و همکاران (۱۵) انجام داده بودند، مطابقت داشت. این نتایج با یافته‌های ویانی و همکاران (۱۴) در سال ۱۳۷۶ مطابقت داشت. وی گونه‌های مختلف فوزاریوم از جمله *Fusarium oxysporum*، *Fusarium solani*

Archive of SID

www.SID.ir

Fusarium acuminatum، *Fusarium equiseti* و *Fusarium proliferatum* را به عنوان مولد بیماری پژمردگی فوزاریومی در استان آذربایجان‌شرقی گزارش کرد که در بین آنها *F. oxysporum* از فراوانی بیشتری برخوردار بود.

گونه‌های *Fusarium oxysporum*، *Fusarium solani*، *Fusarium equiseti* و *Fusarium acuminatum* به عنوان عامل بیماری در گوجه‌فرنگی به‌وسیله‌ی بوث (۱۶)، جونز و همکاران (۲۰)، کاپور (۲۱)، کوکوزا و همکاران (۱۷)، ولکان و لوری (۲۷) و واودری و پترسون (۲۵) گزارش شده‌اند.

شکاری (۹) علت پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه فرنگی را در استان آذربایجان‌شرقی *Phytophthora capcisi*، *Phytophthora drechsleri* و *Phytophthora nicotianae* معرفی کرد. امتی و ارشاد (۳) نیز *Phytophthora cryptogea* و *Phytophthora nicotianae* را به عنوان عامل پوسیدگی و مرگ گیاهچه‌ها در سمنان معرفی کردند. در این تحقیق فقط *Phytophthora drechsleri* شناسایی شد. ارول و تونالی (۱۸) گونه‌های مختلف *Fusarium*، *Pythium* و *Rhizoctonia* را به عنوان عامل مولد بیماری در منطقه‌ی سامسون ترکیه گزارش کردند و در بین آنها گونه‌های *Fusarium* از فراوانی بیشتری برخوردار بود. جونگ و همکاران نیز (۱۹) گونه‌های *Verticillium* را به عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه شناسایی کردند. در این تحقیق فقط گونه *Verticillium dahliae* جداسازی شد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع مورد استفاده

۱- ارشاد، ج. ۱۳۷۱. گونه‌های فیتوفتورا در ایران. انتشارات سازمان تحقیقات کشاورزی، ۲۱۷ صفحه.

۲- ارشاد، ج. ۱۳۷۴. قارچ‌های ایران. چاپ دوم. انتشارات سازمان تحقیقات کشاورزی، ۸۸۸ صفحه.

۳- امتی، ف. و ارشاد، ج. ۱۳۸۳. شناسایی قارچ‌های عامل خشکیدگی گوجه‌فرنگی در خزانه‌ها و مزارع استان سمنان. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، صفحه ۲۴۹.

۴- بنی‌هاشمی، ض. و محمودی، ح. ۱۳۸۴. انتشار، بیماری‌زایی و پایداری فوزاریوم‌های مولد پژمردگی و پوسیدگی نخود در استان فارس. بیماری‌های گیاهی، جلد ۴۱: ۷۰۸-۶۸۷.

۵- بهروزین، م. و اسدی، پ. ۱۳۷۳. معرفی سه گونه فوزاریوم عامل پوسیدگی ریشه و طبق پیاز خوراکی و تعیین فراوانی آن‌ها در آذربایجان‌شرقی. بیماری‌های گیاهی، جلد ۳۰: ۴۹-۴۱.

۶- جدید میلانی، م.، ح. اعتباریان، و ع. علیزاده. ۱۳۷۸. بررسی و انتشار بیماری پژمردگی فوزاریومی کاهو در مناطق شهرری، ورامین و کرج. بیماری‌های گیاهی، جلد ۳۵: ۱۲۰-۱۱۲.

۷- خسروفر، ف. و ض. بنی‌هاشمی. ۱۳۸۳. نقش علف‌های هرز و نباتات زراعی در پایداری قارچ *Phytophthora drechsleri* عامل بوته‌میری کدوییان در استان فارس. بیماری‌های گیاهی، جلد۴۰: ۱۱۲-۱۰۵.

۸- زمانی، م. و ع. علیزاده. ۱۳۷۹. شناسایی عامل پوسیدگی فوزاریومی بلال در ساری و کرج. بیماری‌های گیاهی، جلد۳۶: ۲۹-۱۷.

۹- شکاری، الف.، م. میرابوالفتحی، م. محمدی‌پور، ج، زاد، و م. اخوت. ۱۳۸۵. پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی تعدادی از گیاهان زراعی و صیفی و سبزی در استان آذربایجان‌شرقی. بیماری‌های گیاهی، جلد ۴۲: ۳۰۸-۲۹۳.

۱۰- صارمی، ح. ۱۳۷۷. اکولوژی و تاکسونومی گونه‌های فوزاریوم. انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد، ۱۲۱ صفحه.

۱۱- فصیحیانی، ع. ۱۳۶۴. پیدایش پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در استان هرمزگان، بیماری‌های گیاهی، صفحه ۲۶-۱۹.

۱۲- مبلی، م. و پیراسته، ب. ۱۳۷۷. تولید سبزی (ترجمه). انتشارات مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان. ۸۸۷ صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir

۱۳- مرتضوی‌بک، الف.، م. نصر اصفهانی، و م. شهسواری. ۱۳۸۱. بررسی حساسیت ارقام سیب‌زمینی به سه گونه قارچ فوزاریوم عامل پوسیدگی خشک سیب‌زمینی در اصفهان. آفات و بیماری‌های گیاهی، جلد ۷۰: ۸۱-۷۳.

۱۴- ویانی، ع.، ع. علیزاده، م. بابادوست، و الف. پیغامی. ۱۳۸۶. بررسی بیماری‌های فوزاریومی گوجه‌فرنگی در استان آذربایجان شرقی. علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۱۴: ۸۷-۷۴.

15- Bhat, R.G., R.F. Smith, S.T. Koike, B.M. Wu, and K.V. Subbarao. 2003. Characterization of *Verticillium dahliae* isolates and wilt epidemics op pepper. Plant Disease. 87: 779-789.

16- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. CMI, Kew, Surrey, England, 237 pp.

17- Cucuzza, J.D., J.C. Watterson, and E.A. Bernhardt. 1992. Foot rot of tomato caused by *Fusarium solani* in California. Plant Disease. 76:101-107.

18- Erol, F.Y. and B. Tunalı. 2009. Determination of root and crown rot disease in tomato. growing aria of Samsun province. ISHS Acta Horticulture.

19- Jong, T.K., I.H. Rark, B.L. Hyang, H.Yong, and H.Y. Seung. 2001. Identification of *Verticillium dahliae* and *V. albo-atrum* causing wilt of tomato. Plant Pathology. 17: 222-226.

20- Jones, J.B., J.P. Jones, R.E. Stall, and T.A. Zitter. 1991. Compendium of tomato diseases, APS Press. 73 pp.

21- Kappor, I.J. 1988. Fungi involved in tomato wilt syndrome in Dehli, Maharashtra and Tamil Nadu. Indian Phytopathology. 41: 208–213.

22- Kronland, W.C. and M.E. Stanghellini. 1988. Clean slide technique for the observation of anastomosis and nuclear condition of *Rhizoctonia solani.* Phytopathology. 78: 820-822.

23- Nelson, P.E., T.A. Toussoun, and W.F.O. Marasas. 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for indentification. Pennsylvania State University Press. 193 pp.

24- Stamps, D.J., G.M. Waterhouse, J. Newhook, and G.S. Hall. 1990. Rivised tabular key to the species of *Phytophthora.* Mycology. 162 pp.

25- Vawdrey, L.L. and R.A. Peterson.1988. *Fusarium solani* in cause of foot rot of tomatoes in central Queensland, Aust. Plant Pathology. 17: 24–25.

26- Walker, J.C. 1981. *Fusarium* wilt of tomato foot rot caused by *Fusarium solani.* Monograph. No. 6, APS Press. 56 pp.

27- Wolcan, S.M. and G.A. Lori. 1993. Tomato foot rot caused by *Fusarium solani*. Review of Plant Pathology. 72: 2193.

Archive of SID

www.SID.ir