

مقاله علمی کوتاه

اولین گزارش بیماری پوسیدگی بنه زعفران وحشی ناشی از *Fusarium oxysporum* در ایران

قاسم نجاری^{۱*}، خشنود نوراللهی^۲ و مریم پیری^۱

تاریخ دریافت: ۲۵ مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۱۶ دی ۱۳۹۶

نجاری، ق، نوراللهی، خ، و پیری، م. ۱۳۹۷. اولین گزارش بیماری پوسیدگی بنه زعفران وحشی ناشی از *Fusarium oxysporum* در ایران. زراعت و فناوری زعفران، ۶(۱): ۱۱۹-۱۲۳.

چکیده

زعفران (*Crocus sativus* L.) مهم‌ترین گیاه در جهان است که از کلاله آن به دلیل داشتن مواد رنگی و مواد معطر در طب‌های، قنادی و تولید داروها استفاده می‌شود. بیماری پوسیدگی بنه زعفران یکی از بیماری‌های مهم زعفران در ایران می‌باشد. به‌منظور شناسایی عوامل پژمردگی و پوسیدگی بنه زعفران وحشی، به‌صورت تصادفی از گیاهان دارای علائم زردی و پژمردگی در مناطق ایوان و صالح‌آباد در استان ایلام نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌ها با محلول سفیدکننده (۵٪ هیپوکلریت سدیم) به‌مدت دو تا سه دقیقه ضدعفونی سطحی شدند سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند و سپس این قطعات را با کاغذ صافی سترون خشک کرده و بر روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت داده شدند. تست‌ها به‌مدت سه روز در انکوباتور با دمای ۲۰ °C نگهداری شدند. قارچ به روش تک اسپور جداسازی و خالص گردید. تعداد ۸ جدایه *Fusarium oxysporium* به‌عنوان عامل ایجاد پوسیدگی ریشه، بر اساس مشخصات ریخت-شناسی و میکروسکوپی با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی گزارش شد و بیماری‌زایی این جدایه‌ها به‌صورت مصنوعی در گلخانه مطابق اصول کخ بر روی رقم زعفران وحشی به اثبات رسید.

کلمات کلیدی: زعفران، پوسیدگی بنه، قارچ.

مقدمه

دارد (Behnia, 1991). زعفران‌های وحشی شناسایی شده در استان ایلام را می‌توان به ۲ گونه وحشی زعفران زاگروسی و زعفران جو قاسم تقسیم کرد (Mathew, 1999).

از مهم‌ترین مشخصات ظاهری این دو گونه زعفران وحشی، بوته به طول ۱۰ سانتی‌متر، گل‌های آن تا حدودی دارای رنگ‌های متنوع از سفید تا آبی سوسنی پررنگ می‌باشد و

به‌طور کلی ۸ گونه زعفران وحشی شناخته‌شده در ایران وجود

۱- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه ایلام

۲- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

(*- نویسنده مسئول: najari70@yahoo.com)

DOI: 10.22048/jsat.2017.59518.1185

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و جداسازی عامل بیماری

نمونه‌برداری از اندام‌های گیاهان مشکوک به بیماری در طول فصل رویش در دامنه زاگرس از دو شهرستان ایوان و صالح‌آباد استان ایلام انجام گرفت. به منظور جداسازی قارچ‌های بیماری‌زا گیاهان آلوده نمونه‌های جمع‌آوری شده داخل پاکت‌های کاغذی به صورت جداگانه قرار داده شدند و پس از آن بر روی هر پاکت نام محل و تاریخ جمع‌آوری، نوع رقم کشت شده نوشته شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از شستشوی اولیه نمونه‌ها و خشک کردن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. جهت جداسازی قارچ بیماری‌زا از حد واسط بافت آلوده و سالم، قطعات ۳-۵ میلی‌متری تقسیم گردید. جهت ضدعفونی سطحی قطعات مختلف گیاه را در هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد به مدت ۲ دقیقه و نیز الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی کرده و سپس نمونه‌ها را با آب مقطر سه بار شست‌شو داده و پس از خشک کردن نمونه‌های ضدعفونی شده با استفاده از کاغذ صافی سترون، هر نمونه روی محیط کشت حاوی سیب‌زمینی، دکستروز و آگار (PDA) منتقل گردیدند و تشتک‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در اتاق کشت نگهداری شدند. پرگنه قارچ پس از سه روز ظاهر شدند (Cappellia, 1994). پس از جداسازی قارچ از گیاه و خالص‌سازی با استفاده از روش نوک هیف کردن، شناسایی انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی بر روی رقم وحشی زعفران بر اساس روش disease-free انجام شد (Cappelli & Di-Minco, 1999). به این منظور بنه‌های عاری از بیماری تهیه‌شده را به مدت دو دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد ضدعفونی سطحی گردیدند و سه بار با آب مقطر سترون هرکدام

معمولاً در سطح خود رگه‌هایی به رنگ ارغوانی تیره‌تر داشته و قاعده داخل آن‌ها به رنگ سفید تا زرد دیده می‌شود. گل‌ها ۱ تا ۳ عدد که در اوایل پاییز ظاهر می‌شوند، تعداد برگ‌ها ۳ تا ۴ عدد می‌باشد که در زمستان و یا اوایل بهار ظاهر می‌شوند (Behnia, 1991). در طب جدید ضمن بررسی‌های انجام‌شده، زعفران باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید خون و همچنین به عنوان داروی ضد سرطان گزارش گردیده است (Amin et al., 2015). همچنین مردم در استان‌های ایلام و کرمانشاه بنه زعفران‌های وحشی را سرخ نموده و همراه شیر مصرف می‌نمایند (Behnia, 1991). عامل پوسیدگی فوزاریومی بنه زعفران *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* می‌باشد. این بیماری برای اولین بار در ژاپن (Yamamoto et al., 1954)، سپس در هند (Shah & Srivastava, 1984) و اسپانیا و ایتالیا (Garcia-Jiménez & Alfaro-Garcia, 1987). گزارش شد. بیماری پژمردگی فوزاریومی مخرب‌ترین بیماری زعفران است که باعث کاهش شدید عملکرد این محصول می‌شود (Cappellia, 1994). به این بیماری با نام‌های مختلف اشاره شده است، که شامل پوسیدگی خشک، پوسیدگی قهوه‌ای و زردی است. علائم اصلی این بیماری در طول دوره گلدهی رخ می‌دهد. گیاهان آلوده افتادگی، مرگ گیاهچه، زردی و پژمردگی ساقه و بنه را شامل هستند. پاتوژن در بنه‌های آلوده به شکل میسلیم، کلامیوسپور، ماکروکنیدی و میکروکنیدی زنده می‌ماند (Brayford, 1996).

گونه *Fusarium oxysporum* در بین گونه‌های جنس فوزاریوم به عنوان مهم‌ترین عامل ایجاد پژمردگی آوندی، زردی و گاهی پوسیدگی ریشه و بوته‌میری مطرح است (Nelson & Wfo-Toussoun, 1983). قارچ *F. oxysporum* یک پاتوژن خاک‌زاد با دامنه میزبانی وسیع بوده که باعث پژمردگی آوندی در گیاهان مختلف می‌شود (Alexander & Hoover, 1955).

اساس مطالعات ریخت‌شناسی جهت شناسایی جنس و گونه‌های عامل بیماری از کتاب *The genus Fusarium* استفاده شد. تمام جدایه‌ها مربوط به جنس *Fusarium* و گونه *Fusarium oxysporum* بود (Bosland et al., 1987).

جدول ۱- مشخصات جدایه های قارچ *Fusarium oxysporum* از مناطق مختلف استان ایلام

Table 1- Characteristics of *Fusarium oxysporum* isolates from different regions of Ilam province

ردیف Row	کد جدایه Isolate code	منطقه Region
1	F1	ایوان Eyvan
2	F2	ایوان Eyvan
3	F3	ایوان Eyvan
4	F4	ایوان Eyvan
5	F5	ایوان Eyvan
6	F6	صالح‌آباد Salehabad
7	F7	صالح‌آباد Salehabad
8	F8	صالح‌آباد Salehabad

Fusarium oxysporum

قارچ عامل بیماری دارای میسلیم‌هایی با دیواره عرضی است که در ابتدا بی‌رنگ، سپس زرد کم‌رنگ و سرانجام ارغوانی یا بنفش دیده می‌شوند. در بررسی‌های به‌عمل آمده جدایه‌های قارچ عامل بیماری پس از مدتی نگهداری در یخچال به رنگ ارغوانی در می‌آید. میکروکنیدی‌ها بر روی فیالیدهای کوتاه در اطراف هیف به‌وجود می‌آید، میکروکنیدی‌ها اغلب تخم‌مرغی، استوانه‌ای خمیده و بیضوی دیده می‌شوند، میکروکنیدی‌ها بی‌رنگ، هلالی شکل و دارای دو سر باریک می‌باشند و کلامیدوسپورها دارای دیواره صاف یا ناهموار بوده و در انتهای میسلیم و یا مابین رشته‌ای میسلیم به‌وجود می‌آید (شکل ۲).

به مدت ۲ دقیقه شستشو داده شد. سپس سوسپانسیونی از اسپور قارچ *F. oxysporum* تهیه شد به این صورت که ۱۰۶ عدد کنیدی از قارچ *F. oxysporum* در ۷۵ سی‌سی آب مقطر سترون ریخته شد و سپس سطح بنه را با چند خراش زخمی کرده و در نهایت به مدت ۲۰ دقیقه در سوسپانسیون تهیه‌شده از اسپور غوطه‌ور گردیدند بنه‌های عاری از بیماری در گلدان‌هایی که حاوی خاک سترون بودند کاشته شد. حدود ۴۰ روز بعد برگ‌ها شروع به خشک شدن نمودند و بعد از خشک شدن برگ‌ها علائم پوسیدگی خشک بر روی بنه‌ها نمایان شد. تیمارهای شاهد، بنه‌های فاقد قارچ را دریافت نمودند. گلدان‌های تلقیح شده در گلخانه در دمای بین ۲۰ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت بررسی تغییرات حاصل از بیماری از گیاهان بازدید به عمل آمد (Cappelli & Di-Minco, 1999). گیاهان مایه‌زنی شده با جدایه‌های شناسایی شده پس از ۴۰ روز که گیاهان علائم زردی را به‌خوبی نشان می‌دادند و دچار پژمردگی شده بودند جهت ارزیابی موردبررسی قرار گرفتند (شکل ۱).

نتایج و بحث

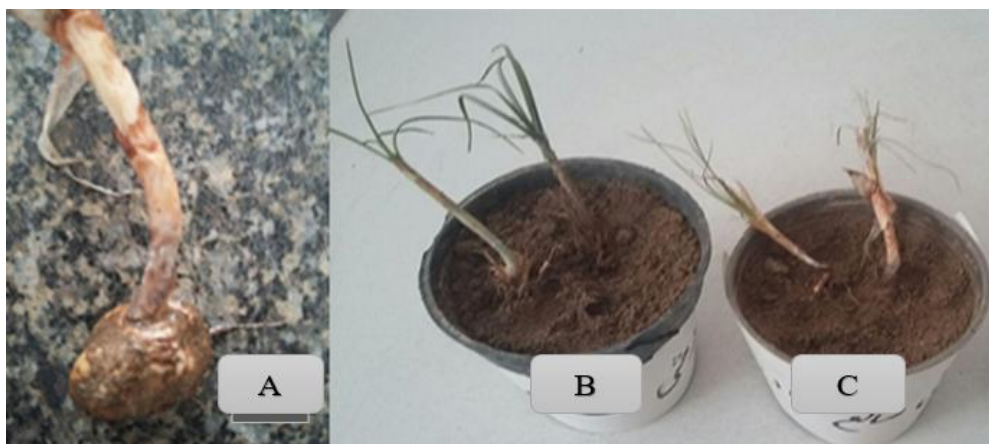
مناطق نمونه‌برداری در استان ایلام و جدایه‌های مورد مطالعه در اوایل فروردین ماه سال ۱۳۹۵ به شرح جدول ۱ می‌باشد

شناسایی ریخت‌شناسی جدایه‌ها

تعداد هشت جدایه *Fusarium oxysporum* (جدول ۱) جداسازی شده از گونه‌های زعفران وحشی استان ایلام براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی به شرح: رنگ پرگنه‌ها سفید تا کرمی رنگ، از نظر سرعت رشد سه روز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس تشک پتری نه سانتی‌متری پر نمود. در بین جدایه‌های موردبررسی میکروکنیدی و ماکروکنیدی مشاهده گردید. بر

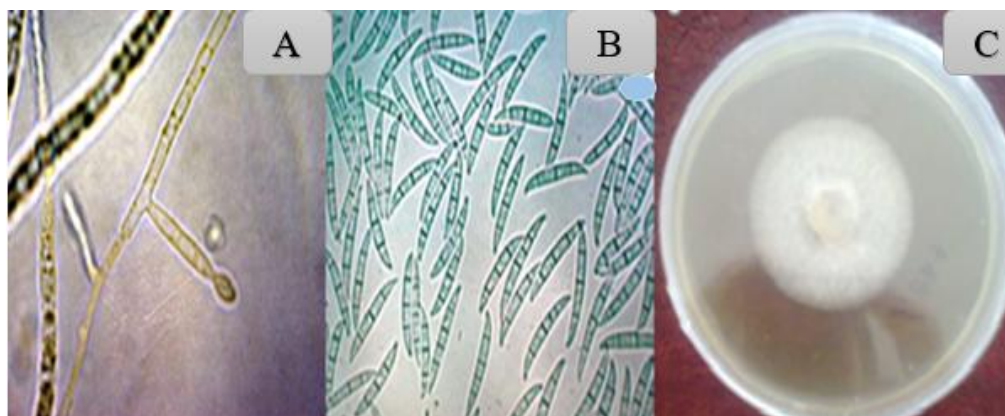
سایت‌های زعفران در حال رشد از طریق واردات و پراکندگی مواد آلوده انتشار پیدا کرده و گسترش یابد (Cappelli & Di Minco, 1999).

بر روی گل زنبق در ایتالیا مشاهده شد (Gullino et al., 1983) علاوه بر این، پرگنه از *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* عامل ایجاد بیماری در زعفران در کشورهای دیگر ممکن است به



شکل ۱- (A) علائم ایجادشده توسط جدایه *F. oxysporum* بر روی بنه زعفران وحشی (B) زعفران وحشی شاهد (C) علائم ایجادشده توسط جدایه *F. oxysporum* بر روی زعفران وحشی منطقه صالح‌آباد استان ایلام

Figure 1- (A) Symptoms of *F. oxysporum* on wild Saffron corm (B) Wild Saffron control (C) Symptoms by *F. oxysporum* isolates from Saleh-Abad region of Ilam province.



شکل ۲- (A) میکروکنیدی (B) ماکروکنیدی (C) پرگنه قارچ در جدایه *F. oxysporum*
Figure 2- (A) Microconidium (B) Macroconidium (C) Colony in *F. oxysporum* isolate.

نتیجه‌گیری

گزارش گردید. عامل بیماری به اشکال مختلف کلامیدیوسپور و مسیلیوم برای مدت طولانی در خاک زنده می‌ماند و باعث خسارت به زعفران وحشی می‌گردد و همچنین به علت پایداری زیاد این قارچ، ممکن است کورم‌های آلوده به مناطق زعفران کاری کشور منتقل شده باعث تنوع ژنتیکی قارچ و ظهور

در طی بازدید از مناطق مختلف استان ایلام و نمونه‌برداری از گیاه زعفران وحشی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* برای اولین بار به عنوان عامل بیماری زردی و مرگ گیاهچه

برای جلوگیری از انتشار این بیماری در دیگر مناطق زعفران کاری کشور امری بسیار ضروری است. تا بتوان از این طریق با رعایت اقدامات قرنطینه‌ای و جلوگیری از گسترش این بیماری به مناطق دیگر باعث کاهش پتانسیل ایجاد بیماری و افزایش محصول زعفران شد.

نژادهای جدیدی در دیگر مناطق کشور گردد و همین تنوع ژنتیکی و تغییرپذیری فراوان در اینگونه مناطق، شیوع شدیدی بیماری و خسارت فراوان به محصول زعفران را موجب می‌شود، بنابراین انجام مطالعات دقیق برای شناسایی مناطق آلوده، تعیین تنوع ژنتیکی قارچ عامل بیماری و شناسایی کانون‌های آلودگی

منابع

- Alexander, L.J., and Hoover, M.M. 1955. Disease resistance in wild species of tomato. Report of the National Screening Committee.
- Amin, B., Feriz, H.M., Hariri, A.T., Meybodi, N.T., and Hosseinzadeh, H. 2015. Protective effects of the aqueous extract of (*Crocus sativus* L.) against ethylene glycol induced nephrolithiasis in rats. EXCLI Journal 14: 4-11.
- Behnia, M.R. 1991. Saffron Cultivation. The University Publishing House of Tehran. (In Persian).
- Brayford, D. 1996. (*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*). Mycopathologia 133: 47-48.
- Bosland, M.C., Jones, T.C., Mohr, U., and Hunt, R.D. 1987. ed Monographs on Pathology of Laboratory Animals Genital System. Springer-Verlag, Berlin, p. 252-275.
- Cappelli, C. 1994. Occurrence of (*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*) on saffron in Italy. Phytopathologia Mediterranea 33: 93-94.
- Cappelli, C., and Di-Minco, G. 1999. Results of a triennial study on saffron diseases in Abruzzi. Informatore Fitopatologico 49: 27-32.
- Garcia-Jimenez, J., and Alfaro-Garcia, A. 1987. (*Fusarium oxysporum*) Schlecht as casual agent of a seedborne disease of saffron (*Crocus sativus* L.). Proceedings of the 7th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, 156 p.
- Gullino, M., Romano, M., and Armato, B. 1983. Introduction to Italy of iris bulbs infected with (*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*) and (*Penicillium corymbiferum*) resistant to benzimidazoles. Informatore Fitopatologico (Italy).
- Mathew, B. 1999. Botany, taxonomy and cytology of *Crocus sativus* L. and its allies. Saffron (*Crocus sativus* L.) Amsterdam, Netherlands. Harwood Academic, 19-30.
- Nelson, P.M., and Wfo-Toussoun, T. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University.
- Shah, A., and Srivastava, K. 1984. Control of corm rot of saffron. Progressive Horticulture 16: 141-143.
- Yamamoto, W., Omatsu, T., and Takami, K. 1954. Studies on the corm rots of (*Crocus sativus* L.) On the saprophytic propagation of (*Sclerotinia gladioli*) and (*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*) on various plants and soil. Science Reports of the Hyogo University of Agriculture 1: 64-70.

Short Communication

The first report of (*Fusarium oxysporum*) causal agent of wild saffron corm rot disease in Iran

Ghasem Najari^{1*}, Khoshnood Nourollahi² and Maryam Piri¹

Submitted: 15 August 2016

Accepted: 6 January 2018

Najari, Gh., Nourollahi, Kh., and Piri, M. 2018. The first report of (*Fusarium oxysporum*) causal agent of wild saffron corm rot disease in Iran. Saffron Agronomy & Technology 6(1): 119-123.

Abstract

Saffron (*Crocus sativus* L.) is the most important plant in the world that has been used in cooking, confectionery and drug productions because of the color and aromatic substances in its stigma. Corm rot disease is one of the most important diseases in Iran. For identification of causal agents, wild saffron plants with wilt symptoms and rot lesions on corm were randomly collected in different regions of Ilam and Mehran in the Ilam province. Diseased samples were surface sterilized by dipping into domestic bleach solution (5% NaOCl). Then they were washed three times with sterile distilled water, dried with sterile filter paper and plated on potato dextrose agar (PDA). Samples were incubated for three days in an incubator at 20°C. A total of eight *Fusarium* isolates were obtained and purified using the single spore method. *Fusarium oxysporium* isolates were identified according to their morphological and microscopic characteristics as described by the identification key. The pathogenicity of *Fusarium oxysporium* isolates were artificially tested in the greenhouse on a wild susceptible cultivar according to Koch's principles.

Keywords: Saffron, Corm rot, *Fusarium oxysporium*

1- MSc of Plant Pathology, IlamUniversity, Ilam

2- Associate Professor of Mycology and Plant Pathology, IlamUniversity, Ilam

(*-Corresponding author Email: najari70@yahoo.com)

DOI: 10.22048/jsat.2017.59518.1185