

## انتشار، بیماریزایی و پایداری فوزاریوم‌های مولد پژمردگی و پوسیدگی ریشه نخود در استان فارس\*

Distribution, pathogenicity and survival of *Fusarium* spp. the causal agents of chickpea wilt and root rot in Fars province.

حمید محمدی و ضیاءالدین بنی‌هاشمی\*\*

بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

پذیرش ۱۳۸۴/۱۰/۱۴

دریافت ۱۳۸۳/۱۲/۵

### چکیده

در طول فصول زراعی ۱۳۸۰ و ۸۱ ضمن بازدید از مناطق کشت نخود در استان فارس، در مجموع ۱۵۴ جدایه فوزاریوم از ریشه، طوقه و ساقه نخود و ریشه علف‌های هرز مزارع نخود جمع‌آوری گردید. جدایه‌ها پس از شناسایی در ۶ گونه *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. equiseti*, *F. sambucinum* و *F. scirpi* به ترتیب با فراوانی ۴۵/۶۴، ۳۹/۶، ۶/۰۴، ۵/۳۷، ۲/۰۱ و ۱/۳۴ درصد قرار گرفتند. پنجاه و سه جدایه *F. solani* روی نخود و نخودفرنگی تولید پوسیدگی ریشه نموده ولی روی سایر حبوبات بیماری‌زا نبودند. سی‌وهشت جدایه *F. oxysporum* تولید زردی و پژمردگی در نخود

\*بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه شیراز

\*\* مسئول مکاتبه

نمودند. با توجه به اختصاصیت میزبانی عامل پوسیدگی ریشه نخود *F. solani* f. sp. *pisi* و عامل زردی و پژمردگی نخود *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* تشخیص داده شد. در این مطالعه ۹ جدایه *F. solani* f. sp. *pisi* و ۷ جدایه *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* از ریشه علف‌های هرز مزارع نخود جداسازی گردید. نتایج حاصل از مایه‌زنی مصنوعی ۵ نوع گیاه زراعی و ۵ نوع علف‌هرز با جدایه *F. solani* f. sp. *pisi* نشان داد که ریشه گیاهان سیروحشی، سلمه‌تره، تاج‌خروس و لوبیا به خوبی توسط این قارچ کلنیزه شده و ریشه این گیاهان پناهگاه مناسبی برای آن می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: پژمردگی، پوسیدگی ریشه، نخود، فارس

### مقدمه

در سال ۱۹۱۰ برای اولین بار یک بیماری پژمردگی در نخود از هند گزارش گردید. در سال ۱۹۲۳ این بیماری از برمه نیز گزارش شد. با وجود این محققان آن دوره قادر به اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های به دست آمده نبودند (Erwin 1958). پراساد و پدویک (Prasad & Padwick 1939) طی مطالعه‌ای، ۳۰۰ جدایه فوزاریوم را از نخود به دست آوردند و آنها را در سه گروه قرار دادند. گروه اول جدایه‌های غیر بیماری‌زا بودند، گروه دوم باعث پژمردگی و گروه سوم سبب پوسیدگی بذر نخود شدند که فوزاریوم‌های گروه دوم را *F. orthoceras* var. *ciceri* نامیدند.

اروین (Erwin 1958) جدایه‌هایی از فوزاریوم را از بوته‌های نخود پژمرده در کالیفرنیا جدا کرد و آن را *F. lateritium* نامگذاری کرد و آنها را به دو گروه تقسیم نمود *F. lateritium* f. sp. *crotalariae* (syn: *F. udum* var. *crotalariae*) که باعث پژمردگی آوندی کنف بنگالی یا *Crotalaria juncea* Sunn hemp و *F. lateritium* f. sp. *cajani* (syn: *F. udum* var. *cajani*) که باعث ایجاد پژمردگی آوندی دال‌عدس (*Cajanus cajan*) می‌شود. در یک آزمایش، فوزاریوم‌های جدا شده از نخود در هند با فوزاریوم‌های جدا شده از نخود در کالیفرنیا مقایسه شدند. هر دو جدایه از نظر مورفولوژی و بیماری‌زایی با هم شبیه بودند و به همین دلیل هر دو را تحت نام *F. lateritium* f. sp. *ciceri* معرفی نمودند.

ایچندی (Echandi 1970) جدایه‌هایی از فوزاریوم را از نخود در پرو جدا نمود و آنها را تحت نام *F. oxysporum* گزارش نمود و نشان داد که فوزاریوم‌های جدا شده از نخودهای با علائم پژمردگی همه *F. oxysporum* هستند و *F. lateritium* جداسازی نشد (Echandi 1970). در حال حاضر *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (*Foc*) به عنوان عامل زردی و پژمردگی در نخود از نقاط مختلف جهان مثل هند، ایتوبی، مصر، ترکیه، اسپانیا، سوریه، پاکستان، پرو، استرالیا، آمریکا، تونس و سایر کشورها گزارش شده است (Bhatti & Kraft 1992, Gupta et al. 1986, Haware & Nene 1996, Westerlund et al. 1974, Cother 1977, Demirei et al., 1998, Krishna & Krishnappa 1977, Sharma & Gupta 1983, Sharma et al. 1983). پوسیدگی سیاه ریشه نخود اولین بار در سال ۱۹۶۹ از ایالت واشنگتن و سپس از کالیفرنیا و هند گزارش شد و عامل آن *F. solani* معرفی گردید (Cother 1977, Sharma et al. 1983, Westerlund et al. 1974). وسترلاند و همکاران (Westerlund et al. 1974) جدایه‌هایی از *F. solani* را از نخود به دست آوردند که بر روی نخودفرنگی نیز بیماری‌زا بود و نشان دادند که عامل پوسیدگی سیاه ریشه در نخود در حقیقت همان فرم اختصاصی *F. solani* f. sp. *pisi* (Fsp) است که در نخود فرنگی پوسیدگی ریشه را ایجاد می‌کند

بیماری پژمردگی و بوته زردی نخود در ایران اولین بار در سال ۱۳۴۲ توسط منوچهری و مصری از خوی، شاپور، اهر، میاندوآب، کرج، گنبد، شیراز، اصفهان و کاشان گزارش شده است (منوچهری و مصری ۱۳۴۵). در آن زمان با فرستادن نمونه قارچ جدا شده از نخودهای آلوده به کالیفرنیا عامل بیماری *F. lateritium* f. sp. *ciceri* تشخیص داده شد. بنی‌هاشمی در سال ۱۳۶۵ موفق به جدا سازی چندین جدایه *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* از بافت آوندی ساقه نمونه‌های جمع‌آوری شده نخود که علائم پژمردگی داشتند از حومه فسا گردید ولی بیماری‌زایی آنها به اثبات نرسید. (بنی‌هاشمی، تماس شخصی).

در سال ۱۳۷۲ طی مطالعه‌ای در مزارع دیم نخود استان لرستان جدایه‌هایی از ریشه و طوقه گیاهان پژمرده نخود بدست آمد و پس از اثبات بیماری‌زایی، عامل آن *F. oxysporum* معرفی شد (نظری و ارشاد، ۱۳۷۲). در همین سال مطالعه‌ای در خصوص فعالیت قارچ‌های آنتاگونیست روی گونه *F. solani* (عامل پوسیدگی سیاه ریشه نخود) صورت گرفت (اخوت و کرم‌پور

## Archive of SID

۱۳۷۲) ولی در هر دو مطالعه اشاره‌ای به فرم اختصاصی این دو گونه نشده است. اکبری و همکاران (۱۳۷۹) مطالعه‌ای در خصوص برهمکنش نامتود و عامل زردی و پژمردگی نخود انجام دادند و در این بررسی *Foc* عامل بیماری معرفی شد. *افشاری/آزاد* (۱۳۷۷) جدایه‌های بدست آمده از بوته‌های بیمار نخود را *F. solani* و *F. oxysporum* گزارش کرد. در مطالعات اخیر گرچه عامل زردی و پژمردگی نخود و پوسیدگی آن ذکر شده است ولی در خصوص فرم اختصاصی این گونه‌ها کار بخصوصی انجام نشده است.

### روش بررسی

#### جمع‌آوری نمونه‌ها

نمونه‌برداری از مزارع نخود در سال‌های ۱۳۸۰ و ۸۱ از مناطق مختلف استان فارس شامل حومه شیراز، مرودشت، قیروکارزین، ممسنی، فسا، خفر، بوانات، نی‌ریز، استهبان، ظفرآباد، سپیدان، فیروزآباد، کوار، آباد و اقلید صورت گرفت. از هر مزرعه نخود ۱۰-۸ بوته که دارای علائم زردی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه بودند با بیلچه و به‌طور کامل از خاک خارج (طوری که ریشه‌ها آسیبی نبینند) و در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شد. در هر مزرعه به موازات نمونه‌برداری از گیاهان میزبان، از علف‌های هرز موجود نیز نمونه‌برداری بعمل آمد. ریشه این گیاهان به‌طور کامل از خاک خارج و به آزمایشگاه منتقل گردید.

#### جداسازی

برای جداسازی *F. oxysporum* از محیط‌کشت PDA اسیدی و محیط‌کشت اختصاصی *کومادا* (Komada 1975) استفاده شد. ابتدا اندام‌های گیاهی و به‌خصوص ریشه‌ها با آب معمولی شسته و از قسمت‌های مختلف ریشه، طوقه و ساقه قطعات ۵-۳ میلی‌متری تهیه گردید. قطعات به دست آمده در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۲-۱/۵ دقیقه سترون و سه مرتبه با آب مقطر شسته شدند. سپس با قرار دادن قطعات بر روی دستمال کاغذی خشک و در هر تشتک پتری ۵-۶ قطعه از آنها را قرار داده و در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند. برای جداسازی جدایه‌های *F. solani* از محیط کشت PDA اسیدی استفاده گردید مراحل جداسازی، مشابه با *F. oxysporum* بود با این تفاوت که از قسمت‌های ریشه و طوقه گیاهان بیمار که علائم

## Archive of SID

پوسیدگی سیاه داشتند جهت جداسازی استفاده شد. از این روش برای جداسازی سایر گونه‌های فوزاریوم که باعث پوسیدگی ریشه می‌شوند نیز استفاده گردید. برای به‌دست آوردن جدایه‌های *F. oxysporum* و *F. solani* از علف‌های هرز جمع‌آوری شده ابتدا ریشه این گیاهان با آب معمولی شسته سپس به قطعات ۳-۵ میلی‌لیتری بریده شدند و قطعات بریده شده، شسته شدند و بدون ضدعفونی روی محیط PDA کشت گردیدند. از هر گیاه حداقل ۵۰ قطعه کشت و در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند. برای خالص‌سازی قارچ‌ها از دو روش نوک ریشه و تک اسپور استفاده شد.

### تشخیص گونه‌های فوزاریوم

برای تشخیص گونه‌های فوزاریوم از محیط کشتهای برگ میخک-آگار (carnation leaf-piece agar) ساقه گندم-آگار (wheat stem agar) جهت تولید اسپورودوکوم و ماکروکنیدیومها استفاده شد. محیط کشت PDA اسیدی برای بررسی خصوصیات پرگنه‌ها و میکروکنیدیومها و از محیط کشت آب-آگار-کلرید پتاسیم برای بررسی زنجیره میکروکنیدیومها استفاده گردید. در امر تشخیص گونه‌ها از کلیدهای شناسایی نلسون و همکاران (Nelson et al. 1983) و برگس و همکاران (Burgess et al. 1994) استفاده شد.

### بیماری‌زایی

#### کشت گیاهان جهت مایه‌زنی

بذور نخود به مدت ۱۵-۱۲ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد گندزدایی و سه دفعه و هر دفعه به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر شسته شدند سپس به مدت یک شب در ظروف یکبار مصرف حاوی آب مقطر ریخته شد. پس از این مدت آب ظرفها خارج و پارچه مرطوبی روی بذور کشیده شد و ظرفها جهت جوانه‌زنی بذور در دمای ۲۵ °C قرار داده شدند. بعد از ۲-۳ روز بذور جوانه‌زده به سینی‌های حاوی ماسه سترون شده (جهت مایه‌زنی با *F. oxysporum*) منتقل و یا به طور مستقیم در گلدان (جهت مایه‌زنی با *F. solani* و سایر گونه‌ها) کشت گردیده و در گلخانه نگهداری شدند. برای کشت علف‌های هرز و گیاهان دیگر نیز به طریق مشابه عمل شد ولی مدت زمان گندزدایی ۳-۵ دقیقه در نظر گرفته شد

#### تهیه مایه قارچ

## Archive of SID

برای تولید مایه *F. oxysporum*، جدایه‌ها در لوله‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر PDA کشت و در دمای °C ۲۵ قرار داده شدند. پس از رشد اولیه هر جدایه، لوله‌ها به مدت ۸-۶ روز در تناوب نور-تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دمای اتاق قرار گرفتند و پس از رشد کامل برای مایه‌زنی آماده گردیدند. برای تهیه مایه سایر جدایه‌ها از روش وسترلاند و همکاران (Westerlund et al. 1974) یعنی آلوده کردن بذور گندم به قارچ، استفاده گردید. مایه *F. solani* به دو منظور تهیه گردید، جهت مایه‌زنی گیاهچه‌های نخود و گیاهان مورد استفاده در تعیین دامنه میزبانی. در این روش از فلاسک‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. در هر فلاسک مقداری بذر گندم ریخته شد به طوری که ۸-۵ سانتی‌متر آب روی بذور قرار گرفت. پس از یک شب آب‌ها خارج و درب هر کدام پنبه پوشانده شد. فلاسک‌ها سه دفعه (به صورت یک روز در میان) و هر دفعه به مدت ۰/۵ ساعت در اتوکلاو (دمای °C ۱۲۱ و فشار ۱ اتمسفر) استرون شدند. سپس در تشتک‌های پتری ۱۰ سانتی‌متری حاوی PDA از هر جدایه ۵-۴ بلوک میسلومی کشت و بر روی هر محیط مقداری بذر گندم استرون ریخته شد به طوری که کل سطح محیط با بذر پوشیده شود برای رشد قارچ و کلنیزه شدن بذور گندم تشتک‌های پتری کشت شده در دمای °C ۲۵ به مدت ۲۰-۱۴ روز نگهداری شد. جهت تهیه مایه *F. solani* برای مایه‌زنی گیاهان زراعی، علف‌های هرز و تعیین نقش این گیاهان در بقاء این گونه نیز از روش وسترلاند و همکاران (Westerlund et al. 1974) با کمی تغییر استفاده گردید. در این روش به جای بذور گندم از بذور ارزن بهره‌گیری شد و پس از استرون شدن بذور ۵-۴ بلوک میسلومی از قارچ به‌طور مستقیم به ارزن حاوی بذور ارزن اضافه گردید و تا کلنیزه شدن کامل بذور توسط قارچ در دمای °C ۲۵ به مدت ۲۰-۱۴ روز نگهداری گردید.

### مایه‌زنی گیاهان

برای مایه‌زنی گیاهچه‌های نخود با جدایه‌های *F. oxysporum* از گیاهانی به طول ۱۰-۸ سانتی‌متر استفاده شد. جهت تهیه سوسپانسیون اسپور در لوله‌هایی که برای تهیه مایه قارچ کشت شده بود ۱۵-۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و جهت جدا شدن کنیدیوم‌ها به خوبی تکان داده شد. شمارش اسپور با هماسیتومتر انجام شد. از غلظت  $1 \times 10^6$  اسپور در میلی‌لیتر برای

## Archive of SID

مایه‌زنی استفاده گردید (Banihashemi 1968). سپس گیاهچه‌ها با آرامی از ماسه خارج شدند به طوری که آسیبی به ریشه‌ها نرسد. با استفاده از روش فرو بردن ریشه‌ها به مدت ۱/۵ دقیقه در سوسپانسیون اسپور (root dip) در گلدان‌هایی که ۲ روز قبل آبیاری شده بودند نشاء شدند. ریشه گیاهچه‌های شاهد نیز به مدت ۱/۵ دقیقه در آب مقطر فرو برده و در گلدان کشت و در گلخانه در دمای °C ۲۵-۲۰ نگهداری شدند. بررسی‌های روزانه جهت مشاهده علائم پژمردگی و زردی به عمل آمد. برای مایه‌زنی گیاهان نخود با جدایه‌های *F. solani* و سایر گونه‌های تشخیص داده شده، ابتدا در هر گلدان ۵ عدد بذر نخود گندزدایی شده با هیپوکلریت سدیم کشت گردید. پس از رشد گیاهچه‌های نخود و یک روز قبل از مایه‌زنی گلدان‌ها آبیاری شدند تا عمل مایه‌زنی راحت‌تر انجام شود. برای مایه‌زنی، خاک اطراف هر بوته کنار زده شد و دور طوقه هر بوته پنج عدد بذر کلنیزه شده گندم با جدایه‌های ذکر شده قرار گرفت و مجدداً خاک‌های برداشته شده به کنار طوقه و روی بذور ریخته شد. گلدان‌های کشت شده در گلخانه و در دمای °C ۲۵-۲۰ نگهداری و هر روز جهت مشاهده علائم پژمردگی از گلخانه بازدید به عمل آمد. هر تیمار شامل سه تکرار و هر تکرار شامل ۵ گیاه بود. جهت بررسی دامنه میزبانی جدایه‌های *F. solani* بیماریزای روی نخود، ۴ جدایه آن که روی نخود بیماری‌زا بودند انتخاب و بر روی ۷ گیاه شامل لوبیا قرمز، لوبیا چشم بلبلی، عدس، ماش، نخودفرنگی، طالبی و نخود (شاهد) مایه‌زنی گردیدند. مایه‌زنی با روش وسترلاند و همکاران (Westerlund et al. 1974) انجام و برای هر تیمار سه تکرار و هر تکرار ۵ گیاه در نظر گرفته شد. گلدان‌ها پس از مایه‌زنی در گلخانه در دمای °C ۲۵-۲۰ نگهداری شد و روزانه بروز علائم روی گیاهان مشاهده شد. برای تعیین نقش علف‌های هرز و گیاهان زراعی غیر میزبان در بقاء جدایه‌های بیماری‌زای *F. solani* روی نخود، ۱۰ گیاه شامل ۵ گیاه زراعی گندم (*Triticum aestivum* L.)، ذرت (*Zea mays* L.) جو (*Hordeum vulgare* L.)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) و نخود (*Cicer arietinum*) و ۵ علف هرز تاج‌خروس (*Amaranthus retroflexus*)، سلمه‌تره (*Chenopodium album*)، گل‌رنج وحشی (*Carthamus oxyacantha*)، گل‌گندم (*Centourea depressa*) و سیرووحشی (*Allium seabriscapum*) انتخاب و به طور مصنوعی با یک جدایه از *F. solani* و به روش وسترلاند و همکاران (Westerland et al. 1972) با کمی تغییر مایه‌زنی شدند. برای مایه‌زنی این

گیاهان ابتدا بذور کلنیزه شده ارزن با نسبت ۱:۱ با ماسه سترون مخلوط شد. این مخلوط در مراحل بعد با نسبت ۲۰٪ با خاک بکر (جمع‌آوری شده از دانشکده دامپزشکی در باجگاه) مخلوط گردید و پس از ریختن در گلدان‌ها ده عدد بذر گندزدایی شده هر گیاه در آن کشت گردید و پس از ۵۰-۴۵ روز کلنیزه شدن ریشه‌ها توسط قارچ عامل بیماری مورد بررسی قرار گرفت.

### ارزیابی شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها

برای ارزیابی شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها از شاخص ۹ درجه‌ای پیشنهاد شده برای فوزاریوم‌های مولد پژمردگی و پوسیدگی ریشه در نخود استفاده شد (Bhatti & Kraft 1992a,b, c).

### نتیجه

#### جداسازی، شناسایی و تعیین پراکندگی جدایه‌ها

پرگنه‌های رشد کرده از بافت‌های گیاهی شامل ریشه علف‌های هرز مزارع نخود و ریشه، ساقه و طوقه گیاهان میزبان بر روی محیط PDA اسیدی و کومادا، جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفتند. مجموعاً ۱۵۴ جدایه فوزاریوم به دست آمد. از این تعداد ۵۹ جدایه *F. solani* (۴۸ جدایه از نخود و ۱۱ جدایه از علف‌های هرز)، ۶۸ جدایه *F. oxysporum* (۴۶ جدایه از نخود و ۲۲ جدایه از علف‌های هرز)، نه جدایه *F. equiseti*، هشت جدایه *F. proliferatum*، سه جدایه *F. sambucinum* و دو جدایه *F. scirpi* تشخیص داده شدند و ۵ جدایه نیز تشخیص داده نشد. جدایه‌های *F. solani* و *F. oxysporum* به ترتیب با ۴۵/۶۴ و ۳۹/۶۰ درصد بیشترین فراوانی را داشتند.

#### علائم بیماری و بیماری‌زایی

علائم بیماری در مزرعه به صورت زردی، پژمردگی و خشکیدگی بوته‌های نخود مشاهده گردید. گیاهان با پوسیدگی سیاه ریشه اغلب بوته‌هایی کاملاً خشک شده بودند و به آسانی از خاک خارج می‌شدند. با خارج کردن آنها از خاک علائم پوسیدگی سیاه روی ریشه و طوقه به خوبی مشاهده می‌شد و ریشه‌های فرعی نسبتاً از بین رفته بودند. گیاهانی که پژمردگی آوندی



## Archive of SID

داشتند اغلب دارای علائم زردی و پژمردگی بوده و به آسانی از خاک خارج نمی‌شدند. این گیاهان از سیستم ریشه‌ای خوبی برخوردار بوده و هیچ علائمی از پوسیدگی ریشه در آنها مشاهده نشد. علائم بیماری در گیاهان مایه‌زنی شده با جدایه‌های *F. solani* پس از ۲۵-۳۰ روز ظاهر گردید. علائم مشاهده شده در ابتدا به صورت زردی و پژمردگی برگچه‌های پایینی بوته‌ها ظاهر و سپس به قسمت‌های بالاتر گسترش یافت و در نهایت باعث خشکیدگی بوته‌ها گردید (شکل B و A-۱). علائم بیماری بر روی قسمت‌های زیرزمینی ریشه و طوقه‌ها به صورت پوسیدگی سیاه ریشه‌ها و کاهش تعداد ریشه‌های فرعی بود (شکل D و C-۱) که این جدایه‌ها به عنوان *F. solani* f. sp. *pisi* (*Fsp*) شناسایی شدند. علائم بیماری در گیاهان مایه‌زنی شده با جدایه‌های *F. sambusinum* نیز تقریباً مشابه با جدایه‌های *Fsp* بود ولی جدایه‌های *F. equiseti* در مقایسه با دو گونه ذکر شده علائم چندان مشخصی را نشان ندادند. با مایه‌زنی جدایه‌های *F. scirpi* و *F. proliferatum* روی نخود هیچ گونه علائمی از بیماری مشاهده نگردید. علائم بیماری در گیاهان مایه‌زنی شده با جدایه‌های *F. oxysporum* پس از ۳۰-۳۵ روز ظاهر گردید. علائم بر روی قسمت‌هایی هوایی گیاهان مشابه با علائم ایجاد شده توسط *Fsp* بود که ابتدا به صورت زردی و پژمردگی برگچه‌های پایینی ظاهر و سپس به قسمت‌های بالاتر گسترش یافت (شکل E-۱). ولی با خارج کردن ریشه‌ها از خاک هیچ‌گونه علائمی از پوسیدگی ریشه مشاهده نشد. در بعضی موارد با برش عرض و طولی ساقه تغییر رنگ آوندها دیده شد. چنین جدایه‌هایی به عنوان *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (*Foc*) تشخیص داده شد. پس از بیماری‌زایی کل جدایه‌ها، ۵۳ جدایه *F. solani* f. sp. *pisi* (جدول ۱) و ۳۸ جدایه *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (جدول ۲) از مناطق مختلف استان فارس شناسایی گردید. در تعیین دامنه میزبانی جدایه‌های *F. solani* f. sp. *pisi* هفت گیاه مایه‌زنی شده با چهار جدایه *Fsp* پس از ۴۵-۵۰ روز از نظر علائم بیماری مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که چهار جدایه *Fsp* تنها بر روی نخود و نخودفرنگی بیماری‌زا بودند و روی ۵ گیاه دیگر هیچ علائمی از بیماری مشاهده نشد. علائم بیماری روی نخود و نخودفرنگی شامل زردی و پژمردگی قسمت‌های هوایی و پوسیدگی ریشه بود (شکل F-۱). این آزمایش نشان داد که عامل پوسیدگی ریشه در نخود همان فرم اختصاصی *Fsp* است که روی نخودفرنگی ایجاد پوسیدگی

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های *Fusarium. solani* f. sp. *pisi* جدا شده از نخود و علف‌های هرز از مناطق مختلف استان فارس

Table 1. Characteristics of *Fusarium solani* f. sp. *pisi* isolates recovered from chickpea and weeds in different parts of Fars province

میزبان	کد	تعداد جدایه	محل
Host	Code	Number of isolates	Location
<i>Cicer arietinum</i> نخود	ES1-ES4	4	استهبان (ES)
		5	فسا (FA)
"	FA1-FA3	3	فسا (FA)
"	FA4	1	ششده (Sh)
"	FA5	1	قادرآباد (Gh)
"	ZA1-ZA3	3	ظفرآباد (ZA)
		4	سپیدان (SP)
"	SP1-SP2	2	سپیدان (SP)
"	SP3	1	دالین (Da)
"	SP4	1	عباس آباد (Aa)
"	KA1-KA3	3	کوار (KA)

"	FU1-FU3	3	فیروزآباد (FU)
"	KA1-KA3	3	کارزین (KR)
"		4	آباده (AB)
"	AB <sub>1</sub> -AB <sub>2</sub>	2	صغاد (So)
"	AB <sub>3</sub> -AB <sub>4</sub>	2	کوشکک (Ku)
"		4	اقلید (EG)
"	EG <sub>2</sub> -EG <sub>4</sub>	3	اقلید (EG)
"	EG <sub>1</sub>	1	آسپاس (As)
"	NI <sub>1</sub> -NI <sub>2</sub>	2	نی ریز (NI)
"	MA <sub>1</sub> -MA <sub>2</sub>	2	ممسنی (MA)
"	KA <sub>1</sub> -KA <sub>2</sub>	2	خفر (KH)
"	KA <sub>3</sub> -KA <sub>4</sub>	2	آبگرم (Ag)
"	BA <sub>1</sub> -BA <sub>3</sub>	3	بوانات (BA)
"	BA-al	2	بوانات (BA)

سیرو حشی

(*Allium seabriseapum*)

شیرین بیان	NI-gl	1	نی ریز (NI)
<i>(Glycyrrhiza glabra)</i>			
سلمه تره	AB-ch	1	آباده (AB)
<i>(Chenopodium album)</i>			
تاج خروس	AB-am	2	آباده (AB)
<i>(Amaranthus retroflexus)</i>			
کیسه کشیش	KA-ca	1	کوار (KV)
<i>(Capsella bursa- pastoris)</i>			
تاج خروس	1	MA-am	ممسنی (MA)
<i>(Amaranthus retroflexus)</i>			

ES=Estahban, FA=Fasa, Sh= Sheshdeh, Gaderabad, ZA=Zafarabad, SP= Sepidan, Da= Daline, Aa= Abbasabad, KV= Kavar, FU= Firouzabad, KR= Karzin, AB= Abadeh, Ku= Kushkak, So= Soghad, EG= Eghlid, As=Aspas, NI= Neyriz, MA= Mamasani, KH, Khafr Ag= Abgarm, BA= Bavanat

#### درجه بندی شدت بیماری زایی

گیاهان مایه زنی شده با جدایه های شناسایی شده، پس از ۵۰-۴۵ روز جهت ارزیابی شدت بیماری زایی مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی از شاخص ۹ درجه ای پیشنهاد شده برای پژمردگی و پوسیدگی ریشه استفاده و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد در گیاهان مایه نسی شده با جدایه های *F. sambusinum*, *Fusarium solani* f.sp. *pisi* و *F. equiseti* قسمت های درون خاک مورد بررسی قرار گرفت و جهت جلوگیری از صدمه رسیدن به ریشه ها، گلدان هایی که روز قبل آبیاری شده بودند به آرامی برگردانده شده و

## Archive of SID

ریشه‌ها و خاک اطراف آنها در آب قرار داده شدند و پس از جدا شدن خاک اطراف ریشه‌ها کار ارزیابی انجام شد. برای ارزیابی گیاهان مایه‌زنی شده با جدایه‌ای *Foc* بخش‌های هوایی گیاهان از نظر پژمردگی و زردی مورد بررسی قرار گرفت نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس شدت بیماری‌زایی جدایه‌های *Fsp* و *Foc* روی گیاهان مایه‌زنی شده نشان داد که جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی تفاوت معنی‌داری با هم دارند همچنین در مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده براساس آزمون دانکن (در سطح ۵ درصد) جدایه‌های *Fsp* در دو گروه آماری و جدایه‌های *Foc* در چهار گروه قرار گرفتند و دامنه پیوسته‌ای از تغییرات را نشان دادند. سه جدایه *F. sambucinum* به دست آمده از کوار شدت بیماری‌زایی بالایی (۷۸-۹۸ درصد) را نشان دادند ولی جدایه‌های *F. equiseti* بیماری‌زایی چندانی را روی نخود نشان ندادند (۲۳-۱۱ درصد).

جدول ۲- مشخصات جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* جدا شده از نخود و

علف‌های‌هرز از مناطق مختلف استان فارس

Table 2. Characteristics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* isolates recovered from chickpea and weeds in different parts of Fars province

میزبان	کد	تعداد جدایه	محل
Host	Code	Number of isolates	Location
نخود ( <i>Cicer arietinum</i> )	SHa	4	شیراز (SH)
"	"	1	شیراز (SH)
"	SHb-d	3	دهنو (Dh)
"	"	4	فسا (FA)
"	FAa	1	ششده (Sh)

"	FAb-d	3	فسا (FA)
"	KRa-b	2	کارزین (KR)
"		2	آباده (AB)
"	ABa-b	2	کوشکک (Ku)
"	KVa-c	3	کوار (KV)
"		3	خفر (KH)
"	KHa-b	2	خفر (KH)
"	KHc	1	آبگرم (Ag)
"	Spa-c	3	سپیدان (SP)
"		5	مرودشت (MR)
"	MRa	1	سددردزن (Dr)
"	MRb-e	4	مرودشت (MR)
"	MAa-b	2	ممسنی (MA)
"	EGa-c	3	اقلید (EG)
	BA-cr	1	یوانات (BA)
	گلرنگ حشی ( <i>Carthamus oxyacantha</i> )		

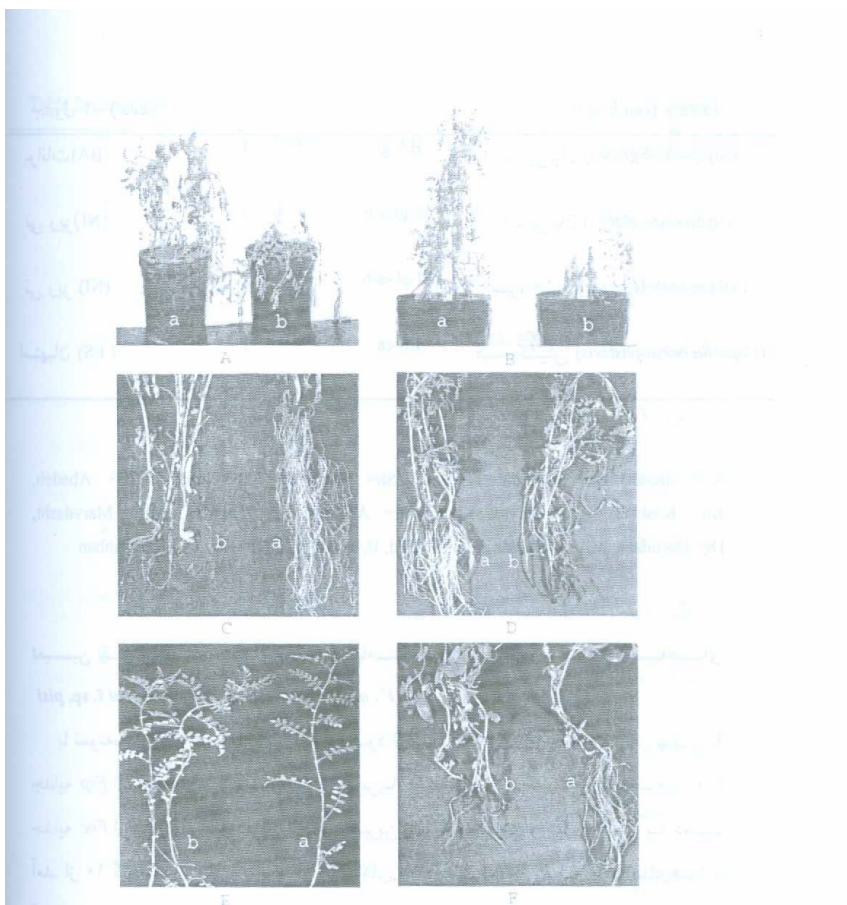
( <i>Glycyrrhiza glabra</i> ) شیرین بیان	BA-gl	1	بوانات (BA)
( <i>Glycyrrhiza glabra</i> ) شیرین بیان	NI-gl-a-b	2	نی ریز (NI)
( <i>Allium seariseapum</i> ) سیروحشی	NI-al -a-b	2	نی ریز (NI)
( <i>Capsella bursa-pastoris</i> ) کیسه کشیش	ES-ca	1	استهبان (ES)

SH= Shiraz, Dh= Dehnou, FA=Fasa, Sh= Sheshdeh, KR= Karzin, AB= Abadeh, Ku= Kushkak, KV= Kavar, Khafr Ag= Abgarm, SP= Sepidan, MR= Marvdasht, Dr= Dorudzan, MA= Mamasani, EG= Eghlid, BA= Bavanat, NI= Neyriz, ES=Estahban

### تعیین نقش علف‌های هرز و گیاهان غیرمیزبان در بقاء جدایه‌های

#### *F. oxysporum* f. sp. *cicer* و *F. solani* f. sp. *pisi*

با نمونه برداری از علف‌های هرز مزارع نخود (جدول ۳) از مناطق مختلف در نهایت ۹ جدایه *Fsp* از علف‌های هرز سیر وحشی، شیرین بیان، سلمه تره، کیسه کشیش و تاج خروس و ۷ جدایه *Foc* از علف‌های هرز گلرنگ وحشی، شیرین بیان، کیسه کشیش و سیروحشی به دست آمد. از ۱۰ گیاه مایه زنی شده با یکی از جدایه‌های *Fsp* جهت تعیین رابطه علف‌های هرز و گیاهان غیرمیزبان با بقاء این عامل نتایج نشان داد که بیشترین کلنیزه شدن ریشه در نخود دیده می شود و در مراحل بعدی به ترتیب سیروحشی، تاج خروس، سلمک و لوبیا قرار دارند بقیه گیاهان مورد آزمایش درصد بسیار کمی از کلنیزاسیون را نشان دادند و تفاوت چندانی با خاک شاهد نشان ندادند. در ضمن هیچ کدام از گیاهان مایه زنی شده علائمی از بیماری را نشان ندادند.



شکل ۱- علائم بیماری ناشی از *Fusarium solani* f.sp. *pisi* (A,B,C) و *Fusarium oxysporum* f, sp. *ciceri* (E) روی نخود. A: پژمردگی B: زردی و خشکیدگی C و D: پوسیدگی ریشه- E: زردی F: پوسیدگی ریشه نخودفرنگی در اثر *Fusarium solani* f.sp. *pisi* (a: شاهد- b: مایه زنی شده).

Fig. 1. Disease symptoms caused by *Fusarium solani* f.sp. *pisi* (A,B and C) and *Fusarium oxysporum* f, sp. *ciceri* (E) on chickpea. A= wilting B= yellowing and drying C and D= root rot E= yellowing F= pea root rot caused by *Fusarium solani* f.sp. *pisi* ( a=control b= inoculated).



جدول ۳- جداسازی جدایه‌های بیماریزا و غیر بیماریزای *Fusarium solani* و

*Fusarium oxysporum* روی نخود از علف‌های هرز مزارع نخود در استان فارس

Table 3. Pathogenic and non pathogenic isolates of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* on chickpea from weeds collected from chickpea fields in Fars province

<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	علف هرز Weeds
-	+	منداب ( <i>Eruca sativa</i> )
+	-	گل گندم ( <i>Centourea depressa</i> )
+**	+*	سیرو وحشی ( <i>Allium seabrescapum</i> )
+**	-	سلمه تره ( <i>Chenopodium album</i> )
-	-	خاکشیر گاوی ( <i>Erysimum vepandum</i> )
-	-	شیرسگ ( <i>Euphorbia</i> sp)
-	+	کوزه‌قلیانی ( <i>Silen conoidea</i> )
-	-	زبان در قفا ( <i>Delphinium grandiflorum</i> )
-	-	شیر تیغک ( <i>Sonchus asper</i> )
-	+	علف قناری ( <i>Phalaris canariensi s</i> )
-	+	بومادران ( <i>Achillea santolina</i> )
+**	-	تاج خروس ( <i>Amaranthus retroflexus</i> )
-	-	پیچک صحرايي ( <i>Convolvulus arvensis</i> )

-	-	خرغه ( <i>Portulaca oleracea</i> )
+**	+*	شیرین بیان ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> )
-	+	خارشتر ( <i>Alhagi persuarum</i> )
-	+*	گلرنگ وحشی ( <i>Carthamus oxycantha</i> )
+**	+*	کیسه کشیش ( <i>Capsella bursa-pastoris</i> )

\*: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*

\*\* : *Fusarium. solani* f. sp. *pisi*

### بحث

در این تحقیق در مجموع ۱۰۳ جدایه ( از ۱۵۴ جدایه) فوزاریوم بیماری‌زا از نمونه‌های جمع‌آوری شده نخود و علف‌های هرز مزارع آن در استان فارس به دست آمد. نتایج نشان داد *F. solani* و *F. oxysporum* نسبت به بقیه جدایه‌ها از فراوانی بیشتری برخوردار بوده و از بیشتر مناطق استان فارس، با توجه به متفاوت بودن آب و هوا، قابل جداسازی هستند. این دو گونه دارای پراکندگی نسبتاً یکسانی در سطح استان می‌باشند جدایه‌های *F. proliferatum* از مناطق آباده، شیراز و ظفرآباد به دست آمدند. سه جدایه *F. sambucinum* متعلق به کوار، دو جدایه *F. scirpi* از ظفرآباد و جدایه‌های *F. equiseti* نیز متعلق به ظفرآباد، سپیدان، فسا و کارزین بودند. *F. solani* و *F. oxysporum* از قارچ‌هایی هستند که در اغلب مناطق آب و هوایی فعالیت می‌کنند (Burgess et al. 1994). پس می‌توان انتظار داشت که در استان فارس با وجود آب و هوای متفاوت مناطق، هر دو گونه یافت شود. به طوری که هر دو گونه از آباده و اقلید که سردترین نقاط استان فارس هستند و از مناطق گرمسیری مانند قیر و کارزین جداسازی شدند. *Foc* و *Fsp* به عنوان دو بیمارگر عمده، به ترتیب در پوسیدگی ریشه و پژمردگی نخود نقش دارند که در این تحقیق مشخص شد که اهمیت *Fsp* نسبت به *Foc* بیشتر است.

خاک استان فارس به طور متوسط رسی بوده و pH بالایی درحد ۷/۵ تا ۸ دارد (خرمالی ۱۳۸۲) که این عامل می‌تواند در فراوانی پوسیدگی ریشه نسبت به پژمردگی آن مؤثر باشد. چنین خاک‌هایی برای فرم گونه‌های *F. oxysporum* برخلاف فرم گونه‌های *F. solani* حالت بازدارنده دارند (Alabouvette et al. 1979). و با بالا رفتن pH خاک پژمردگی فوزاریومی کاهش می‌یابد (Beckman 1987, Sugha et al. 1994). مطالعات نشان داده است که دمای خاک نیز در پژمردگی و پوسیدگی ریشه مؤثر می‌باشد به طوری که در دمای ۳۰ °C پوسیدگی ریشه نخود نسبت به پژمردگی آن از اهمیت بیشتری برخوردار است. بیشتر مناطق استان فارس دارای آب و هوای گرم و خشک می‌باشند پس می‌توان انتظار داشت که اولاً پوسیدگی ریشه نخود نسبت به پژمردگی آن مهمتر بوده ثانیاً تعداد جدایه‌های قابل حصول نسبت به مناطق با آب و هوای خنک و مرطوب کمتر باشد (Bhatti & Kraft 1992a). نتایج به دست آمده از شدت بیماری‌زایی (درصد پوسیدگی ریشه) جدایه‌های *Fsp* با استفاده از شاخص ۹ درجه‌ای پیشنهاد شده نشان داد که جدایه‌های *Fsp* از نظر شدت پوسیدگی ریشه روی نخود با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ( $P=0.05$ ) با هم اختلاف معنی‌داری دارند. در مقایسه میانگین جدایه‌های *Fsp*، جدایه‌ها در دو گروه آماری قرار می‌گیرند و دامنه پیوسته‌ای از تغییرات بین جدایه‌ها مشاهده می‌شود. جدایه‌های KV<sub>2</sub> (کوار) و KR<sub>2</sub> (کارزین) با شدت بیماری‌زایی ۱۰۰ درصد و جدایه MA-am-1 (ممسنی) با شدت بیماری‌زایی ۳۰/۳۷ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین شدت بیماری‌زایی را نشان دادند. در این تحقیق سه جدایه *F. sambucinum* به دست آمده از کوار شدت بیماری‌زایی بالایی را نشان دادند که با جدایه‌های *Fsp* قابل مقایسه می‌باشد (۷۸-۹۸ درصد) هرچند تاکنون گزارش از بیماری‌زایی آن روی نخود نشده است. جدایه‌های *F. equiseti* بیماری‌زایی کمی (۲۳-۱۱ درصد) را روی نخود نشان دادند که چندان قابل توجه نیست. کپور و همکاران (1991) گزارش دادند که *F. equiseti* یکی از گونه‌هایی است که معمولاً از نخودهای بیمار جدا می‌شود (Kapoor et al. 1991).

نتایج نشان می‌دهد که جدایه‌های یک منطقه از نظر شدت بیماری‌زایی در سطح ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری دارند. نتایج حاصل از شدت بیماری‌زایی (درصد زردی و پژمردگی) جدایه‌های *Foc* با استفاده از شاخص ۹ درجه‌ای پیشنهاد شده نشان داد که جدایه‌ها، از نظر

## Archive of SID

بیماری‌زایی با هم اختلاف معنی‌دار دارند در مقایسه میانگین شدت بیماری‌زایی، جدایه‌ها در چهار گروه آماری قرار گرفتند. جدایه ABb (آباده) با شدت بیماری‌زایی ۹۸/۵۲ درصد و جدایه NI-gl (نی‌ریز) با شدت بیماری‌زایی ۱۱/۸۵ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین شدت بیماری‌زایی را در بین جدایه‌ها نشان دادند.

کورل (1991) اعتقاد دارد که آزمون بیماری‌زایی و نتایج حاصل از آن تحت تاثیر ژنوتیپ بیمارگر- میزبان قرار دارد. در این بررسی گرچه جدایه‌های مختلف *F. solani* و *F. oxysporum* روی یک رقم مایه‌زنی شدند و نخود نیز رقمی خودگشن است ولی نمی‌توان آن را ۱۰۰ درصد خالص داشت و تفاوت‌های حاصل از شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها را تنها در نتیجه اختلاف ژنوتیپ جدایه‌ها قلمداد کرد. از طرفی شرایط محیطی و سن میزبان نیز در این رابطه نقش داشته و برهمکنش ژنوتیپ بیمارگر-میزبان را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

هر گونه تفاوت در ژنوتیپ یک رقم میزبان در بروز بیماری‌زایی مؤثر خواهد بود چرا که بیماری در حقیقت برهمکنش دو ژنوتیپ عامل بیماری و میزبان است. در این بررسی مشاهده شد که جدایه‌های *Fsp* و *Foc* از نظر بیماری‌زایی روی نخود با هم تفاوت معنی‌داری دارند. در *Fs* عامل اصلی تنوع ژنتیکی را می‌توان تفرق میوزی در طول تولیدمثل جنسی دانست. مطالعات نشان داده است که ژن‌های بیماری‌زایی در قارچ‌هایی که تولیدمثل جنسی دارند تحت تاثیر تفرق میوزی قرار می‌گیرد (Correll et al. 1986). شاید تفاوت بین جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی به‌طور عمده نتیجه تفاوت در وجود ژن‌های بیماری‌زای دریافتی باشد. در *Fo* که فاقد مرحله جنسی است تغییرات ژنوتیپی در طول سیکل پراجنسی صورت می‌گیرد. در این چرخه اولین مرحله هتروکاریون می‌باشد که از اهمیت زیادی برخوردار است (Glass & Kuldau 1992). پس تفاوت بین جدایه‌های *Fsp* و *Foc* از نظر شدت بیماری‌زایی را می‌توان به تفاوت ژنتیکی خود جدایه‌ها، تفاوت اندک بین ژنوتیپ میزبان و شرایط محیطی گلخانه نسبت داد.

نتایج در خصوص بررسی جدایه‌های *F. solani* مولد پوسیدگی ریشه در نخود نشان داد که این جدایه‌ها تنها بر روی نخود و نخودفرنگی بیماری‌زا می‌باشند. علائم مشاهده شده روی هر دو میزبان شامل پوسیدگی ریشه، کاهش تعداد ریشه‌های فرعی، زردی و پژمردگی قسمت‌های

## Archive of SID

هوایی و در نهایت خشکیدگی بوته‌ها بود. بررسی انجام شده نشان داد که عامل پوسیدگی سیاه ریشه در نخود همان فرم اختصاصی *Fsp* است که باعث پوسیدگی ریشه در نخودفرنگی می‌شود.

(Westerland *et al.* 1974, Trapero-Casas & Simenez-Diaz 1985, Bhatti & Kraft 1992a)

مطالعات نشان داده است جدایه‌های *Fsp* در دمای پایین‌تر از ۲۰ °C خاک روی عدس بیماری‌زا نیستند ولی در دمای ۲۵-۳۰ °C باعث پوسیدگی ریشه عدس می‌شوند (Lin & Cook 1977) معه‌ذا در بررسی حاضر هیچ علائمی از بیماری روی عدس و سایر گیاهان مایه‌زنی شده (به جز نخودفرنگی) مشاهده نشد.

در ایران تاکنون کار خاصی در تعیین فرم اختصاصی *Fs* مولد پوسیدگی ریشه نخود انجام نشده است و این تحقیق به عنوان یک کار جدید می‌باشد. به هر حال وجود میزبانان مشترک برای *Fsp* ایجاب می‌کند که در یک تناوب از کشت پشت سرهم نخود و نخودفرنگی اجتناب شود. در این تحقیق مشخص شد که *Fsp* و *Foc* قادر به کلنیزه کردن ریشه چندین علف‌هرز مزارع نخود در شرایط طبیعی می‌باشند. نه جدایه *Fsp* از علف‌های هرز شیرین‌بیان، سیروحشی، سلمه‌تره، کیسه‌کشیش و تاج‌خروس و ۷ جدایه *Foc* از گلرنگ‌وحشی، شیرین‌بیان، کیسه‌کشیش و سیروحشی به دست آمد. در این میان شیرین‌بیان به دلیل چند ساله بودن در بقاء *Fsp* و *Foc* از اهمیت بیشتری برخوردار است.

مطالعات نشان داده است که عدم جداسازی *F. oxysporum f. sp. melonis* از برخی علف‌های هرز مزارع طالبی، نامناسب بودن ترشحات ریشه برای این فرم اختصاصی و مناسب بودن ترشحات برای سایر میکروارگانیسم‌ها است (Banihashemi 1968). جداسازی *Fsp* و *Foc* از ریشه علف‌های هرز نامبرده نشان می‌دهد که ترشحات این نوع گیاهان برای فعالیت این فرم‌های اختصاصی مناسب بوده کلنیزه شدن ریشه علف‌های هرز توسط این دو فرم اختصاصی در بقاء و دوام آنها نقش زیادی دارد.

علاوه بر علف‌های هرز مزارع، گیاهان زراعی غیرمیزبان که در تناوب با محصول اصلی کشت می‌شوند نیز در بقاء عوامل بیمارگر نقش دارند. هاور و نن نشان دادند که گیاهانی مانند عدس، نخودفرنگی و دال‌عدس می‌توانند به عنوان حاملین *Foc* عمل کنند و در بقاء آن نقش داشته باشند (Haware & Nene 1982).

## Archive of SID

با مایه‌زنی مصنوعی *Fsp* روی ۱۰ نوع گیاه در شرایط گلخانه مشخص گردید که این فرم اختصاصی ریشه نخود، سیروحشی، تاج‌خروس، سلمک و لوییا را به ترتیب ۵۲، ۲۰، ۱۴، ۱۴ و ۱۲ درصد کلنیزه نمود در حالی که ریشه گندم، جو و ذرت از این نظر چندان قابل توجه نبودند.

### منابع

جهت ملاحظه به صفحات (263-266) متن انگلیسی مراجعه شود.

---

آدرس نگارندگان: حمید محمدی و دکتر ضیاء‌الدین بنی‌هاشمی، بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز