

شناسایی گونه‌های فوزاریوم همراه با ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان

زهرا لرکی^{*}، رضا فرخی نژاد^۲

^۱کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، آستانه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز.

چکیده

قارچ فوزاریوم یکی از مهمترین عوامل پوسیدگی ریشه و طوقة کلزا از نقاط مختلف جهان است. هدف از این پژوهش مطالعه گونه‌های فوزاریوم همراه با ریشه و طوقة کلزا در استان خوزستان و بررسی بیماری‌زایی گونه‌های غالب در سطح منطقه بود. پس از جداسازی و خالص سازی نمونه‌ها به منظور شناسایی جدایه‌ها از محیط‌های کشت اختصاصی استفاده شد. به منظور اثبات بیماری زایی، آزمون‌هایی با استفاده از کشت گلدانی و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در این پژوهش در مجموع ۷۳ جدایه فوزاریوم جداسازی گردید. بیشترین فراوانی مربوط به جدایه‌های فوزاریوم سولانی (۲۳ مورد) و کمترین آن مربوط به جدایه‌های فوزاریوم اکسی اسپوروم (۲ مورد) و فوزاریوم ورتیسیلوئیدس (۲ مورد) بودند. در این مطالعه ۳ گونه فوزاریوم نیگامایی، فوزاریوم ورتیسیلوئیدس و فوزاریوم کلامیدوسبیوروم برای اولین بار در ایران از گیاه کلزا جداسازی شدند. آزمون بیماری زایی برای دو گونه فوزاریوم سولانی و فوزاریوم اکوئیستی که فراوانی بیشتری داشتند نشان داد که جدایه‌های فوزاریوم سولانی نسبت به فوزاریوم اکوئیستی شدت بیماری‌زایی بیشتری دارند. با توجه به یافته‌های این پژوهش و آشکار شدن آلودگی زیاد ریشه و طوقة کلزا به گونه‌های فوزاریوم پیشنهاد می‌گردد که تحقیقات بعدی در زمینه تعیین میزان خسارت و کنترل بیماری‌های ناشی از قارچ فوزاریوم در مزارع کلزا صورت پذیرد.

واژگان کلیدی: فوزاریوم، ریشه، کلزا، بیماری زایی.

دریافت مقاله: فروردین ماه ۹۳ **پذیرش برای چاپ:** مرداد ماه ۹۳

مقدمه

ستی (F. equiseti)، فوزاریوم سمی تکتوم (F. semitectum) و فوزاریوم سمی تکتوم (F. equiseti)، فوزاریوم آکیومیناتوم (F. acuminatum) و فوزاریوم اکسی اسپوروم آکیومیناتوم (F. acuminatum) و فوزاریوم اکسی اسپوروم را جداسازی و بیماری‌زایی آنها به اثبات رسیده است (۱). همچنین در آرژانتین سه گونه فوزاریوم اکوئیستی، فوزاریوم سمی تکتوم و فوزاریوم سولانی شناسایی و بیماری‌زایی آنها بر روی کلزا مشخص شده است (۲).

در ایران تاکنون مطالعات اندکی بر روی گونه‌های فوزاریوم همراه با ریشه و طوقة کلزا انجام شده است. در سال ۱۳۸۶ فوزاریوم سولانی و فوزاریوم اکسی اسپوروم در استان‌های کردستان، تهران و فارس مورد شناسایی قرار گرفتند (۳). همچنین در سال ۱۳۸۸ گونه‌های فوزاریوم سولانی، فوزاریوم

یکی از عوامل مهم پوسیدگی ریشه و طوقة کلزا قارچ فوزاریوم می‌باشد (۱). در سال ۱۹۹۶ از ایالت ساسکاچوان به ترتیب گونه‌های فوزاریوم روزئوم (F. roseum) و فوزاریوم آوناسئوم (F. avenaceum) (۱) و در سال ۲۰۰۰ از ایالت آبرتا کانادا گونه‌های فوزاریوم اکسی اسپوروم (F. oxysporum) و فوزاریوم آوناسئوم به عنوان عامل پژمردگی ریشه و طوقة کلزا شناسایی شدند (۲). در جنوب شرقی استرالیا تا کنون از ریشه و طوقة کلزا گونه‌های فوزاریوم سولانی (F. solani)، فوزاریوم نیوالیس (F. nivalis) پس از ریشه و طوقة کلزا شناسایی شدند (۳).

* آدرس برای مکاتبه: اهواز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز.
تلفن: ۰۹۱۰۶۰۰۵۲۹ پست الکترونیک: zahra.larki1356@gmail.com

طوقه و ریشه آلوده با آب روان، از حد فاصل بخش سالم و بیمار قطعات کوچکی جدا و به وسیله هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۱ تا ۳ دقیقه ضد عفونی سطحی انجام شد. سپس نمونه‌ها دو بار با آب مقطر سترون شسته و خشک گردیدند. قطعات یاد شده در تستک‌های حاوی Nash-Snyder و سبب زمینی دکستروز آکار (PDA) قرار گرفتند. تستک‌ها در دمای اتاق نگهداری شدند. محیط کشت‌ها از دومین روز کشت مورد بررسی قرار گرفتند (۶). همچنین خالص سازی جدایه‌ها به روش تک اسپور روی محیط کشت آب-آکار (WA) انجام گرفت (۶).

ج) شناسایی جدایه‌ها: شناسایی جدایه‌های جنس فوژاریوم روی محیط‌های غذایی PDA و برگ میخک-آکار (CLA) با در نظر گرفتن خصوصیات مورفولوژیک صورت گرفت (۷ و ۸).

د) بررسی بیماری زایی جدایه‌ها: به منظور اثبات بیماری زایی، آزمون‌هایی با استفاده از کشت گلداری و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. در این بررسی ۲۰ نماینده از جدایه‌هایی که فراوانی بیشتری داشتند، انتخاب و مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه از روش مایه زنی گیاهچه‌ها به روش سینگلتون (۶) و استفاده از مایه تلقیح گندم به روش استنه و همکاران استفاده شد (۹).

یافته‌ها

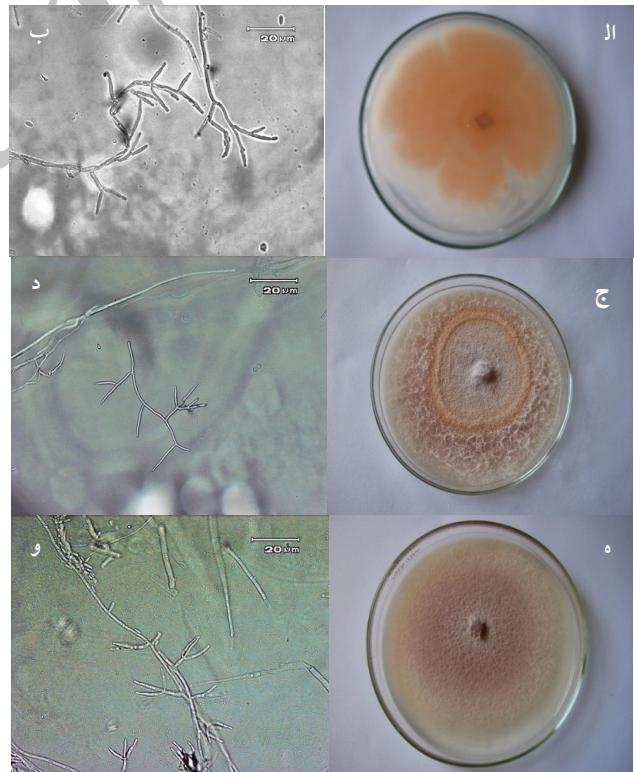
جدایه‌های فوژاریوم بر اساس کلید شناسایی نلسون در ۸ گونه طبقه‌بندی شدند. در این پژوهش در مجموع ۷۳ جدایه فوژاریوم جداسازی گردید. بیشترین فراوانی مربوط به جدایه‌های فوژاریوم سولانی (۲۳ مورد) و فوژاریوم اکوئیستی (۲۱ مورد) بود. به دنبال آن جدایه‌های فوژاریوم هترواسپوروم (F. heterosporum) (۹ مورد)، فوژاریوم نیگاماپی (F. heterosporum) (۷ مورد)، فوژاریوم کلامیدوسپوروم (F. nygamai) (۶ مورد)، فوژاریوم کلامیدوسپوروم (F. chlamydosporum) (۳ مورد)، فوژاریوم اکسی اسپوروم (۲ مورد) و فوژاریوم ورتیسیلولئیدس (F. verticilliodes) (۲ مورد) قرار داشتند. در این مطالعه ۳ گونه فوژاریوم نیگاماپی، فوژاریوم ورتیسیلولئیدس

آوناسئوم و فوژاریوم سمی تکثوم از مرودشت فارس گزارش شدند (۵). با توجه به افزایش تدریجی سطح زیر کشت این محصول در استان خوزستان، هدف از این مطالعه شناسایی گونه‌های مختلف فوژاریوم به عنوان یکی از عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان و بررسی بیماریزایی گونه‌های غالب در سطح منطقه بود.

مواد و روش‌ها

(الف) جمع آوری نمونه‌ها: در این مطالعه مقطعی از مزارع عمده کشت کلزا در مناطق مختلف استان خوزستان و از گیاهان با عالیم پوسیدگی ریشه و طوقه و نیز مرگ گیاهچه از مراحل مختلف رشدی گیاه نمونه برداری شد.

(ب) جداسازی و خالص سازی نمونه‌ها: پس از شستشوی



شکل ۱: (الف) سطح بالایی پرگنه یک جدایه از فوژاریوم کلامیدوسپوروم، (ب) منوفیالید و پلی فیالید فوژاریوم کلامیدوسپوروم، (ج) سطح بالایی پرگنه یک جدایه از فوژاریوم ورتیسیلولئیدس، (د) منوفیالید فوژاریوم ورتیسیلولئیدس، (ه) سطح بالایی پرگنه یک جدایه از فوژاریوم نیگاماپی، (و) منوفیالید و پلی فیالید فوژاریوم نیگاماپی.

جدول ۱: واکنش ریشه کلزا نسبت به فوزاریوم سولانی و فوزاریوم اکوئی سنتی.

سویه قارچی	فوزاریوم سولانی	فوزاریوم اکوئی سنتی		
میزان نفوذ پوسیدگی (میلی متر)	توانایی ایجاد شانکر	میزان نفوذ پوسیدگی (میلی متر)	توانایی ریشه پس از ۱۰ روز	واکنش ریشه پس از ۲۰ روز
+ ۷/۵	- ۶/۷	+ ۵/۷	- ۴/۵	+
به جزء سه جدایه				

فوزاریوم ورتیسیلیوئیدس از کلزا در جهان جدید می‌باشد. بیشترین فراوانی مربوط به جدایه‌های فوزاریوم سولانی (۲۳ مورد) و فوزاریوم اکوئی سنتی (۲۱ مورد) بود. به دنبال آن جدایه‌های فوزاریوم هترواسپوروم (*F. heterosporum*) (۹ مورد)، فوزاریوم نیگامایی (*F. nygamai*) (۷ مورد)، فوزاریوم کلامیدوسپوروم (*F. chlamydosporum*) (۶ مورد)، فوزاریوم سولانی تکتوم (۳ مورد)، فوزاریوم اکسی اسپوروم (۲ مورد) و فوزاریوم ورتیسیلیوئیدس (*F. verticilliodes*) (۲ مورد) قرار داشتند.

لی (Li) و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی ریشه و طوفه کلزا از جنوب شرقی استرالیا موفق به جداسازی گونه‌های فوزاریوم سولانی، فوزاریوم اکوئی سنتی، فوزاریوم نیوالیس، فوزاریوم اکیومیناتوم، فوزاریوم اکسی اسپوروم و فوزاریوم سولانی تکتوم شدند. همچنین بیماریزایی این گونه‌ها نیز به اثبات رسید (۱۰). مادیا (Madia) و همکاران نیز گونه‌های مختلفی را به عنوان عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوفه و مرگ گیاهچه در کلزا معرفی کردند. از این میان می‌توان به فوزاریوم سولانی، فوزاریوم اکوئی سنتی و فوزاریوم سولانی تکتوم اشاره نمود (۱).

نتیجه کلی

یافته‌های این مطالعه نشان داد که با وجود تنوع زیاد گونه‌های فوزاریوم جدا شده از کلزا در سطح استان گونه‌های فوزاریوم سولانی، فوزاریوم اکوئی سنتی نسبت به سایر گونه‌های فراوانی بیشتری داشتند. همچنین از میان این دو گونه فوزاریوم سولانی توانایی بیشتری در ایجاد پوسیدگی ریشه و طوفه و مرگ گیاهچه‌ها داشت. به نظر می‌رسد یکی از دلایل مهم این امر عدم آبیاری صحیح و اعمال تنفس‌های رطوبتی در مراحل حساس رشدی گیاه است. به طوری که منجر به توسعه

و فوزاریوم کلامیدوسپوروم برای اولین بار در ایران از گیاه کلزا جداسازی شدند (شکل ۱). آزمون بیماری زایی برای دو گونه فوزاریوم سولانی و فوزاریوم اکوئی سنتی که فراوانی بیشتری داشتند انجام شد. نتایج نشان داد که جدایه‌های مورد استفاده در این آزمون قادر به ایجاد آلدگی در گیاهچه‌های کلزا بودند. به طوری که جدایه‌های فوزاریوم سولانی نسبت به فوزاریوم اکوئی سنتی شدت بیماریزایی بیشتری داشتند (جدول ۱).

بحث

بیماری پوسیدگی ریشه و طوفه یکی از مهم ترین بیماری‌های کلزا می‌باشد. به گونه‌ای که می‌توان از آن به عنوان یک عامل محدود کننده کشت کلزا نام برد (۲). این مساله به ویژه در مزارعی که این گیاهان به طور پی در پی و هر ساله کشت می‌شودند بیشتر آشکار می‌باشد.

در مطالعه حاضر از میان گونه‌های شناسایی شده فوزاریوم سولانی، فوزاریوم اکوئی سنتی، فوزاریوم هترواسپوروم و فوزاریوم سولانی تکتوم قبل از گیاه کلزا جداسازی شده بودند. افشاری آزاد (Afshariazad) و همکاران در سال ۲۰۰۲ موفق به جداسازی گونه‌های فوزاریوم سولانی، فوزاریوم اکوئی سنتی و فوزاریوم هترواسپوروم از استان‌های کردستان، تهران و فارس شدند (۴). همچنین حیدری (Heidari) و همکاران از مرودشت فارس گونه‌های فوزاریوم سولانی تکتوم، فوزاریوم آوناسئوم و فوزاریوم اسپوروتیریکیویدس (*F. sporotrichioides*) را جداسازی نمودند (۵).

در این پژوهش ۳ گونه فوزاریوم نیگامایی، فوزاریوم ورتیسیلیوئیدس و فوزاریوم کلامیدوسپوروم برای اولین بار در ایران از گیاه کلزا جداسازی شدند. همچنین گزارش جداسازی

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان این مقاله از دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

عامل بیماری زا و ایجاد خسارت در کلزا می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد با تنظیم دور آبیاری در مزارع بتوان باعث کاهش جمعیت بیمارگر و در نتیجه کاهش چشمگیر بیماری شد.

References

1. Madia M ,Gaetan S, Zucotti YS. Podredumbre radial de la colza (canola) causada por especies del genero *Fusarium* spp. Bol San Veg. 1997; 23:11-15.
2. Lang R, McLaren DN. New *Fusarium* wilt of canola in Alberta.1th Cana. Phytopathol. Soci AGM. 2000; 3: 72-83.
3. Khangura R , Barbetti MJ. Management of fungal diseases of canola for sustainable rotations in Western Australia. Western Australian Oilseed Update Meeting for Advisers and Consultants, Feb 1996; 28-30.
4. Afshari Azad H. Identification of fungi causal agents on Canola in different region of Iran and determination of their importance. Plant Protect J. 2002; 3: 53-58. [In Persian]
5. Heydari S, Raoufi F, Najafi pour G. Identification the etiology of root and foot rots causal agents of *Brassica napus* in Marvdasht. J Micro World. 2010; 2(4): 261-269. [In Persian]
6. Singelton LL, Mihail JD, Rush CM. Methods for research on soil born phytopathogenic fungi. APS Press.1992; 2: 265.
7. Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University, University Park and London. 1983; pp: 193.
8. Booth C. The genus *Fusarium*. Common wealth mycological institute. Kew Surrey. 1971; 273.
9. Sneh B, Burpee LL, Ogoshi A. Identification of *Rhizoctonia* species. Am Phytopathological Soc Press,1991; 133.
10. Li M, Murray GM, Ash GJ. New root disease of canola in Australia. Aust Plant Dis. 2007; 2: 93-94.

Identification of the *Fusarium* species associated with canola crown and root rot in Khuzestan Province

Zahra Larki¹, Reza Farokhinejad²

¹M.Sc., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.

²Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.

Abstract

Fusarium sp. is one of the most important agents that infect the root and crown of canola in worldwide. The aim this survey was to identify *Fusarium* species associated with crown and root of canola grown in Khuzestan province and pathogenicity of dominant species in this area. Following isolation and purification of the samples, specific media were used to identify the isolates. The isolates were used for infection of the trees in an accidental manner. In this study, a total of 73 isolates of *Fusarium* were isolated. *F. solani*, with 23 isolates was the most dominant fungi in these samples while *F. oxysporum* and *F. verticillioides* showed the lowest number of isolates. In this study, *F. nigamai*, *F. verticillioides* and *F. claviger* were isolated for first time from crown trees grown in Iran. The pathogenesis tests showed that *F. solani* and *F. equiseti* showed the highest pathogenesis. Based on the severe infection in the roots in these samples, it is recommended to investigate the volume of damages and appropriate strategies for control of pathogenesis of *Fusarium* in farms.

Keywords: *Fusarium*, Root, Canola, Virulence.

Correspondence to: Zahra Larki

Tel: +989106005529

E-mail: zahra.larki1356@gmail.com

Journal of Microbial World 2015, 8(2): 168-172.