فصلنامه گیاه‌پزشکی
۱۶۰-۱۴۷ : (۲) ۳ - ۱۳۹۰

جداسازی و شناسایی قارچ‌های بیمارگر موز در استان سیستان و بلوچستان

مجید امانی *
مؤسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور

چکیده

به منظور شناسایی قارچ‌های بیمارگر ریشه، طوقه، ساقه کاذب، برگ و میوهٔ موز در سال‌های ۸۶-۱۳۸۴ از موزکاری‌های مناطق مختلف چابهار و کنارک در استان سیستان و بلوچستان نمونه برداری انجام گرفت. پس از مشاهده علائم ظاهری بیماری، نسبت به کشت، جداسازی و شناسایی آنها اقدام گردید. برای جداسازی عوامل بیماری‌زای قارچی تعدادی از قطعات آلوده برگ، ریزوم، ساقه کاذب، طوقه، ریشه و میوه پس از شستشو و ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۵٪ روی محیط کشت سیب‌زمینی ـ دکستروز ـ آگار (PDA) حاوی اسید لاکتیک کشت داده شد. جدایه‌های به دست آمده به روش نوک ریسه (Hyphal tip) و تک اسپور (Single spore) کردن بر روی محیط کشت آب- آگار (WA) ۲٪ خالص شدند. بر اساس خصوصیات ریخت شناسی و آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های *Fuasarium moniliforme, Fuasarium verticillioides, Acremonium* sp., *Fuasarium subglutinans, Fuasarium sambucinum, Fuasarium semitectum, Aspergillus carnenus, Colletotrichum musae,* و *Musicillium theobromae* به عنوان عوامل بیماری‌زای میوهٔ موز، قارچ‌های *Cylidrocarpon* sp. و *Rhizoctonia solani* عوامل بیماری‌زای پوسیدگی ریزوم و ریشه موز و قارچ‌های *Drechslera gigantean, Alternaria alternata* و *Fuasarium proliferatum* به عنوان عوامل بیماری‌زای برگ در سطح استان شناسایی و معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: قارچ‌های بیماریزا، موز، سیستان و بلوچستان

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی : majidamani2008@yahoo.com
تاریخ دریافت : ۹۰/۶/۲۲ ، تاریخ پذیرش : ۹۲/۲/۲۴

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

درخت موز (*Musa acuminata* L.) متعلق به راسته Zingiberales، و خانواده Musaceae، می‌باشد که به عنوان یکی از مهم‌ترین درختان میوه در مناطق گرم و مرطوب در۱۲۰ کشور جهان کشت و کار می‌شود. از نظر خوراکی، دو نوع موز Plantain و Banana وجود دارد (Amani, 2002). استان سیستان و بلوچستان با حدود ۴۰۷۸ هکتار و عملکرد حدود ۳۰ تن در هکتار یکی از استان‌های عمده موزکاری کشور محسوب می شود (FAO 2007). موز دارای بیماری‌های مختلفی است، به طوری که تا کنون بیش از ۶۰ نوع بیماری با عوامل بیماری‌زای قارچی، باکتریایی، ویروسی و نماتودی به ترتیب با فراوانی ۳۹، ۸ ، ۶ و ۷ از موز در جهان گزارش شده است (Jones, 2000).

بیماری‌هایی مانند پژمردگی آوندی(Panama disease)، لکه برگی سیگاتوکا (Sigatoka leaf spot)، سپتوریوز (Septoria leaf spot) و کوردانا (Cordana leaf spot)، آنتراکنوز میوه (Anthracnose)، پوسیدگی ته سیگاری(Cigar end rot)، پوسیدگی نوک سیاهی (Tip end rot)، لکه قهوه‌ای (Brown spot)، لکه الماسی (Diamond spot)، بیماری آبله‌ای (Pitting disease) و پوسیدگی ریشه (Root rot) از مناطق مختلف موزکاری در جهان گزارش شده است(Stover 1972; Wardlaw 1972; Ploetz *et al.*, 1994; Jones 2000; Sing 2000). در ایران بیماری‌های پژمردگی آوندی، آنتراکنوز میوه، پوسیدگی ته سیگاری، لکه برگی آلترناریایی، لکه قهوه‌ای و پوسیدگی ریشه از موزکاری‌های جنوب کشور گزارش شده است (Amani, 2008 ؛Amani *et al.*, 2006).

دسته‌ای از قارچ‌های بیمارگر که روی موز سبب خسارت قابل توجهی می‌شوند، آن‌هایی هستند که ریزوم، ساقه کاذب، برگ و میوه موز را مورد حمله قرار می‌دهند. بیماری‌های پوسیدگی میوه، نوک سیاهی، لکه برگی، لکه چشمی، پوسیدگی ریزوم و ریشه ناشی از گونه‌های *Fuasarium verticillioides, F. subglutinans, F. semitectum, F. proliferatum, Drechslera gigantean, sambucinum, Rhizoctonia solani,* و *Rhizoctonia solani, Cylidrocarpon* sp., به عنوان عوامل بیماری‌زای ریشه، میوه و برگ موز معرفی شده‌اند(Stover 1972; Ploetz *et al*., 1994; Jones 2000; Sing 2000). در ایران تا کنون از وجود این بیماری‌ها گزارشی ارایه نشده است و هدف از انجام این بررسی جداسازی و تشخیص عوامل قارچی ریزوم، ریشه، برگ و میوه موز در مناطق مختلف موزکاری استان سیستان و بلوچستان بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

۱- نمونه برداری

در سال‌های ۸۹-۱۳۸۶ در طول فصول مختلف و تمام مراحل مختلف رشد گیاه، طی بازدیدهای متعدد از باغات موز نقاط مختلف ایرانشهر، کنارک و چابهار درختان با علائم مشکوک به بیماری پوسیدگی، پژمردگی، بدشکلی میوه و لکه برگی، پوسیدگی ریزوم و ریشه، مورد بازدید و بررسی قرار گرفت. نمونه‌های دارای علائم ظاهری پژمردگی، زردی، نکروز و پوسیدگی برگ، آنتراکنوز، آبله‌ای، پوسیدگی ته سیگاری و پوسیدگی سیاهی میوه تهیه گردید و به آزمایشگاه آفات و بیماری‌های گیاهی ایستگاه چابهار منتقل شدند (جدول ۱).

۲- جداسازی و شناسایی عوامل قارچی از بافت های آلوده

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه برای جداسازی عوامل با جداکردن قطعاتی از حد فاصل بافت آلوده و سالم و سپس ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم (وایتکس تجارتی ۵٪) به مدت ۲-۱ دقیقه و پس از چند بار شستشو در آب مقطر سترون، بر روی محیط کشت سیب-زمینی-دکستروز-آگار (PDA)کشت داده شدند(Nelson *et al.*, 1983). برای جداسازی عوامل قارچی از اندام‌های هوایی، ابتدا قسمت برگ و میوه را به خوبی با آب شسته و قطعاتی از حد فاصل بافت آلوده و سالم را جدا و پس از ضدعفونی سطحی و چند بار شستشو در آب مقطر سترون با دستمال کاغذی خشک نموده مطابق روش Nelson *et al.*, 1983 روی محیط کشت PDA کشت گردید. همچنین به منظور جداسازی عوامل قارچی از اندام‌های زیر زمینی، ابتدا قسمت ریشه و ریزوم را به خوبی با آب شسته و قطعاتی از حد فاصل بافت آلوده و سالم را جدا و پس از ضدعفونی سطحی و چند بار شستشو در آب مقطر سترون با دستمال کاغذی خشک نموده مطابق روش Nelson *et al.*, 1983 روی محیط کشت PDA کشت گردید. خالص سازی ایزوله‌ها به روش تک اسپور (Single spore) و یا نوک ریسه (Hyphal tip) بر روی محیط کشت آب آگار (WA) صورت گرفت(Nelson *et al.*, 1983; Booth, 1977). سپس روی محیط‌های کشت PDA و CMA کشت داده شدند. کلیه تشتک‌های پتری کشت داده شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای شناسایی گونه‌های فوزاریوم علاوه بر محیط کشت PDA از محیط کشت‌های PSA، آب- آگار همراه با قطعات یونجه و گندم، آب- آگار حاوی کلرید پتاسیم ۲درصد و آب- آگار حاوی برگ میخک سترون استفاده گردید(Nelson *et al.*, 1983). شناسایی جدایه‌های *Cylidrocarpon* sp. روی محیط‌های کشت PDA و CLA (برگ میخک-آگار) با در نظر گرفتن خصوصیات مرفولوژیک صورت گرفت (Booth, 1966) و مرفولوژی پرگنه، میزان و نحوه رشد پرگنه و رنگ آن روی محیط PDA، تولید یا عدم تولید کلامیدوسپور، اندازه و شکل ماکرو و میکروکنیدیوم روی محیط CLA بررسی شد (Booth, 1966).

Archive of SID

www.SID.ir

جدایه‌های به دست آمده با استفاده از کلیدهای شناسایی (Barnet *et al*., 1998; Nelson *et al*., 1983; Sneh *et al*., 1991) در حد جنس شناسایی و سپس جهت تعیین گونه به موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ارسال شدند.

جدول ۱- محل جمع‌آوری و علائم بیماری ایزوله‌های قارچی جدا شده از بوته‌های بیمار موز در استان سیستان و بلوچستان

Table 2. Geographical origin and Symptoms of fungal isolates recovered from diseased banana plants in Sistan and Bluchestan province

(Host)	(Symptoms on Host)	(Infected Tissue)	(Fungal Species)	(Location)	(Isolate code)
Wallery	Necrosis & rot	Root	*Fusarium oxysporum*	Eslam Abad	1
Robusta	Leaf spot	Leaf	*Alternaria alternata*	Eslam Abad	2
Robusta	Leaf spot	Leaf	*A. alternaria*	Zar Abad	4
Robusta	Cigar-end rot	Fruit	*Musicillium theobromae*	Eslam Abad	5
Robusta	Anthracnose	Fruit	*F. subglutinans*	Eslam Abad	7
Robusta	Leaf spot	Leaf	*Cercospora musae*	Zar Abad	9
Robusta	Anthracnose	Fruit	*Colletotrichum musae*	Pollan	10
Robusta	Anthracnose	Fruit	*F. subglutinans*	Pollan	13
Robusta	Tip-end rot	Fruit	*F. verticillioides*	Pollan	14
Robusta	Leaf spot	Leaf	*A. alternaria*	Uoraki	17
Robusta	Leaf spot	Leaf	*F. sambucium*	Uoraki	19
Robusta	Leaf spot	Leaf	*Drechslera gigantean*	Bahookalat	20
Robusta	Leaf spot	Leaf	*Cercospora musae*	Uoraki	22
Robusta	Necrosis & wilt	Pseudostem	*F. oxysporum*	Pishin	23
Robusta	Necrosis & rot	Leaf & Fruit	*A.alternata*	Sarbaz	25
Robusta	Rot	Fruit	*F. oxysporum*	Zar Abad	26
Robusta	Anthracnose	Fruit	*F. verticillioides*	Zar Abad	28
Wallery	Leaf spot	Leaf	*A. alternata*	Pollan	29
Robusta	Cigar-end rot	Fruit	*F. proliferatum*	Zar Abad	30
Robusta	Tip-end rot	Fruit	*F. semitectum*	Kahir	32
Robusta	Cigar-end rot	Fruit	*M. theobromae*	Eslam Abad	34
Robusta	Cigar-end rot	Fruit	*F. verticillioides*	Bahookalat	36
Robusta	Tip-end rot	Fruit	*F. verticillioides*	Eslam Abad	40
Robusta	Root rot	Corm& Root	*Rhizoctonia solani*	Eslam Abad	41
Wallery	Cigar-end rot	Fruit	*M. theobromae*	Pollan	66
Wallery	Leaf spot	Leaf	*A. alternata*	Eslam Abad	50
Robusta	Tip-end rot	Fruit	*F. moniliforme*	Pollan	56
Robusta	Cigar-end rot	Fruit	*F. semitectum*	Eslam Abad	58
Dwarf Cavendish	Tip-end rot	Fruit	*V. theobromae*	Uoraki	79
Dwarf Cavendish	Cigar-end rot	Fruit	*M. theobromae*	Bahookalat	81
Robusta	Necrosis	Leaf & Corm	*Aspergillus carneus*	Eslam Abad	95
Robusta	Rot	Fruit & Root	*Cylindrocarpon* sp.	Eslam Abad	98
Robusta	Speckle	Fruit	*Cylindrocarpon* sp.	Eslam Abad	100

Archive of SID

www.SID.ir

۳- آزمون بیماری‌زایی

مطالعات بیماری‌زایی شامل کاشت بوته‌های موز، تهیه مایه تلقیح، مایه زنی جدایه‌ها به بوته‌های موز، ظهور یا عدم ظهور علائم لکه برگی روی برگ، پوسیدگی روی میوه، پوسیدگی ریشه و ریزوم و در نهایت جداسازی دوباره قارچ مورد بررسی از بوته‌های تیمار شده بود. اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها در گلخانه میست روی میوه، ریشه، ریزوم و برگ بوته‌های موز حاصل از کشت بافت رقم دوارف کاوندیش انجام شد.

الف) تهیه مایه قارچ‌ها

تیمارها عبارت بودند از جدایه‌هایی از *Alternaria, Aspergillus, Colletotrichum, Cylidrocarpon, Drechslera, Fuasarium, Musicillium,* و *Rhizoctonia* که برای هر تیمار سه تکرار و هم‌چنین برای هر تیمار یک شاهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی منظور گردید که برای هر جدایه به شرح زیر مایه زنی انجام شد.

ب) مایه زنی ریشه و طوقه با *Rhizoctonia*

برای تهیه مایه این قارچ، ابتدا به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر ورمیکولیت را درون ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته، ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PD (عصاره ۳۶۰ گرم سیب زمینی به اضافه ۲۰ گرم دکستروز در یک لیتر) به آن اضافه شد و سپس سترون گردید. سه تا چهار بلوک از قارچ که به مدت سه روز روی PDA رشد یافته بود، به درون ارلن اضافه شد و در دمای اتاق نگهداری شد.

به منظور بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های *Rhizoctonia* بر روی ریزوم و ریشه‌های موز، مطابق روش Sneh *et al.*, 1991 مایه قارچ با پنس سترون در کنار طوقه و ریزوم نهال‌های سه ماهه موز قرار داده شد. خاک گلدان‌های شاهد با ورمیکولیت حاوی محیط PDA فاقد قارچ مخلوط و نهال موز درون آن‌ها کاشته شد. تعداد بوته‌هایی که پس از مایه زنی زنده ماندند، در ماه‌های مختلف شمارش شدند.

ج) مایه زنی ریشه و طوقه با *Cylidrocarpon*

برای تعیین درصد آلودگی ریزوم و ریشه‌های موز، بوته‌های موز سه ماهه با سوسپانسیون اسپور قارچ با رقت $۱/۳\times۱۰^{۶}$در میلی‌لیتر، مایه زنی شدند. به این صورت که سوسپانسیون اسپور به وسیله پیپت سترون در کنار طوقه و ریزوم نهال‌های سه ماهه ریخته شد (Stover, 1972).

د) مایه زنی برگ

سوسپانسیون اسپور با آب مقطر سترون با غلظت ۱×۱۰^{۶} اسپور در میلی لیتر برای جدایه‌هایی که اسپور تولید می‌کنند، تهیه شد و به برگ بوته‌های موز پاشیده شد (Stover,

Archive of SID

www.SID.ir

1972; Wardlaw, 1961). در تیمار شاهد به جای سوسپانسیون اسپور از آب مقطر استریل استفاده شد و گلدان‌های مایه زنی شده در شرایط گلخانه میست نگه‌داری گردیدند. هفت تا ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی، پس از ظهور علایم در برگ بوته‌های مایه زنی شده، دو باره قارچ عامل بیماری جدا سازی شد.

ذ) مایه زنی میوه

میوه‌های نارس موز رقم دوارف کاوندیش با تزریق سوسپانسیون اسپور جدایه‌هایی که اسپور تولید می‌کنند، با غلظت ۱×۱۰^{۶} اسپور در میلی لیتر، مایه زنی شدند (Stover, 1972; Wardlaw, 1961). در تیمار شاهد به جای سوسپانسیون اسپور از آب مقطر سترون استفاده شد و میوه‌های مایه زنی شده در شرایط گلخانه نگه‌داری گردیدند. هفت تا ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی، پس از بروز علایم در میوه‌های مایه زنی شده، دو باره قارچ عامل بیماری جدا سازی شد.

ر) جداسازی دوباره قارچ‌های مایه زنی شده

به منظور اطمینان از بیماری‌زا بودن کلیه جدایه‌های مایه زنی شده، از میوه، ریشه، ریزوم و برگ‌های بوته‌های آلوده قطعاتی را انتخاب کرده و روی محیط کشت PDA بر حسب نوع قارچ کشت داده شد و پس از جداسازی مورد شناسایی قرار گرفت.

ز) تعیین درصد بیماری‌زایی جدایه‌های جداسازی شده

به منظور تعیین درصد بیماری‌زایی جدایه‌های مایه‌زنی شده به بوته‌های موز در شرایط گلخانه از هر سه تکرار تیمارهای مورد نظر، به طور تصادفی نمونه‌برداری گردید. ریشه و ریزوم‌های این نمونه‌ها با آب فراوان شسته و به قطعات کوچکی تقسیم شدند و سپس با هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت دو تا سه دقیقه ضدعفونی سطحی گردیدند. پس از آب گیری نمونه‌ها با دستمال کاغذی سترون، روی محیط PDA کشت داده شدند. دو تا سه روز بعد پرگنه‌های قارچ مایه‌زنی شده، جدا شد. تعداد نمونه‌هایی که پرگنه قارچ از آن‌ها جدا شده بود، شمارش گردید و به تعداد کل نمونه‌های برداشت شده تقسیم گردید و درصد بیماری‌زایی در هر تکرار مشخص شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید. در مورد تعیین درصد بیماری‌زایی روی برگ و میوه، نمونه‌های تیمار شده به طور تصادفی برداشت شدند. سپس تعداد برگ و میوه‌هایی که دارای علائم بیماری بودند، شمارش گردید و به تعدادکل آنها تقسیم شدند و درصد بیماری‌زایی هر تیمار در هر تکرار به طور جداگانه به دست آمد و سپس داده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

در بازدیدهای به عمل آمده از باغات موز نقاط مختلف ایرانشهر، کنارک و چابهار علائم پژمردگی، زردی، نکروز و پوسیدگی برگ، آنتراکنوز، پوسیدگی ته سیگاری و پوسیدگی سیاهی میوه مشاهده گردید.

نمونه برداری از ۵۶ باغ موز از مناطق مختلف جنوب استان سیستان و بلوچستان در طی سال‌های ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۶ صورت گرفت. مشخصات جدایه‌ها شامل محل جمع‌آوری، علائم بیماری، بافت آلوده و عامل بیماری در جدول یک مشاهده می‌شود. بیماری‌زایی جدایه‌های *Cylindrocarpon* و *Rhizoctonia* و *F. oxysporum* بر روی اندام‌های مایه زنی شده، به ترتیب علائم پوسیدگی ریشه و ریزوم و پژمردگی را پس از دو ماه نشان دادند. بیماری‌زایی جدایه‌های *Fusarium*، *Musicillium*، و *Colletotrichum* بر روی میوه‌های مایه زنی شده، به ترتیب علائم پوسیدگی، ته سیگاری و آنتراکنوز را پس از گذشت دو هفته نشان دادند. میزان آلودگی گونه‌های قارچی جدا شده از موز نیز تعیین شد که در جدول دو در ج گردیده است.

جدول ۲- میزان آلودگی گونه‌های قارچی جدا شده از موز در استان سیستان و بلوچستان

Table 2. Infection Percentage of fungal isolated from diseased banana plants in Sistan & Baluchestan

Pathogen	Distribution	Infection (%)
Alternaria alternata	Chabahar(Bahookalat, Uoraki, Eslam Abad, Pollan, Korchoch), Konarak(Zar Abad) & Iranshahr(Pishin)	12.44
Cercospora musae	Chabahar(Uoraki) & Konarak(Zar Abad)	9.23
Colletotrichum musae	Chabahar(Bahookalat, Pollan) & Konarak(Zar Abad, Eslam Abad)	4.16
Cylindrocarpon sp.	Konarak(Eslam Abad)	8.23
Drechslera gigantean	Chabahar(Bahookalat)	6.16
Fusarium solani	Konarak(Zar Abad, Eslam Abad)	4.04
F. oxysporum	Iranshahr(Pishin)	2.12
F. moniliforme	Chabahar(Pollan)	4.25
F. proliferatum	Konarak(Zar Abad)	3.12
F. sambucium	Chabahar(Uoraki)	5.20
F. semitectum	Konarak(Kaheer, Zar Abad)	4.16
F. subglutinans	Chabahar(Pollan) & Konarak(Zar Abad)	4.29
F. verticillioides	Chabahar(Bahookalat, Pollan) & Konarak(Zar Abad, Eslam Abad)	6.25
Rhizoctonia solani	Konarak(Eslam Abad)	8.25
Musicillium theobromae	Chabahar(Bahookalat, Pollan) & Konarak(Eslam Abad)	10.50
Septoria musue	Chabahar(Bahookalat, Pollan)	7.60
Total		100

Archive of SID

www.SID.ir

در این تحقیق از نمونه‌های آلوده جمع آوری شده از مناطق مختلف موزکاری استان سیستان و بلوچستان، ۱۶ گونه قارچ متعلق به ۱۰ جنس جداسازی، شناسایی و توسط ارشاد و زارع تأیید گردید. بر اساس صفات مورفولوژیکی شامل تولید یا عدم تولید اسپور، کلامیدوسپور، اندازه و شکل اسپور، ماکرو کنیدیوم و میکروکنیدیوم، رنگ پرگنه و رشد در دماهای مختلف با استفاده از کلیدهای شناسایی (Barnet *et al*., 1998 & 2003; Nelson *et al*., 1983; Sneh *et al*., 1991) و نتایج آزمون بیماری‌زایی قارچ‌های *Fuasarium subglutinans*, *F. C. musae*, *F. sambucinum*, *F. verticillioides*, *Acremonium* sp., *A. carnenu semitectum*, *F.moniliforme*, و *M. theobromae* به عنوان عوامل بیماری‌زای میوهٔ موز، *Cylidrocarpon* sp. و *R. solani* عوامل بیماری‌زای پوسیدگی ریزوم و ریشه موز و قارچ‌های *Drechslera gigantean*, *Alternaria alternata* و *F. proliferatum* عوامل بیماری‌زای برگ در استان شناسایی و معرفی شدند (جدول۳). گونه *A. alternata* بیش‌ترین فراوانی (۲۶/۰۴٪) و *Aspergillus carnenus* کم‌ترین فراوانی (۱/۰۴٪) را داشتند (جدول۳).

از گونه *A. alternata* تعداد ۲۵ جدایه با ۲۶/۰۴ درصد فراوانی از برگ موز به دست آمد. از ویژگی‌هایی مانند رنگ پرگنه روی محیط کشت، مرفومتری کنیدیوفور و کنیدی، شکل کنیدی و حالت زنجیری آن‌ها برای شناسایی گونه استفاده شد. ویژگی‌های این جدایه‌ها با نوشته‌های (Simmons, 1992) و (Ghosta *et al*., 2004) مطابقت داشت. این گونه در ایران از گیاهان مختلفی جداسازی و گزارش شده است (Ershad, 1996). بیماری‌زایی جدایه‌ها روی برگ‌های موز به اثبات رسید و علائم بیماری دو هفته پس از تلقیح ایجاد گردید.

از گونه *F. proliferatum* تعداد ۳ جدایه با فراوانی ۳/۱۲ درصد از میوه‌های موز به دست آمد. ویژگی‌های این جدایه‌ها با نوشته‌های (Gerlach *et al*., 1982; Nelson *et al*., 1983; Zare *et al*., 1997) مطابقت داشت. این گونه در ایران از گندم، جو، برنج و ذرت جداسازی و گزارش شده(Ershad, 1996) و برای اولین بار در ایران از موز جدا می‌گردد.

تعداد ۴ جدایه از گونه *F. semitectum* با فراوانی ۴/۱۶ درصد از میوه‌های موز به دست آمد. ویژگی‌های این جدایه‌ها با نوشته‌های (Gerlach *et al*., 1982; Nelson *et al*., 1983; Zare *et al*., 1997) مطابقت دارد. این گونه در ایران از گندم، جو و برنج گزارش شده و برای اولین بار در ایران از موز جدا می‌گردد.

از گونه *F. moniliforme* تعداد ۶ جدایه با فراوانی ۶/۲۵ درصد از میوه‌های موز به دست آمد و ویژگی‌های آن‌ها با نوشته‌های (Gerlach *et al*., 1982; Nelson *et al*., 1983; Zare *et al*., 1997) مطابقت داشت. این گونه در ایران از گندم، برنج و ذرت جداسازی و گزارش شده(Ershad, 1996) و برای اولین بار در ایران از موز جدا می‌گردد.

تعداد ۵ جدایه *F. sambucinum* با فراوانی ۵/۲۰ درصد از برگ‌های موز به دست آمد. ویژگی‌های این گونه با نوشته‌های (Gerlach *et al*., 1982; Nelson *et al*., 1983; Zare *et*

Archive of SID

www.SID.ir

(*al.*, 1997) مطابقت داشت. این گونه در ایران از گندم و سیب‌زمینی جداسازی و گزارش شده (Zare *et al.*, 1997) و برای اولین بار در ایران از موز جدا می‌گردد.

از گونه *F. oxysporum* تعداد ۳ جدایه با فراوانی۳/۱۲ درصد از ریشه، ریزوم، ساقه کاذب و برگ‌های موز به دست آمد. ویژگی‌های این گونه با نوشته‌های (Booth,, 1971; Gerlach *et al.*, 1982; Nelson *et al.*, 1983; Stover, 1972; Wardlaw, 1961) مطابقت داشت. فرم تخصصی این قارچ تا کنون از موز گزارش شده است و در ایران برای اولین بار توسط امانی و همکاران در سال ۱۳۸۰ از موز جدا گردید.

تعداد ۴جدایه *Colletotrichum musae* با فراوانی۴/۱۶ درصد از میوه‌های موز به دست آمد. از ویژگی‌هایی مانند رنگ پرگنه روی محیط کشت، مورفومتری کنیدیوفور، کنیدی، فیالید و آسرول برای شناسایی گونه استفاده شد. ویژگی‌های این گونه با نوشته‌های (Sutton and Waterston, 1970; Stover, 1972; Jinyong *et al.*, 2002) مطابقت داشت. این قارچ به عنوان عامل بیماری آنتراکنوز از موزهای موجود در بازار تهران توسط شریف و ارشاد در سال ۱۹۶۵ گزارش شده و در سال ۲۰۰۸ توسط (Amani, 2008) برای اولین بار از ایران گزارش گردید.

از گونه *M. theobroma*e تعداد ۱۲ جدایه با فراوانی ۱۲/۵۰ درصد از میوه‌های موز به دست آمد. علائم بیماری ناشی از این قارچ به صورت لکه‌های نکروزه روی پوست نوک میوه شبیه به سیگار پک زده بود که با گسترش بیماری میوه‌های آلوده به طور کامل دچار پوسیدگی می‌شدند. بیماری‌زایی جدایه‌ها بر روی میوه‌های بریده به اثبات رسید و دو هفته پس از تلقیح، علائم بیماری ایجاد گردید. از ویژگی‌هایی مانند رنگ کلنی، شیوه اسپور دهی، آرایش فیالوسپورها بر روی فیالیدها، نحوه انشعاب کنیدی برها، مرفولوژی فیالیدها، فیالوسپورها، کلامیدوسپورهاو ابعاد و اندازه آنها برای شناسایی گونه استفاده شد. ویژگی‌های این گونه با نوشته‌های (Meredith, 1965; Ploetz *et al.*, 1994; Jones 2000) مطابقت داشت. این گونه در ایران به عنوان عامل بیماری پوسیدگی ته سیگاری موز توسط (Ershad, 1972) از گلخانه در تهران گزارش شد و در سال ۱۳۸۶ توسط (Amani *et al.*, 2006) برای اولین بار از موزکاری‌های ایران جداسازی گردید (Amani *et al.*, 2006).

در این تحقیق، در مجموع ۶ جدایه قارچ *Rhi. solani* با فراوانی ۶/۲۵ درصد از ریشه و ریزوم به دست آمد که با نتایج (Stover, 1972; Jones 2000) مطابقت داشت و برای اولین بار از کشور گزاش می‌گردد. گونه‌های *Rhizoctonia solani* Kühn به عنوان بیمارگر خاکزی و با تولید اسکلرت، به طور نامحدودی در خاک زنده می‌مانند و قادرند به صدها نوع مختلف گیاهان حمله کنند و باعث طیف وسیعی از بیماری‌ها و پوسیدگی ریشه و طوقه گیاهان شوند. جدایه‌های این قارچ از روی بیش از ۱۵۰ گونه مختلف گیاهی جدا شده‌اند (Boysen *et al.*,

Archive of SID

www.SID.ir

(1996. گونه‌های *Rhizoctonia* در مناطق مختلف ایـران از روی بسـیاری از گیاهـان از جملـه آفتابگردان، برنج، بادام زمینی، توت فرنگی، خربزه، خیار، گنـدم، نیشـکر، ذرت، کلـزا، مرکبـات، سیب‌زمینی، پنبه، چغندرقند، فلفل، یونجه، کنف، کنجـد، سـویا، گلرنـگ، گوجـه‌فرنگی،کیـوی، لوبیا، لوبیا چشم بلبلی، نخود، ماش، عدس، باقلا، توت، پسته، گلابی، زیتون، زردآلـو، و بسـیاری از گیاهان زینتی و گیاهان خودرو گزارش شده است (Ershad, 2009).

گونه‌های *Acremonium* بـا نـام عمـومی *Cephalosporium* معمـولاً دارای رشـد آهسـته هستند و کلنی در ابتدا متراکم و مرطوب می‌باشد. دارای هیف شفاف بوده و فیالیدهای تولیدی بیش‌تر ساده است. کنیدیوم‌های آن‌ها معمولاً تک سلولی (Ameroconidia)، شفاف و یا رنگـی، گرد تا استوانه، و عمدتاً با سری لزج در رأس هر یک از فیالیدها قرار دارند. گونه *Acremonium alternatum* موجب بیماری پوسیدگی طوقه میوه مـوز مـی‌گـردد (Fincher *et al.*, 1991). در این تحقیق در مجموع ۱ جدایه از این قارچ با فراوانی ۱/۰۴ از میوه به دست آمد کـه بـا نتـایج (Ploetz *et al*., 1994; Fincher *et al.*, 1991; Jones, 2000) مطابقت داشت و برای اولین بـار از کشور گزارش می‌گردد.

گونه‌های جنس *Cylidrocarpon* خاکزی بوده، به صورت درون رسـت و گنـدرو در اغلـب خاک‌ها وجود دارند و معمولاً همراه با سایر قارچ‌ها مانند گونه‌هایی از *Fuasarium*, *Pythium* و *Rhizoctonia* باعث پوسیدگی ریشه و طوقـه گیاهـان مختلـف مـی‌شـوند (Singleton *et al.*, 1992). گونه‌های مختلف این قارچ به طیف وسیعی از گیاهان چوبی و علفی نظیر سبزیجات، در ختان میوه و جنگلی حمله می‌کنند. گونه *Cylindrocarpon musae* سبب بیماری پوسـیدگی ریشه موز می‌گردد (Jones, 2000). در این تحقیق در مجموع ۲ جدایه از این قارچ بـا فراوانـی ۲/۰۸ از ریشه و میوه بـه دسـت آمـد کـه بـا نتـایج (Booth & Stover, 1974; Jones, 2000) مطابقت داشت و گونـه‌هـای *Acremonium* sp., *Fuasarium* (*verticillioides*, *semitectum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus subglutinans*, *sambucinum*, *proliferatum*) *carnenus*, *Cercospora musae*, *Cylidrocarpon* sp., *Drechslera gigantean* و *Rhizoctonia solani* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند.

قـارچ‌هـای *C. musae* (عامـل بیمـاری آنتراکنـوز) از موزهـای موجـود در بـازار تهـران و *Musicillium theobromae* (عامل بیماری پوسیدگی ته سیگاری) توسـط (Ershad, 1972) از گلخانـه در تهـران و قـارچ‌هـای *F. oxysporum* و *F. equesti* توسـط (Gerlach & Ershad, 1970) از موزکـاری‌هـای شهرسـتان مینـاب (Behdad, 1990) و توسـط (Amani, 2001) از موزستان‌های بلوچستان جداسازی و گزارش شده‌اند (Amani, 2001). قارچ‌هـای *A. alternata* (عامل لکه برگی)، *C. musa* (عامل آنتراکنوز)، *F. equesti*، *F. oxysporum* (عامـل پژمردگـی آوندی)، *M. theobromae* و *Trachysphaera fructigena* (عامل ته سیگاری) توسط (Amani

Archive of SID

www.SID.ir

(Amani *et al*., 2006; 2008) از موزکاری‌های مناطق سیستان و بلوچستان و هرمزگان جداسازی و گزارش شده است.

جدول۳- ایزوله‌های قارچی جدا شده از بوته‌های بیمار موز در استان سیستان و بلوچستان

Table 3. The fungal isolates from diseased banana plant in Sistan & Balochestan province

No. of Isolates	No. of Isolates	Diseased banana samples					% Frequency
		Fruit	Leaf	Pseudostem	Root	Corm	
Alternaria alternata	25	-	+	-	-	-	26.04
Aspergillus carneus	1	-	+	-	-	+	1.04
Cercospora musae	8	-	+	-	-	-	8.33
Colletotrichum musae	4	+	-	-	-	-	4.16
***Cylindrocarpon* sp.**	2	+	-	-	+	-	2.08
Drechslera gigantean	4	-	+	-	-	-	4.16
Fusarium oxysporum	3	-	+	+	+	+	3.12
F. moniliforme	6	+	-	-	-	-	6.25
F. proliferatum	3	+	-	-	-	-	3.12
F. sambucium	5	-	+	-	-	-	5.20
F. semitectum	4	+	-	-	-	-	4.16
F. subglutinans	7	+	-	-	-	-	7.29
F. verticillioides	6	+	-	-	-	-	6.25
Rhizoctonia solani	6	-	-	-	+	+	6.25
Musicillium theobromae	12	+	-	-	-	-	12.50
Total	96						100

گونه‌های *Fuasarium* از عوامل اصلی پژمردگی، پوسیدگی میوه، برگ، ریزوم و ریشه بوده و گونه‌های *F. equesti*, *F. semitectum*, *F. subglutinans*, *F. sambucinum* و *F. verticillioides* از گیاهان بیمار جدا شده‌اند. قارچ *F. oxysporum* جداسازی از ریزوم، ریشه و ساقه کاذب موز با نتایج (Wardlaw, 1972; Stover, 1972; Ploetz, 1994; Jones, 2000; Sing, 2000) مطابقت داشت.

قارچ‌های *Acremonium* sp., *Aspergillus carnenus*, *F. verticillioides*, *F. semitectum*, *F. subglutinans*, *F. sambucinum*, *F. moniliforme*, *M. theobromae* و *Cercospora musae* جدا شده از میوه با نتایج (Stover, 1972; Ploetz, 1994; Jones, 2000)، قارچ‌های *Cylidrocarpon* sp. و *Rh. solani* جداشده از ریشه و ریزوم با نتایج (Stover, 1972; Jones 2000)، *A. alternata*، *D. gigantean* و *F. proliferatum* جدا شده از برگ با نتایج (Jones, 2000; Amani *et al*., 2006) مطابقت داشت.

Archive of SID

www.SID.ir

سپاسگزاری

نگارنده از رئیس و معاونت محترم پژوهشی موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی ایرانشهر و ایستگاه تحقیقات کشاورزی باهوکلات به خاطر فراهم آوردن امکانات اجرایی این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

Amani, M. 2001. *Identification & Distribution of the causal agent of banana wilt in Baluchestan.* M.Sc. Thesis, *Islamic Azad University.*

Amani, M. 2002. *Cultivation & Production of Banana in Iran*. 1rd ed. Agricultural Extension, Education & research Organization. Iran. 168pp.

Amani, M., Ershad, J., & Zare, R. 2006. Isolation and identification of fungi, the causal agents of Banana fruit cigar end rot in Iran. *Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress*.

Amani, M., Amani, H., Ershad, J., & Rezaee,S. 2006. Isolation and identification of banana leaf spot (*Alternaria alternata*) in Iran. *Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress*.

Amani, M. 2008. Identification of fungal Pathogens on Banana trees (*Musa acuminate* L.) in Iran. *Proceedings of the 4th International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits, Bogor-Indonesia, 3-7th November, 2008.*

Barnett, H. L. *and* Hunter, B. B. 1998.*Illustrated genera of Imperfect fungi*.4th edition. APS Press. 218pp.

Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 2003. *Illustrated genera of Imperfect fungi*. 4rd edn. Burgess Publishing Company Minneapolis 15, Minn.

Boysen M, Borja M, delMoral C, Salazar O, Rubio V. 1996. *Identification at strain level of Rhizoctonia solani AG4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of the ITS regions.* Curr Genet 29:174–181.

Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.

Booth, C. and Stover, R.H. 1974. *Trans. Br. mycol. Soc.* 63(3): 506.

Ershad, D. 1972. The occurrence of cigar-end disease of banana in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 8.7-16.

Ershad, J. 1996. *The Fungi of Iran*. Published by Agricultural Research and Education Organization. Iran.

Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. Plant Pests & Diseases Research Institute, Department of Botany, Tehran, 531 pp.

FAO. 2007. Available in http://www.fao.org/statistics/en.

Fincher, RM; Fisher, JF; Lovell, RD; Newman, CL; Espinel-Ingroff, A; Shadomy, H. J. 1991. "Infection due to the fungus Acremonium (cephalosporium)" Medicine 70 (6): 398–409.

Gerlach W, Ershad D, 1970. Beitrag zur kenntnis der *Fusarium*-und *Cylindrocarpon*-arten in Iran. *Nova Hedwigia* 20, 725-784.

Archive of SID

www.SID.ir

Gerlach, W. and Nierenberg, H. 1982. The Genus Fusarium. A picturial atlas. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Farstwirtsch, Berl-Dahlem. 209, 1-406.

Ghosta, Y. 2004. *A taxonomic study on the genus Alternaria from Iran*. Ph.D. dissertation. Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.

Jinyong Lin, Tae Heon Lin and Byeongjin Cha, 2002. Isolation and Identification of *Colletotrichum musae* from Imported Bananas. The Korean Society of Plant Pathology. *Plant Pathology Journal*. 18(3):161-164p.

Jones, D. R. 2000. *Diseases of banana, abaca and enset*. CAB International. 544 pp.

Meredith, D. S. 1965. Tip rot of banana fruits in Jamaica. 2 *Verticillium theobromae* and *Fusarium* spp. Trans. Br. Mycol. Soc. 48:327-336.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A. & Marassas, W. F. O. 1983. *Fusarium species: An illustrated manual for identification*. Pennsylvania State University Press, University Park. New York, 193 pp.

Ploetz, R.C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W. T., Rohrbach, K.G. and Ohr, H.D. 1994. Compendium of tropical fruit diseases. APS Press. *The American physiopathology Society*.

Simmons, E. G. 1992. *Alternaria* taxonomy: Current status, viewpoint, challenge. In: Chelkowski J, Visconti A, (eds). *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites, pp. 1-35. Elsevier Science Publishers, Amsterdam; The Netherlands.

Sing, R. S. 2000. *Diseases of Fruit Crops*. Published by Scince Publisher, Inc., Enfield, NH, USA.

Singleton, L., Mihalli, J. D. and Rush, C. M. 1992. Method for Research on Soil born Phytopathogenic fungi. APS Press, St. Paul, MN. 256p.

Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A. 1991. Identification Of *Rhizoctonia* Species. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.

Stover, R.H. 1972. *Banana, plantain and Abaca diseases*. Commonw. Mycol, Instit., Kew.

Sutton, B. C., and Waterston, J. M. 1970. *Colletotrichum musae*. Description of Pathogenic Fungi & Bacteria, no. 222. Commonwealth Mycological Institute. Kew, England.

Wardlaw, C.W. 1961**.** Banana Diseases. John Wiley & Sons, New yourk.

Wardlaw, C. W. 1972**.** Banana Diseases. Including plantains and abaca, 2nd edn. Longman, London.

Zare, R., Gams, W., Starink-Willemse, M. and Summerbell, R.C. 2007. *Gibellulopsis*, a suitable genus for *Verticillium nigrescens*, and *Musicillium*, a new genus forV. theobromae. Nova Hedwigia, 85(3-4), 463-489.

Zare, R. and. Ershad, D. 1997. Fusarium species isolated from cereals in Gorgan area. Iran J. Plant Pathol., 33: 1-14.

Archive of SID

www.SID.ir

Plant Protection Journal
2011, 3 (2): 147 - 160

Identification of fungal pathogens on Banana (*Musa acuminata* L.) in Sistan & Bluchestan province

Majid AMANI
Scientific Staff at Date palm and Tropical Fruits Research Institute of Iran
(Corresponding author, E-mail: majidamani2008@yahoo.com)

Abstract

In this study, identification of fungal pathogens of banana trees (*Musa acuminate* L.) in Sistan & Bluchestan province during 2005-2007 was studied. After observed of disease symptoms, infected tissues were collected and cultured. For isolation of fungi from diseased samples, small pieces of leaf, corm, pseudostem and fruit were surface sterilized with 5% hypochlorite sodium and then were cultured on potato dextrose agar (PDA) medium contaning lactic acid. The growing colonies of fungi were purified by single spore and hyphal tip methods. Based on the morphological characters and pathogenicity test the fungi were identified as *Colletotrichum musae*, *Aspergillus carnenus*, *Acremonium* sp., *Fuasarium verticillioides*, *F. semitectum*, *F. subglutinans*, *F. sambucinum* and *Musicillium theobromae* causing fruit disease while *F. oxysporum*, *Cylidrocarpon sp.* and *Rhisoctonia solani* causing corm and root disease whereas, *Alternaria alternate*, *Drechslera gigantean* and *Fusarium proliferatum* causing leaf disease. This is the first report of occurrence of these fungi in banana trees in Sistan & Bluchestan province.

Keywords : Fungal Pathogens, Banana, Sistan & Bluchestan

Archive of SID

www.SID.ir