

مطالعه تاکسونومیکی فوزاریوم‌های بخش Martiella در مناطق غربی ایران

سعید عباسی^۱

چکیده

در این پژوهش از خاک‌های زراعی بیش از ۱۵۰ منقطه استان‌های کرمانشاه، همدان و کردستان نمونه‌برداری شد. در مجموع ۱۹۴ جدایه فوزاریوم متعلق به بخش Martiella جداسازی گردید. نمونه‌برداری خاک به‌طور تصادفی از عمق ۲۵-۱۵ سانتی‌متری صورت گرفت. نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه انتقال داده شده و عمل جداسازی انجام پذیرفت. جداسازی قارچ از خاک به‌طور عمده روی محیط‌کشت اختصاصی نش و سنیدر^۲ و با استفاده از روش تهیه سوسپانسیون خاک انجام شد. شناسایی جدایه‌ها براساس شکل و اندازه‌ی ماکروکنیدیوم‌ها، میکروکنیدیوم‌ها و کلامیدوسپور، نوع فیالید و اندازه آن، رنگ پرگنه و میزان رشد آن صورت پذیرفت. ویژگی‌های میکروسکوپی ۱۰-۵ روز پس از رشد قارچ روی محیط‌کشت‌های SNA و CLA بررسی گردید. جدایه‌های مورد بررسی متعلق به چهار گونه بودند که سه گونه‌ی آن شامل *F. solani*، *F. eumartii* و *F. javanicum* قبلاً از ایران گزارش شده بودند اما گونه *F. causicum* برای میکوفلور ایران جدید می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: میکوفلور ایران، *F. causicum*

۱. استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی.

مقدمه

به عنوان فرم‌های مخصوص در گونه *F. solani* شناخته می‌شوند (آدونل، ۲۰۰۰).

گونه *F. solani* و گونه‌های وابسته به آن بسیار متداول و شناخته شده بوده و از تعداد زیادی از گیاهان و خاک‌های مناطق مختلف آب و هوایی به خصوص نواحی معتدله جدا شده و از فراوانی بسیار زیادی در دنیا برخوردار می‌باشند (گرلاخ و نیرنبرگ، ۱۹۸۲).

با توجه به کثرت گونه‌های شبه جنس فوزاریوم و تنوع بسیاری که در طبقه‌بندی اعضای این شبه جنس وجود دارد، یکی از مشکلاتی که بطور معمول برای بیماری‌شناسان گیاهی بوجود می‌آید، تشخیص دقیق عامل بیماری است. در واقع، شناسایی دقیق جدایه‌ها، پیش‌نیاز و گام نخست در کارهای پژوهشی است. از این رو، انجام مطالعاتی در خصوص شناسایی دقیق گونه‌های مختلف این شبه‌جنس و پراکنش آنها می‌تواند، اطلاعات مفیدی را در اختیار بیماری‌شناسان قرار دهد. در این میان، اعضای بخش Martiella به دلیل پراکنش وسیع و بیماری‌زایی در گیاهان مختلف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. در ایران، با وجود آنکه اعضای بخش Martiella به‌عنوان عامل بیماری در بسیاری از محصولات گزارش شده‌اند (کرم پور و حجارود، ۱۳۷۲؛ بهروزین و اسدی، ۱۳۷۳؛ زارع و ارشاد، ۱۳۷۶؛ روانلو و بنی‌هاشمی، ۱۳۷۸؛ حیدریان و ارشاد، ۱۳۸۰؛ صفایی، ۱۳۸۳؛ گرلاخ و ارشاد، ۱۹۷۰)، اما تاکنون مطالعه‌ای در خصوص شناسایی دقیق گونه‌های مختلف این بخش انجام نشده است. پژوهش حاضر، در واقع در همین راستا به انجام رسیده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از خاک‌های زراعی بیش از ۱۵۰ منطقه استان‌های کرمانشاه، همدان و کردستان یا بافت‌های بیمار ریشه و طوقه نمونه‌برداری گردید. نمونه‌برداری خاک، به‌طور تصادفی از عمق ۲۵-۱۵

بخش Martiella شامل گونه *F. solani* و گونه‌های وابسته در شبه جنس فوزاریوم می‌باشد که عمدتاً پاتوزن گیاهان بوده و باعث پوسیدگی بذر، گیاهچه، ریشه، طوقه، غده، پیاز و میوه می‌شوند (اگریوس، ۲۰۰۵). برخی از اعضای کمپلکس *F. solani* در انسان نیز موجب بروز بیماری می‌گردند (ژنگ، ۲۰۰۶). رشد پرگنه اعضای این بخش سریع و بعد از ۱۰ روز، بر روی محیط PDA در دمای ۲۵°C، حدود هشت سانتی‌متر است. گونه‌های مختلف دارای ریشه‌های هوایی پراکنده تا فراوان و سفید رنگ می‌باشند و سطح زیرین پرگنه آنها کرم، لیمویی، قرمز تا آبی متمایل به بنفش است؛ معمولاً ماکروکنیدیوم‌های سه تا هفت جداره‌ای دارند و یاخته پایه‌ای آنها از حالت فرو رفته تا پاشنه‌ای متغیر است. کنیدیوفورها، یاخته‌های کنیدی‌زای منوفیالید بلند دارند که میکروکنیدیوم‌های فراوان به صورت سر دروغین (False head) تولید می‌کنند. اعضای این بخش، همچنین دارای کلایدوسپور می‌باشند (گرلاخ و نیرنبرگ، ۱۹۸۲).

برخی از متخصصین تاکسونومی فوزاریوم کمپلکس *F. solani* را یک گونه، مشتمل بر واریته‌های مختلف شناخته (بوت، ۱۹۷۱؛ نلسون، ۱۹۸۳) و برخی بر اساس صفات مرفولوژیکی چندین گونه متمایز را در این کمپلکس معرفی نموده‌اند. برای مثال گرلاخ و نیرنبرگ پنج گونه، شامل *F. javanicum*، *F. eumartii*، *F. solani*، *F. caucasicum* و *F. coeruleum* را در بخش Martiella معرفی نموده‌اند. (گرلاخ و نیرنبرگ، ۱۹۸۲). در سال‌های اخیر مطالعات مولکولی نشان داده است که تعداد گونه‌های قابل تشخیص در این بخش فراتر از گونه‌هایی است که تاکنون شناسایی شده‌اند. برای مثال، آدونل به استناد مطالعات مولکولی ۲۶ گونه را در بخش Martiella قابل تمایز دانسته است که در این میان ۹ گونه، در حال حاضر

اطلس گراخ و نیرنبرگ (۱۹۸۲) ذکر شده است، یعنی براساس ویژگی‌های ظاهری آن‌ها مانند شکل و اندازه ماکروکنیدیوم، میکروکنیدیوم و کلامیدوسپور، نوع و اندازه فیالید، رنگ پرگنه و میزان رشد آن انجام پذیرفت. ابعاد اندام‌های مختلف نظیر فیالیدها، ماکروکنیدیوم‌ها، میکروکنیدیوم‌ها و کلامیدوسپورها با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به عدسی‌های مدرج اندازه‌گیری شد.

نتیجه و بحث

در این مطالعه، در مجموع ۱۹۴ جدایه فوزاریوم، متعلق به بخش Martiella جداسازی گردید که به کمک بررسی‌های ریخت‌شناسی، چهار گونه، شامل *F. solani*، *F. eumartii*، *F. javanicum* و *F. caucasicum* شناسایی شدند (جدول-۱).

سانتی‌متری صورت گرفت. نمونه‌ها در پاکت‌های یک‌بار مصرف در اسرع وقت به آزمایشگاه انتقال داده شده و عمل جداسازی انجام گرفت. برای جداسازی قارچ از خاک به‌طور عمده از روش تهیه سوسپانسیون خاک و از محیط‌کشت اختصاصی نش و سنیدر استفاده شد (نش و اسنایدنر، ۱۹۶۲). جهت خالص‌سازی از روش‌های تک اسپور و نوک ریشه و از محیط‌کشت‌های PDA و WA استفاده شد. در این مطالعه، برای تعیین ویژگی‌های پرگنه، همه جدایه‌ها بر روی محیط‌کشت PDA کشت داده شده و در شرایط تاریکی در انکوباتور نگهداری شدند. برای تحریک اسپورزایی و مشاهده خصوصیات میکروسکوپی از محیط‌کشت‌های SNA و CLA در شرایط تاریکی و زیر نور NUV استفاده شد. جدایه‌ها در تناوب دمایی ۱۲ ساعته در دماهای ۲۵°C و ۲۰°C و به مدت ۱۴-۱۰ روز نگهداری شدند. شناسایی جدایه‌های بدست آمده، طبق آنچه که در

جدول ۱- محل نمونه‌برداری و گونه‌های فوزاریوم جداسازی شده متعلق به بخش Martiella از مناطق غربی کشور

محل نمونه‌برداری	تعداد	گونه‌های جداسازی شده
کرمانشاه (خاک زراعی، ریشه و طوقه گندم)	۵	<i>F. solani</i> , <i>F. eumartii</i>
هرسین (خاک زراعی)	۳	<i>F. solani</i> , <i>F. caucasicum</i>
سنقر (خاک زراعی)	۴	<i>F. solani</i>
کنگاور (خاک زراعی، ریشه و طوقه کدوبیان)	۴	<i>F. solani</i> , <i>F. javanicum</i>
صحنه (خاک زراعی، ریشه و طوقه گندم)	۸	<i>F. solani</i> , <i>F. eumartii</i> , <i>F. javanicum</i>
اسلام آباد غرب (خاک زراعی و باغی)	۳	<i>F. solani</i>
کردن‌غرب (خاک زراعی و باغی)	۳	<i>F. solani</i>
گهواره (خاک زراعی)	۲	<i>F. solani</i>
کوزران (خاک ریشه و طوقه گندم)	۴	<i>F. solani</i> , <i>F. caucasicum</i> , <i>F. javanicum</i>
سرپل ذهاب (خاک زراعی)	۳	<i>F. solani</i>
گیلان غرب (خاک زراعی)	۲	<i>F. solani</i>
قصرشیرین (خاک زراعی)	۴	<i>F. solani</i>
جوانرود (خاک زراعی)	۳	<i>F. solani</i>
پاوه (خاک زراعی و باغی)	۳	<i>F. solani</i> , <i>F. eumartii</i>
روانسر (خاک زراعی، باغی، ریشه و طوقه گندم و کدوبیان)	۱۰	<i>F. solani</i> , <i>F. eumartii</i> , <i>F. javanicum</i>
ثلاث باباجانی (خاک ریشه و طوقه گندم)	۲	<i>F. solani</i>
بیسون (خاک زراعی، باغی، ریشه و طوقه گندم)	۸	<i>F. solani</i> , <i>F. caucasicum</i> , <i>F. eumartii</i> , <i>F. javanicum</i>

گونه‌های جداسازی شده	تعداد	محل نمونه برداری
<i>F. solani</i>	۴	باینگان (خاک زراعی)
<i>F. solani, F. eumartii, F. javanicum</i>	۸	همدان (خاک زراعی، باغی، ریشه و طوقه گندم)
<i>F. solani</i>	۵	رزن (خاک زراعی)
<i>F. solani</i>	۸	اسدآباد (خاک زراعی)
<i>F. solani</i>	۶	قروه (خاک زراعی)
<i>F. solani</i>	۳	ملایر (خاک زراعی)
<i>F. solani</i>	۴	نهایند (خاک زراعی)
<i>F. solani</i>	۴	تویسرکان (خاک زراعی)
<i>F. solani, F. javanicum</i>	۱۰	سنندج (خاک زراعی و باغی)
<i>F. solani, F. eumartii, F. javanicum</i>	۸	مریوان (خاک زراعی و باغی)
<i>F. solani</i>	۳	بیجار (خاک زراعی)
<i>F. solani</i>	۶	دهگلان (خاک زراعی)
<i>F. solani, F. eumartii, F. javanicum</i>	۸	کامیاران (خاک خاک زراعی، ریشه و طوقه کدویان)
<i>F. solani, F. eumartii</i>	۶	کبوترآهنگ (خاک زراعی)
<i>F. solani, F. eumartii</i>	۳	لاله جین (خاک زراعی)

خاصی از پرگنه به صورت پنبه‌ای و سفید رنگ دیده می‌شوند. روی محیط کشت‌های PDA و CLA به سادگی و پس از ۳-۲ روز اسپوردهی می‌کند. ابتدا از فیالیدهای بلند واقع روی ریشه‌های هوایی فقط تولید میکروکنیدیوم می‌کنند که به صورت سرهای دروغین هستند، ولی بعداً ماکروکنیدیوم نیز تولید می‌نمایند. در همه‌ی جدایه‌ها اسپورودوخیوم‌های فراوان، بخش زیادی از پرگنه (به‌خصوص اطراف برگ‌های میخک در محیط CLA) را فرا می‌گیرد (شکل ۱، c). کنیدیوفورهای اولیه دارای یاخته‌های کنیدیوم‌زای منوفیالیدی و غیر منشعب می‌باشند و بعد از سه الی چهار روز کنیدیوفورهای منشعب هم تعدادشان زیاد می‌شود. کنیدیوفورها به صورت جانبی و بلند روی ریشه‌های هوایی تولید می‌شوند (شکل ۱، d و e). فیالیدها دارای یقه (کلارت) مشخص هستند. اندازه فیالیدهای تولیدکننده میکروکنیدیوم $3-1/8 \times 31-14$ میکرومتر و اندازه فیالیدهای تولیدکننده ماکروکنیدیوم $3/4-2/5 \times 21-8$ میکرومتر می‌باشد (شکل ۱، d و e). میکروکنیدیوم‌ها

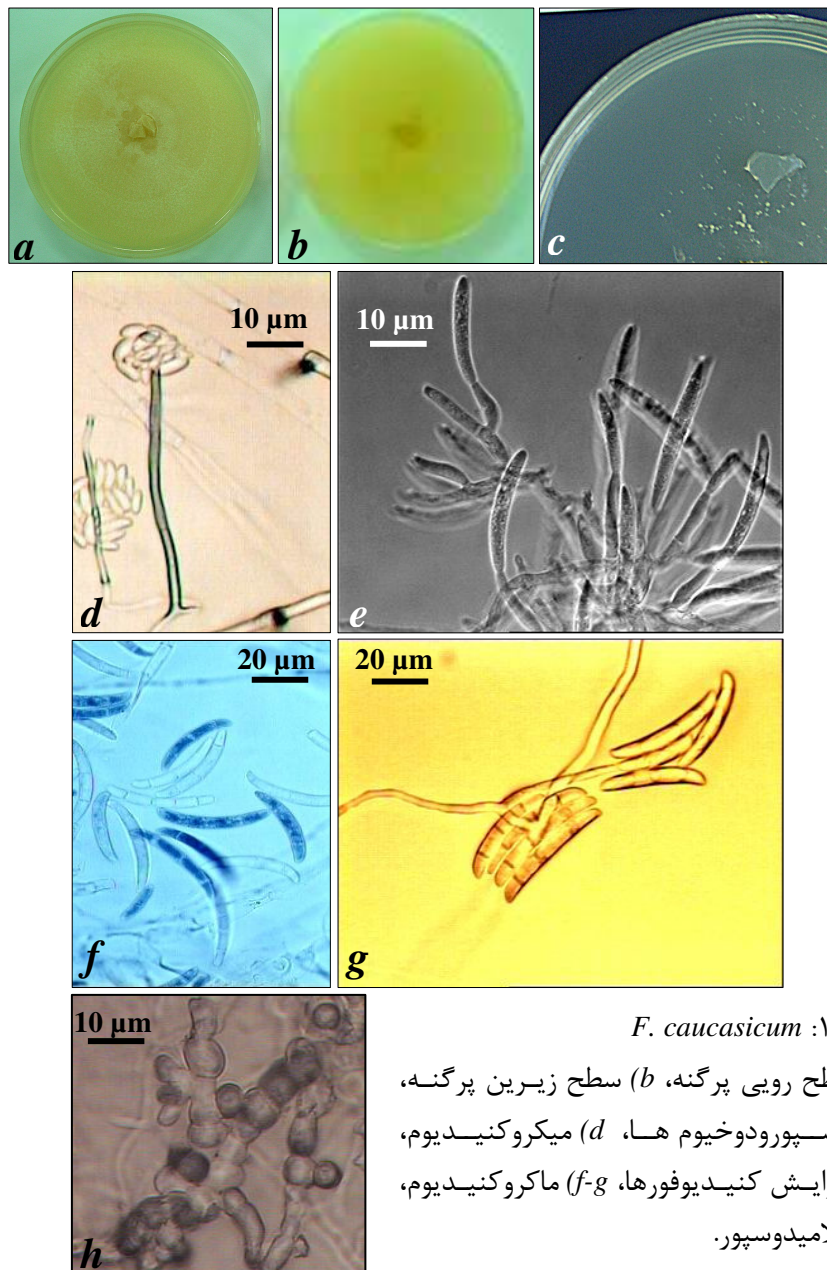
از مجموع جدایه‌های به‌دست آمده، ۱۴۹ جدایه *F. solani*، ۲۳ جدایه *F. eumartii*، ۱۴ جدایه *F. javanicum* و ۸ جدایه *F. caucasicum* تشخیص داده شدند. سه گونه *F. solani* (زارع و ارشاد، ۱۳۷۶؛ روانلو و بنی هاشمی، ۱۳۷۸)، *F. eumartii* (گرلاخ و ارشاد، ۱۹۷۰) و *F. javanicum* (زارع و مرید، ۱۳۸۵؛ عباسی و چهری، ۱۳۸۵) قبلاً از ایران گزارش شده و گونه *F. caucasicum* برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد. خصوصیات مورفولوژیکی گونه‌ی اخیر به شرح زیر است:

Fusarium caucasicum Letov – Material Mikol. Fitopat. Ross. Leningrad VIII, Part. 1: 225, 1929

میزان رشد پرگنه روی محیط کشت PDA پس از ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، برابر $7/5$ سانتی‌متر است. رنگ سطح زیرین پرگنه روی محیط کشت PDA زرد لیمویی است. ریشه‌های هوایی روی محیط کشت فراوان بوده و در نقاط

میکرومتر، ماکروکنیدیوم‌های ۳ جداره‌ای ۶- (۵/۴) - ۴/۵ × ۵۰ - (۴۲) - ۳۰ میکرومتر و ماکروکنیدیوم‌های ۴ و ۵ جداره‌ای ۶/۲ - (۶) - ۴۵ × ۵ - (۴۰) - ۳۶ میکرومتر می‌باشد. کلامیدوسپورهای ریشه‌ای و کنیدیومی که به صورت میانی و انتهایی تشکیل می‌شوند، غالباً سطحی صاف دارند؛ ولی سطح برخی نیز خشن و ناصاف است. کلامیدوسپورها به اشکال کروی، بیضوی تا نیمه کروی و به صورت منفرد، جفتی، زنجیره‌ای و خوشه‌ای تشکیل می‌شوند.

که به فراوانی و به صورت سرهای دروغین تشکیل می‌شوند، تک‌یاخته‌ای و دویاخته‌ای بوده و به شکل‌های بیضوی تا استوانه‌ای دیده می‌شوند، ولی غالباً استوانه‌ای هستند (شکل ۱، *d* و *f*). ماکروکنیدیوم‌ها، نسبتاً استوانه‌ای و بلند بوده و دو انتهای آن‌ها تقریباً گرد است. یاخته انتهایی آن‌ها تقریباً گرد بوده و یاخته پایه‌ای آن‌ها دارای کمی فرورفتگی و به شکل مخروطی است. ماکروکنیدیوم‌ها اغلب ۳ جداره‌ای هستند، ولی ماکروکنیدیوم‌های ۲ و ۴-۵ جداره‌ای هم وجود دارد (شکل ۱، *f-g*). ابعاد میکروکنیدیوم‌ها ۴/۲ - (۳/۴) - ۲ × ۱۹ - (۱۳) - ۹



شکل ۱: *F. causicum*

(a) سطح رویی پرگنه، (b) سطح زیرین پرگنه، (c) اسپورودوخیوم ها، (d) میکروکنیدیوم، (e) آرایش کنیدیوفورها، (f-g) ماکروکنیدیوم، (h) کلامیدوسپور.

منابع

- بهروزین، م. و اسدی، پ. ۱۳۷۳. معرفی ۳ گونه فوزاریوم عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طبق پیاز خوراکی و تعیین فراوانی آن در آذربایجان شرقی. مجله‌ی بیماری‌های گیاهی، شماره ۱ و ۴، جلد ۳، ص. ۴۵-۴۱.
- حیدریان، ا. و ارشاد، ج. ۱۳۸۰. شناسایی قارچ‌های همراه طوقه و ریشه‌ی گندم‌های آبی استان چهارمحال بختیاری. مجله‌ی بیماری‌های گیاهی، شماره ۱ و ۲، جلد ۳۷، ص. ۹۷-۱۱۵.
- روانلو، ع. و بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۷۸. تاکسونومی و بیماری‌زایی فوزاریوم‌های همراه با ریشه و طوقه گندم در فارس. مجله‌ی بیماری‌های گیاهی، شماره ۱ و ۴، جلد ۳۵، ص. ۴۵-۳۷.
- زارع نصرآبادی، ر.، ارشاد، ج. ۱۳۷۶. بررسی تاکسونومیک فوزاریوم‌های جداشده از غلات در منطقه‌ی گرگان. مجله‌ی بیماری‌های گیاهی، شماره ۱ و ۲، جلد ۳۳، ص. ۱۴-۱.
- زارع، ر. و مرید، ب. ۱۳۸۵. نخستین گزارش از وجود گونه *Fusarium javanicum* در ایران. مجله‌ی رستنی‌ها، جلد ۷(۱)، ص. ۱۰۵-۱۰۴.
- صفایی، د. ۱۳۸۳. قارچ‌های مرتبط با پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در استان کرمانشاه. خلاصه شانزدهمین کنگره‌ی گیاه‌پزشکی، تبریز، ایران، ص. ۳۸.
- عباسی، س. و چهری، خ. ۱۳۸۵. معرفی دو گونه‌ی جدید فوزاریوم برای میکوفلور ایران. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، جلد ۲، ص. ۴۱۷.
- کرم‌پور، ف. و حجارود، ق. ۱۳۷۲. معرفی قارچ *F. solani* به‌عنوان عامل پوسیدگی سیاه ریشه‌ی نخود ایرانی در ایران. مجله‌ی بیماری‌های گیاهی، شماره ۴ و ۳، جلد ۲۹، ص. ۱۴۸-۱۴۷.
- Agrios, G. M. 2005. Plant Pathology. 5th ed. Academic Press.
- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England.
- Gerlach, W. and Ershad, D. 1970. Beitrag zur kenntnis der *Fusarium* and *Cylindrocarpon* arten in Iran. Nova Hedwigia 20: 725-784.
- Gerlach, W. and Nirenberg, H. I. 1982. The Genus *Fusarium*-A Pictorial Atlas. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstw., Berlin, Germany. 209:1- 406.
- Nash, S.M. and Snyder, W.C. 1962. Quantitative estimation by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. Phytopathology 52: 567-572.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park.
- O'Donnell, K. 2000. Molecular Phylogeny of the *Nectria haematococca*-*Fusarium solani* Species Complex. Mycologia, Vol. 92, No. 5, pp. 919-938.
- Zhang, N., O'Donnell, K., Sutton, D. A., Nalim, A., Samuels, G. J., Summerbell, R. C., Padhye, A. A. and Geiser, D. M. 2006. Members of the *Fusarium solani* species complex causing infections in both humans and plants are common in the environment. Journal of Clinical Microbiology 44:2186-2190.

Taxonomic study of *Fusarium* isolates belonging to Martiella section in the west of Iran

Abbasi¹, S.

Abstract

In this study 194 *Fusarium* isolates belonging to Martiella section were obtained from more than 150 soil and plant samples collected from different parts in Kermanshah, Hamadan and Kurdistan provinces. The soil samples were taken randomly from 15 – 25 cm depths and then transferred in plastic bags to the laboratory. *Fusarium* isolates were obtained on Nash and Snyder medium using soil suspension technique. Identification process was carried out using morphological features including colony characters (pigmentation and growth rate on PDA) and microscopic characters such as shape and size of conidiophores, conidia, chlamydospores and phialides. Microscopic features were studied and recorded 5-10 days after inoculation on CLA and SNA. This investigation resulted in identification of four species including: *F. solani*, *F. eumartii*, *F. javanicum* and *F. caucasicum*. Among the identified species, *F. caucasicum* is new for the Mycoflora of Iran.

Keywords: Iran Mycoflora, *F. caucasicum*

1. Assistant Professor. Departeman of Plant Protection. Faculty of Agriculture. Razi University, Kermanshah, Iran