

بیماری پوسیدگی ریشه نهال‌های پسته در اثر *Fusarium solani* در استان کرمان

فهیمة سلاجقه تدرجی^{۱*}، حمید محمدی^۲، مهدی سرچشمه پور^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان. ۲- استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان. ۳- استادیار گروه خاکشناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

*نویسنده مسؤل: فهیمة سلاجقه تدرجی

چکیده

جهت بررسی عامل بیماری پوسیدگی ریشه نهال‌های پسته در استان کرمان، از برخی نهالستان‌های پسته در ماهان و بردسیر در طول فصول بهار و تابستان بازدید به عمل آمد و از نهال‌های بیمار دارای علائم زردی، کم برگی، کم رشدی و پژمردگی نمونه برداری گردید. جداسازی عامل بیماری از طوقه و ریشه گیاهان بیمار و با استفاده از محیط کشت عصاره سیب زمینی-آگار (PDA) انجام شد. در این مطالعه تعداد ۴۶ جدایه فوزاریوم از بافت‌های آلوده نهال‌های بیمار جداسازی گردید که بر اساس خصوصیات ریخت - شناختی و محیط کشت *Fusarium solani* تشخیص داده شدند. آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه و بر روی نهال‌های پسته رقم بادامی ریز زرنندی انجام شد. نتایج نشان داد که جدایه‌های مایه‌زنی شده بر روی نهال‌ها بیماری‌زا بوده و بعد از ۳۰-۲۵ روز علائم بیماری به صورت کم رشدی، زردی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه مشاهده گردید. جهت انجام آزمون کخ جدایه‌های مایه‌زنی شده مجدداً از ریشه گیاهان مایه‌زنی شده جداسازی و شناسایی شدند.

واژگان کلیدی: پوسیدگی ریشه، پسته، استان کرمان، *Fusarium solani*

مقدمه

پسته به عنوان یک محصول استراتژیک، جایگاه خاصی را بین تولیدات کشاورزی دارا بوده و بخش عمده‌ای از صادرات غیر نفتی را به خود اختصاص می‌دهد. طبق آخرین آمار رسمی کشور در سال ۱۳۸۷ سطح زیر کشت پسته ایران بیش از ۴۳۱ هزار هکتار می‌باشد و استان کرمان به عنوان مهمترین منطقه پسته کاری با مجموع بیش از ۲۹۰۷۹۲ هکتار باغ بارور و غیر بارور، ۴۶/۵ درصد از محصول کل کشور را به خود اختصاص داده است. تاکنون بیماری‌های مختلفی بر روی پسته گزارش شده است که از مهمترین آنها می‌توان به گموز پسته در اثر گونه‌های مختلف *Phytophthora* و پوسیدگی ریشه در اثر فوزاریوم اشاره نمود. گونه‌های فوزاریوم به عنوان مهمترین قارچ‌های خاکزی شناخته می‌شوند و باعث ایجاد خسارت‌های اقتصادی مهمی در محصولات مختلف کشاورزی در نقاط مختلف دنیا می‌شوند (Bockus et al., 2007; Bentley et al., 2006). به طور کلی گونه‌های فوزاریوم به علت فراوانی در خاک و ارتباط با ریشه گیاهان، به صورت بیمارگر و ساپروفیت اغلب به عنوان قارچ‌های خاکزاد مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Burgess, 1981). بسیاری از گونه‌های فوزاریوم در گیاهان باعث بیماری می‌شوند (Yagen and Joffe, 1976; Trop and Langseth, 1999). یکی از گونه‌های مهم در جنس فوزاریوم *Fusarium solani* (Mart.) Sac است که ریشه و طوقه گیاهان مختلف را آلوده کرده و وارد آوندهای چوبی می‌شود و در نهایت باعث پژمردگی و بوته‌میری می‌شود. این گونه در گیاهان مختلف از قبیل خربزه، کنجد، سیب‌زمینی، کنف، پنبه و خیار عامل بوته‌میری است (Nelson et al., 1983; Quimio, 1976). در ایران گونه‌های مختلف این جنس با ایجاد پوسیدگی خشک ریشه و طوقه باعث کاهش محصول در گیاهان مختلفی از جمله سیب زمینی، برنج، نخود و لوبیا می‌شوند (Saremi et al., 2007). یکی از گونه‌های فوزاریوم که مولد پوسیدگی ریشه در پسته می‌باشد *F. solani* است. طی مطالعه‌ای که در کشور تونس در سال ۲۰۱۱ انجام شده است این گونه به عنوان عامل اصلی پوسیدگی ریشه درختان و نهال‌های پسته معرفی شده است و از درختان و نهال‌های دارای علائم پژمردگی و سرخشیدگی جداسازی و گزارش شده است (Triki et al., 2011). تا به حال بررسی دقیقی از عامل پوسیدگی ریشه در نهالستان‌های پسته صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری، جداسازی و شناسایی عامل بیماری

در طی فصول بهار و تابستان سال ۹۱ و به منظور مطالعه زوال نهال‌های پسته از نهالستان‌های متعددی در استان کرمان بازدید به عمل آمد و از نهال‌های بیمار با علائم مختلف بیماری شامل زردی، کم‌رشدی، کم‌برگی و سرخشکیدگی نمونه برداری گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده با ثبت مشخصات مربوطه به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه نهال‌ها به طور کامل از خاک خارج شدند و ریشه و طوقه آنها با آب به طور کامل شسته شد. جداسازی عامل بیماری از بافت‌های آلوده و تغییر رنگ داده ریشه و طوقه و با استفاده از محیط کشت عصاره سیب زمینی-آگار (PDA، مرک، آلمان) انجام شد. برای اینکار ابتدا بخش‌های ریشه و طوقه به قطعات ۳-۵ میلی متری بریده شدند. قطعات بریده شده به مدت ۲-۱/۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد گندزدایی و سه مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند. قطعات سترون شده بر روی دستمال کاغذی در زیر هود لامینار خشک و بر روی محیط کشت PDA کشت داده شدند. تشک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پرگنه‌های قارچی بدست آمده به روش تک اسپور خالص و جهت مراحل بعدی نگهداری شدند. شناسایی جدایه‌های فوزاریوم بدست آمده بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی و بر اساس کلیدهای شناسایی موجود انجام شد (Burgess et al., 1994).

آزمون بیماری زایی بر روی دانهال‌های پسته

کشت گیاهان جهت مایه‌زنی

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم در شرایط گلخانه‌ای و بر روی دانهال‌ها پسته رقم بادامی ریز زرنندی انجام شد. برای اینکار ابتدا بذور پسته به مدت ۱۵-۱۲ دقیقه با هیپو کلریت سدیم ۰/۵ درصد گندزدایی و سه دفعه و هر دفعه به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر سترون شسته شدند. بذور به مدت یک شب در ظروف یکبار مصرف حاوی آب مقطر سترون نگهداری و پس از آن، آب ظرف‌ها خارج و پارچه مرطوبی روی بذور کشیده شد. ظرف‌ها حاوی بذور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ۸-۷ روز بذور جوانه زده به طور مستقیم در گلدان (جهت مایه‌زنی با *F. solani*) کشت گردیده و تحت شرایط گلخانه نگهداری شدند.

تهیه مایه قارچ

برای تهیه مایه *F. solani* از روش آلوده کردن بذور گندم به قارچ استفاده گردید. 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 آب فلاسک‌ها خارج و درب هر کدام با پنبه و فویل آلومینیومی پوشانده شد. فلاسک‌ها سه دفعه (به صورت یک روز در میان) و هر دفعه به مدت نیم ساعت در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر) سترون شدند. سپس ۴-۵ قرص میسلیومی (به قطر ۴ میلی‌متر) از کشت‌های ۷ روزه جدایه‌ها بر روی محیط کشت PDA برداشته و به هر فلاسک اضافه گردید. فلاسک‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو هفته نگهداری گردیدند و جهت کلنیزه شدن بهتر بذور توسط قارچ، فلاسک‌ها هر روز با دست تکان داده شدند. بعد از این مدت جهت تهیه مایه قارچ (اینوکولوم) بذور کلنیزه شده گندم با آسیاب کاملاً خرد و به نسبت ۱:۱ با ماسه سترون مخلوط شدند.

مایه‌زنی گیاهان

برای مایه‌زنی گیاهان پسته با جدایه‌های *F. solani* ابتدا مایه قارچ با نسبت ۲۰ درصد با خاک اتوکلاو شده مخلوط گردید. سپس خاک مایه‌زنی شده در گلدان‌های یک کیلوگرمی ریخته شد و در هر گلدان نیز ۵ عدد بذر جوانه زده پسته کشت گردید. برای گیاهان شاهد از ترکیب ماسه سترون با بذور اتوکلاو شده گندم فاقد قارچ استفاده گردید. گلدان‌های کشت شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در گلخانه نگهداری شدند و جهت مشاهده و ثبت علائم بیماری روزانه از آنها بازدید به عمل آمد. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار و هر تکرار ۵ گیاه انجام شد. پس از ۴۵-۵۰ روز، گیاهان مایه‌زنی شده جمع‌آوری و با خارج کردن کامل ریشه آنها از خاک، علائم بیماری بر روی ریشه و طوقه گیاهان نیز مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام

آزمون کخ از قطعات ریشه و طوقه و با استفاده از محیط کشت PDA، جدایه‌های مایه‌زنی شده طبق روش گفته شده مجدداً جداسازی گردیدند.

نتیجه

نمونه‌برداری و بررسی علائم بیماری

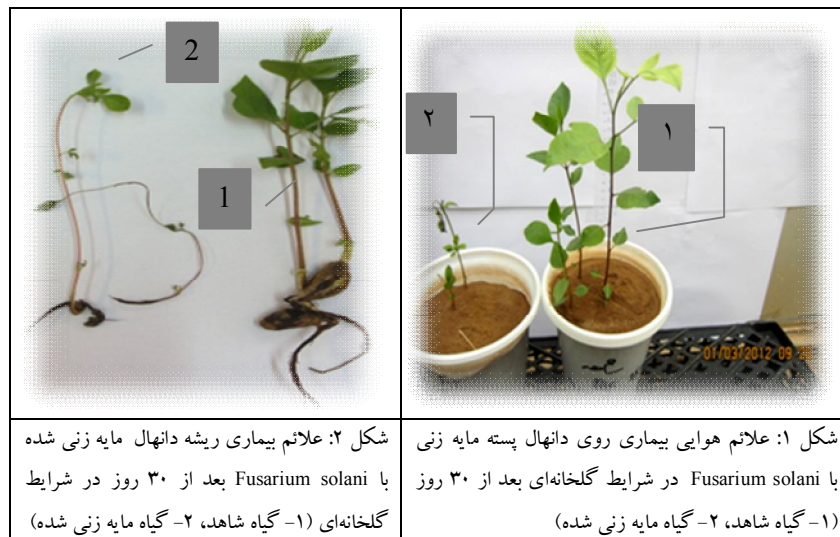
در این مطالعه با بررسی نهالستان‌های متعددی در استان کرمان، تعداد ۴۶ نهال بیمار انتخاب و از آنها نمونه‌برداری شد. علائم هوایی بیماری به صورت کاهش رشد، زردی، پژمردگی برگها و در برخی از نهال‌ها نیز به صورت برگ‌ریزی و خشک شدن کامل مشاهده گردید. علائم بیماری بر روی بخش‌های زیر زمینی با خروج کامل نهال‌ها از خاک و به صورت پوسیدگی سیاه رنگ ریشه‌ها، کاهش حجم توده ریشه‌ها و از بین رفتن ریشه‌ها فرعی مشاهده شد. بر اساس مشاهدات انجام شده، ریشه گیاهان آلوده نسبت به ریشه نهال‌های غیر آلوده از رشد کمتری برخوردار بودند و علاوه بر تغییر رنگ طول کمتری نیز داشتند.

جداسازی و شناسایی عامل بیماری

با کشت قطعات آلوده ریشه بر روی محیط کشت PDA پرکنه‌های سفید تا کرم رنگی پس از ۳-۴ روز مشاهده گردید. به طور کلی بر اساس خصوصیات ریخت شناختی و با استفاده از کلیدهای شناسایی موجود، همه ۴۶ جدایه‌ای که از بافت‌های آلوده ریشه و طوقه نهال‌های پسته جداسازی گردید به عنوان *Fusarium solani* شناسایی شدند.

آزمون بیماری‌زایی

بر اساس نتایج حاصل از مایه‌زنی دانه‌های پسته با جدایه‌های *F. solani*، علائم بیماری پس از ۳۰-۲۵ روز و به صورت زردی و پژمردگی مشاهده گردید (شکل ۱). علائم ابتدا بر روی برگ‌های پایینی مشاهده شد و کم کم بر روی برگ‌های بالایی نیز گسترش یافت. با پیشرفت بیماری، علائم در نهایت به صورت خشک شدن کامل دانه‌ها دیده شد. به طور کلی گیاهان مایه‌زنی شده نسبت به گیاهان شاهد از رشد کمتر برخوردار بودند. جهت بررسی علائم زیرزمینی، دانه‌ها به آرامی و به طور کامل از خاک خارج شدند. علائم بیماری بر روی ریشه‌ها به صورت پوسیدگی سیاه رنگ و از بین رفتن ریشه‌های فرعی قابل مشاهده بود که در مواردی این تغییر رنگ تا ناحیه طوقه نیز دیده می‌شد (شکل ۲). در حالی که گیاهان شاهد هیچ گونه علائمی نداشتند. برای انجام آزمون کخ، قطعاتی از ریشه‌های آلوده به طول ۳-۴ میلی‌متر تهیه و بعد از ضدعفونی و شستشو با آب مقطر سترون بر روی محیط کشت PDA کشت داده شدند. با نگهداری تشک‌های پتری حاوی قطعات در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد جدایه‌های مایه‌زنی شده مجدداً از ریشه گیاهان مایه‌زنی شده جداسازی و شناسایی شدند. هیچ گونه جدایه قارچی از ریشه گیاهان شاهد جداسازی نگردید.



بحث

بررسی نهال‌های دارای علائم زردی، کم‌رشدی، کم‌برگی و پژمردگی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که ریشه گیاهان بیمار نسبت به ریشه گیاهان سالم از رشد کمتری برخوردار بودند و بیشتر ریشه‌های جانبی از بین رفته و علائم پوسیدگی نیز بر روی ریشه‌ها و طوقه قابل مشاهده بود. با کشت آزمایشگاهی ریشه‌های آلوده، تعداد ۴۶ جدایه *F. solani* از ریشه و طوقه نمونه‌های بیمار جداسازی و شناسایی گردید بررسی‌های اخیر در کشور تونس نشان داد که *F. solani* به عنوان یکی از عوامل اصلی پوسیدگی ریشه در درختان و نهال‌های پسته (*Pistacia vera*) در شرایط مزرعه‌ای و نهالستان‌ها می‌باشد که با فراوانی بالا از ریشه درختان و نهال‌های پسته با علائم مختلف بیماری از جمله پژمردگی و سرخشکیدگی جداسازی و شناسایی شده است. نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی در مطالعه حاضر نشان داد که *F. solani* قادر به ایجاد بیماری بر روی نهال‌های مایه‌زنی بوده و علائم بیماری ۳۰-۲۵ روز بعد از مایه‌زنی به صورت زردی، کم‌رشدی، پژمردگی و در نهایت مرگ گیاهان مشاهده گردید. تریکی و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که جدایه‌های *F. solani* که از درختان و نهال‌ها بیمار بدست آمده‌اند بر روی نهال‌های مایه‌زنی شده در شرایط گلخانه‌ای بیماری‌زا هستند و علائمی شامل قهوه‌ای شدن و افتادگی برگها، پژمردگی قسمت‌های انتهایی و در نهایت مرگ گیاهان مایه‌زنی شده را بعد از سه هفته گزارش کردند. اگر چه در این مطالعه و با توجه به نمونه‌برداری‌های انجام شده *F. solani* به عنوان عامل اصلی پوسیدگی ریشه نهال‌های پسته شناسایی گردید ولی نمونه‌برداری‌های بیشتر از نهالستان‌های موجود می‌تواند در جداسازی و شناسایی سایر عوامل قارچی مؤثر باشد. با توجه به موارد ذکر شده، بازدید و نمونه‌برداری گسترده‌تر از نهال‌های پسته به خصوص ارقام مختلف و حتی سنین مختلف در استان لازم و ضروری به نظر می‌رسد. در ایران *F. solani* f. sp. *pisi* یکی از گونه‌های مهمی است که باعث ایجاد پوسیدگی سیاه ریشه در نخود و نخود فرنگی می‌شود.

منابع

- Bentley AR, Cromey M G, Farrokhi-Nejad R, Leslie JF, Summerell BA, Burgess LW, (2006). Fusarium crown and root rot pathogens associated with wheat and grass stem bases on the South Island of New Zealand. *Australasian Plant Pathol.* 35(5): 495-502.
- Bockus WW, Bowden RL, Hunger RM, Morrill WL, Murray TD, Smiley RW, (2007). *Compendium of Wheat Diseases and Insects*, 3rd Edition. APS Press, St. Paul, MN.
- Burgess, L. W., General Ecology of The Fusaria. In: *Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy*. (Eds PE Nelson, TA Toussoun and R J cook), part II, The Pennsylvania state University press, University Park., pp: 225-236, 1981.
- Burgess, L. W., Summerell, B. A., Bullock, S., Gott, K. P., and Backhouse, D. 1994. *Laboratory Manual for Fusarium Research*. University of Sydney 133p.
- Nelson P E, Toussoun T A and Marasas W F O. *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. Pennsylvania State University Press, University Park, PA. 1983, pp: 8-11.
- Quimio TH. Pathogenicity and cultural characteristics of *Fusarium solani* from papaya. *Kalikasan Philippine J. of Biology*, 1976; 5: 241- 250.
- Saremi H, Jafary H, Ammarlou A, (2007). Incidence of crown rot disease of wheat caused *Fusarium pseudograminearum* as a new soil born fungal species in north west Iran. *Pak. J. Biol. Sci.* 10(20): 3606-3612.
- Triki, M.A., Rhouma, A., Chaabouni, A.C. and Ios, R. 2011. Emergence of *Fusarium solani* causing root rot of pistachio trees in Tunisia. *Acta Horticulturae. (ISHS)* 912:717-721.
- Torp M, Langseth W. Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae* *Mycopathologia*, 1999; 147: 2: 89-96.
- Yagen B and Joffe A Z. Screening of toxic isolates of *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichiodes* involved in causing alimentary toxic aleukia, *Appl Environ Microbiol*, 1976; 32: 3: 423-427.

Root rot Disease of pistachio seedlings by *Fusarium solani* in Kerman province
Fahimeh Salajegheh Tzrjy^{1*}, Hamid Mohammadi² and Mahdi Sarcheshmehpour³

1 * - M.S. Student of Soil Science, Shahid Bahonar University of kerman, Kerman-Iran.

2 - Assistant Professor, Dep. of Plant Protection, Shahid Bahonar University of kerman, Kerman-Iran.

3 - Assistant Professor, Dep. of Soil Science, Shahid Bahonar University of kerman, Kerman-Iran.

*Corresponding Author: Fahimeh Salajegheh Tzrjy

Abstract

This study was conducted in Kerman province during the spring and summer for evaluating the agent of root rot disease of pistachio seedlings in Mahan and Bardsir by visiting and sampling of seedlings with yellowish, low leaf, low growth and wilting symptoms. Disease agent were Isolated from the crown and root of infected plants using potato dextrose agar (PDA). In this study, 46 isolates of *Fusarium* were isolated from infected seedlings and was identified as *Fusarium solani* based on morphological characteristics and cognitive medium. Disease induction was tested on badami zarandi cultivar in greenhouse condition. The results showed that the inoculated isolates are pathogenic and yellowish, low leaf, low growth and wilting symptoms were visible after 25 – 30 days. The inoculated isolates were isolated and identified again from infected plants root for Koch testing.

Keywords: root rot, pistachio, Kerman, *Fusarium solani*