پوسیدگی طوقه و ریشه نهال‌های پسته در اثر *Fusarium solani* در استان کرمان

فهیمه سلاجقه تذرجی[۱]، حمید محمدی*[۲] و مهدی سرچشمه‌پور[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۹

چکیده

در طول بهار و تابستان سال ۱۳۹۱ جهت مطالعه زوال نهال‌های پسته از برخی نهالستان‌های استان کرمان بازدید به عمل آمد. از نهال‌های بیمار با علائم زردی، پژمردگی، کم‌برگی، کوتولگی و پوسیدگی ریشه نمونه‌برداری و به آزمایشگاه منتقل گردید. برای جداسازی عوامل بیماری، قطعات کوچکی از ریشه‌های آلوده پس از ضدعفونی سطحی با محلول سفیدکننده ۱۰ درصد و شستشو با آب مقطر سترون، بر روی محیط کشت PDA کشت داده شده و در دمای ۲۵°C نگهداری شدند. در این تحقیق ۸۱ جدایه قارچی از نهال‌های آلوده به دست آمد که *Fusarium solani* با ۴۶ جدایه (۵۶/۷۹ درصد کل جدایه‌ها) بیشترین فراوانی را داشت. آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه با استفاده از جدایه‌های *F. solani* بر روی سه رقم بادامی، سرخس و قزوینی انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و چهار تکرار انجام شد. خاک گلدان‌ها با ۵۰ گرم بر کیلوگرم از مایه قارچ (مخلوط ۵۰:۵۰ از بذور کلنیزه شده گندم با قارچ و ماسه سترون) مایه‌زنی شدند و گلدان‌های بدون مایه قارچ نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. شاخص‌های رشد گیاه شامل تعداد برگ، طول ساقه و شاخص بیماری‌زایی دو ماه پس از مایه‌زنی دانهال‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها بر اساس نرم‌افزار SAS آنالیز و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن ارزیابی شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده دو رقم قزوینی و بادامی به ترتیب به عنوان مقاوم‌ترین و حساس‌ترین رقم شناسایی شدند. اثبات بیماری‌زایی با جداسازی و شناسایی مجدد بیمارگر از نهال‌های مایه‌زنی شده انجام گرفت.

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

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

[۲] دانشیار بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

[۳] استادیار بخش علوم خاک دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

* ایمیل نویسنده مسئول: (hmohammadi@uk.ac.ir)

مقدمه

پسته درختی است که از دیرباز در نقاط مختلف ایران مورد کشت و پرورش قرار گرفته و از نظر ارزش اقتصادی به عنوان یک محصول استراتژیک، جایگاه خاصی را در بین محصولات کشاورزی دارا می‌باشد (۲). سطح زیر کشت پسته در ایران در سال ۱۳۸۹ حدود ۴۳۱ هزار هکتار بوده که ۸۸ درصد آن درختان بارور و ۱۲ درصد بقیه غیربارور بوده است و استان کرمان با ۷۳/۶ درصد سطح بارور پسته کشور، مقام اول تولید پسته را داشته است (۱). تاکنون بیماری‌های قارچی مختلفی از پسته گزارش شده که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به گموز پسته در اثر گونه‌های مختلف *Phytophthora*، پژمردگی ورتیسلیومی، نماتود ریشه گرهی و سرخشکیدگی اشاره نمود (۳ و ۱۳) و پوسیدگی ریشه در اثر فوزاریوم اشاره نمود (۱۵ و ۱۷ و ۲۲ و ۲۳). به طور کلی گونه‌های فوزاریوم به علت فراوانی در خاک و ارتباط با ریشه گیاهان، اغلب به عنوان قارچ‌های خاکزاد و به صورت بیمارگر و پوده‌رست مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۶). یکی از گونه‌های مهم در این جنس *Fusarium solani* (Mart.) Sac (با شکل جنسی *Necteria haematocca* Ber. & Br.) است که قادر است ریشه و طوقه گیاهان مختلف را آلوده کرده و پس از ورود به آوندهای چوبی، باعث پوسیدگی ریشه، پژمردگی و بوته‌میری گردد. این گونه در گیاهان مختلف از قبیل خربزه، کنجد، سیب‌زمینی، کنف، پنبه و خیار باعث ایجاد بوته‌میری می‌شود (۱۴ و ۱۶). در ایران گونه‌های مختلف این جنس با ایجاد پوسیدگی خشک ریشه و طوقه باعث کاهش محصول در گیاهان مختلفی از جمله سیب‌زمینی، برنج، نخود و لوبیا می‌شوند (۱۹). بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ در کشور تونس انجام شده است، گونه *F. solani* به عنوان عامل اصلی پوسیدگی ریشه درختان و نهال‌های پسته معرفی شده است و از درختان و نهال‌های دارای علائم پژمردگی و سرخشکیدگی جداسازی و گزارش شده است (۲۱). طی بازدیدهایی که در بهار سال ۱۳۹۱ از برخی نهالستان‌های پسته استان کرمان به عمل آمد علائم مختلف بیماری شامل زردی، برگ‌ریزی، کوتولگی، سرخشکیدگی و پوسیدگی ریشه در بسیاری از نهال‌های پسته مشاهده شد. با توجه به اینکه که تاکنون در ایران و به خصوص در استان کرمان مطالعات چندانی در خصوص زوال نهال‌های پسته انجام نشده است این تحقیق با هدف جداسازی، شناسایی و بررسی بیماریزایی عامل اصلی زوال نهال‌های پسته در نهالستان‌های استان کرمان انجام گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی عامل بیماری

در این تحقیق به منظور مطالعه عامل زوال نهال‌های پسته، از ۲۱ واحد تولید نهال در مناطق بردسیر و ماهان در استان کرمان طی فصول بهار و تابستان ۱۳۹۱ بازدید به عمل آمد و از نهال‌های بیمار با علائم مختلف شامل زردی، برگ‌ریزی، پژمردگی، کوتولگی و سرخشکیدگی نمونه‌برداری گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده با ثبت مشخصات مربوطه به آزمایشگاه منتقل شدند. نهال‌های آلوده در آزمایشگاه به طور کامل از خاک خارج و ریشه و طوقه آنها به طور کامل با آب شسته شد. جداسازی عامل بیماری از بافت‌های آلوده و تغییر رنگ داده ریشه و طوقه و با استفاده از محیط کشت عصاره سیب‌زمینی-آگار (PDA، مرک آلمان) انجام گردید. بدین منظور ابتدا بخش‌هایی از ریشه و طوقه به قطعات ۵-۳ میلی‌متری بریده شده و به مدت ۲-۱/۵ دقیقه در محلول سفیدکننده ۱۰ درصد ضدعفونی شده و سه مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند. قطعات سترون شده بر روی دستمال کاغذی استریل در زیر هود لامینار خشک و بر روی محیط کشت PDA کشت داده شدند. تشتک‌های پتری جهت رشد پرگنه‌های قارچی از بافت‌های کشت داده شده در دمای ۲۵°C نگهداری شدند. پرگنه‌های قارچی به‌دست آمده به روش تک اسپور و یا نوک ریسه خالص گردیدند و جهت مراحل بعدی در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت PDA و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

شناسایی جدایه‌های قارچی

جدایه‌های قارچی به دست آمده بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی شناسایی شدند. برای تشخیص جدایه‌های فوزاریوم از محیط کشت‌های برگ میخک-آگار (carnation leaf-piece agar) و ساقه گندم- آگار (wheat stem agar) جهت تولید اسپورودوکیوم و ماکروکنیدیوم‌ها، محیط کشت PDA اسیدی برای بررسی خصوصیات پرگنه‌ها و میکروکنیدیوم‌ها و از محیط کشت آب- آگار- کلرید پتاسیم برای بررسی زنجیره میکروکنیدیوم‌ها استفاده گردید. برای اینکار ابتدا هر جدایه به محیط کشت آب-آگار حاوی کلرید پتاسیم و قطعات اتوکلاو شده ساقه گندم، ساقه یونجه و یا برگ میخک منتقل و جهت تولید اسپورودوکیوم در شرایط نوری و دمای ۲۵°C نگهداری شدند. شناسایی جدایه‌های به‌دست آمده بر اساس محیط کشت، ساختارهای میکروسکوپی و با استفاده از کلیدهای شناسایی موجود انجام شد (۷).

آزمون بیماری‌زایی بر روی ارقام پسته

با توجه به اینکه جدایه‌های *F. solani* به‌دست آمده نسبت به سایر جدایه‌ها از فراوانی بسیار بیشتری برخوردار بودند بیماری‌زایی این گونه در شرایط گلخانه‌ای بر روی ارقام معمول پسته (بادام، سرخس و قزوینی) مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی از دو جدایه *F. solani* (جدایه F1 با اسپورودکیوم آبی‌رنگ مربوط به منطقه بردسیر و جدایه F2 با اسپورودکیوم کرم‌رنگ از منطقه ماهان) استفاده شد. برای اینکار ابتدا بذور پسته به مدت ۱۵-۱۲ دقیقه با محلول

سفیدکننده ۱۰ درصد ضدعفونی شده 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. ظروف حاوی بذرها در دمای ۲۵°C قرار داده شدند. بعد از ۸-۷ روز بذور جوانه زده به طور مستقیم در گلدان‌های حاوی خاک سترون و مایه قارچ کشت و تحت شرایط گلخانه نگهداری شدند. از آنجایی که برگ‌ریزی و کاهش رشد به عنوان مهم‌ترین علائم بیماری تقریباً در تمام نهالستان‌های مورد بررسی مشاهده گردید این دو فاکتور همراه با شاخص بیماری در سه رقم نامبرده مورد بررسی قرار گرفتند.

تهیه مایه قارچ

برای تهیه مایه *F. solani* از روش وسترلاند و همکاران (۲۴) (آلوده کردن بذور گندم به قارچ) استفاده گردید. در این روش از فلاسک‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۳۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. در هر فلاسک مقداری بذر گندم ریخته شد به طوری که ۴-۳ 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°C و فشار ۱ اتمسفر) سترون شدند. سپس ۵-۴ قرص میسیلیومی (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°C درجه 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 گردید.

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 شد. گلدان‌های کشت شده در دمای ۲۵°C در گلخانه نگهداری شدند و جهت مشاهده و ثبت علائم بیماری روزانه از آنها بازدید به عمل آمد. این آزمایش شامل سه تیمار (دو جدایه قارچ و یک تیمار شاهد) بود که در قالب یک طرح فاکتوریل با چهار تکرار انجام شد. پس از دو ماه، گیاهان مایه‌زنی شده از نظر ارتفاع ساقه، تعداد برگ و از نظر شاخص بیماری مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی شاخص بیماری از مقیاس ۶ درجه‌ای (۵-۰) پیشنهاد شده توسط کرفت و کالسر (۱۲) و کرفت و همکاران (۱۱) استفاده گردید. از آنجایی که رقم بادامی به عنوان پایه غالب پسته‌کاری در

استان کرمان مورد استفاده قرار می‌گیرد تأثیر دو جدایه نامبرده شده از *F. solani* بر روی شاخص‌های دیگر رشد شامل طول ریشه و همچنین وزن تر و خشک ریشه و ساقه دانهال‌های این رقم در شرایط گلخانه‌ای نیز مورد بررسی قرار گرفت. آزمون بیماری‌زایی مشابه آنچه که قبلاً گفته شد در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و ۱۰ تکرار (هر تکرار با ۳ گیاه) انجام شد. گیاهان مایه‌زنی شده پس از دو ماه جمع‌آوری و پس از خارج کردن کامل ریشه آنها از خاک فاکتورهای مختلف رشد مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری وزن خشک ساقه و ریشه ابتدا این بخش‌ها از یکدیگر جدا و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. بعد از این مدت وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) تجزیه واریانس شد و مقایسه میانگین آنها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۱٪=α) انجام گردید.

نتایج و بحث

نمونه‌برداری و بررسی علائم بیماری

در این مطالعه از ۷۹ نهال پسته بیمار مربوط به نهالستان‌های استان کرمان که دارای علائم هوایی بیماری به صورت کاهش رشد، زردی، پژمردگی برگ‌ها، برگ‌ریزی و خشک شدن کامل گیاه بودند، نمونه‌برداری گردید. بعد از خروج کامل گیاهان بیمار از خاک علائم بیماری به صورت پوسیدگی سیاه‌رنگ ریشه و طوقه، کم حجم بودن توده ریشه، از بین رفتن ریشه‌های فرعی و کاهش طول ریشه‌ها نسبت به گیاهان سالم نیز قابل مشاهده بود.

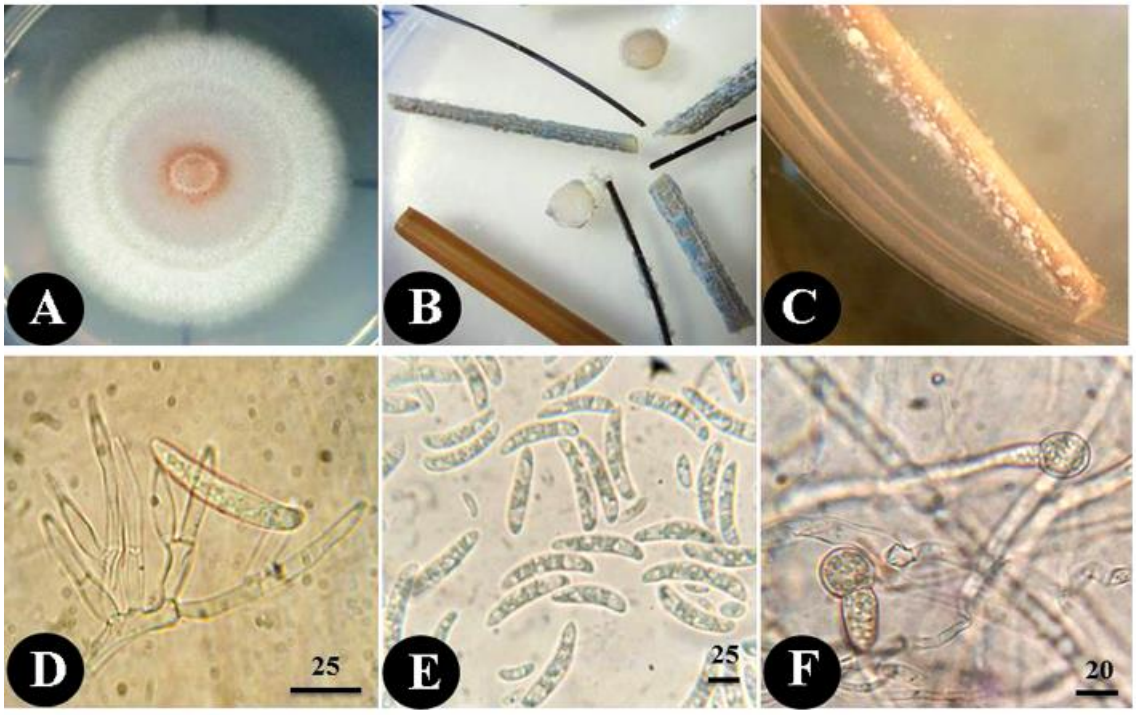
جداسازی و شناسایی عامل بیماری

در طول این بررسی ۸۱ جدایه قارچی از نهال‌های بیمار جداسازی گردید که در این میان جدایه‌های *F. solani* و *Rhizoctonia solani* با ۴۶ (۵۶/۷۹ درصد) و سه جدایه (۳/۷۱ درصد) به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فراوانی بودند (جدول ۱). در این مطالعه ۵۳ جدایه فوزاریوم از نهال‌های بیمار به دست آمد که با انتقال جدایه‌های خالص به محیط کشت آب-آگار حاوی کلرید پتاسیم و قطعات سترون شده ساقه گندم، ساقه یونجه و یا برگ میخک و در نظر گرفتن ویژگی‌های میکروسکوپی و محیط کشت سه گونه *F. oxysporum* (۷ جدایه)، *F. solani* (۴۶ جدایه) و *F. equiseti* (۶ جدایه) شناسایی شدند. برخی از مهم‌ترین ویژگی‌های محیط کشت و میکروسکوپی دو جدایه از *F. solani* (جدایه‌های F1 و F2) در شکل (۱) نشان داده شده است.

جدول۱- محل، تعداد و درصد جدایه‌های قارچی به دست آمده از نهال‌های پسته بیمار در استان کرمان

جدایه‌ها	تعداد	درصد*	محل جداسازی
Fusarium oxysporum	۷	۸/۶۴	Mahan, Bardsir, Kerman
Fusarium solani	۴۶	۵۶/۷۹	Mahan, Bardsir, Kerman
Trichoderma viride.	۵	۶/۱۷	Mahan, Bardsir, Kerman
Rhizoctonia solani	۳	۳/۷۱	Mahan, Kerman
Cylindrocarpon sp.	۵	۶/۱۷	Bardsir
Aspergillus sp.	۵	۶/۱۷	Mahan, Bardsir
Penicillium sp.	۴	۴/۹۴	Mahan, Bardsir, Kerman
Fusarium equiseti	۶	۷/۴۱	Mahan, Bardsi

*: نسبت به کل جدایه‌های به دست آمده (۸۱ جدایه).



شکل ۱- برخی از ویژگی‌های محیط کشت و میکروسکوپی جدایه‌های *Fusarium solani*: (A)- پرگنه ۶ روزه بر روی محیط کشت PDA، (B) و (C)- تشکیل اسپورودوکیوم آبی‌رنگ (در جدایه F1) و کرم‌رنگ (در جدایه F2) بر روی ساقه‌های یونجه و گندم، (D)- فیالیدها، (E)- ماکروکنیدیوم و میکروکنیدیوم‌ها (یک و دو سلولی)، (F)- تشکیل کلامیدوسپورهای تکی و دو تایی (اندازه‌ها بر اساس میکرون می‌باشد).

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های *F. solani* بر روی ارقام پسته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی اندازه‌گیری شده نشان داد که ارتفاع ساقه و تعداد برگ در سطح ۱ درصد در ارتباط متقابل ارقام پسته و قارچ *F. solani* دارای اختلاف معنی‌داری هستند (جدول ۲). بر اساس

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ و رقم از نظر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در ارقام تلقیح شده با قارچ فوزاریوم، رقم بادامی و رقم قزوینی به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین رقم شناسایی شدند. نتایج نشان داد که رقم بادامی از نظر شاخص‌های مورد بررسی (ارتفاع ساقه و تعداد برگ) دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به دو رقم دیگر است. نتایج مشابه‌ای نیز از نظر مقایسه شاخص بیماری در سه رقم مورد بررسی به دست آمد (جدول ۳). بر این اساس شاخص بیماری بر روی رقم قزوینی در اثر دو جدایه F1 و F2 از *F. solani* به ترتیب ۱/۳۳ و ۱/۸۲ ارزیابی گردید در حالی که این شاخص‌ها برای رقم بادامی به ترتیب ۲/۸۸ و ۴/۳۲ تعیین گردید.

جدول ۲- تجزیه واریانس تیمارها از نظر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در سه رقم پسته مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	
		ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	تعداد برگ
رقم	۲	۸۷/۶۵**	۱۰/۱۹**
قارچ	۲	۲۳/۹۶**	۶/۳۶**
رقم × قارچ	۴	۳/۶۶**	۱/۶۹**
خطا	۲۴	۰/۲۳	۰/۲۲
ضریب تغییرات C.V		۴/۴۲	۶/۹

**معنی‌دار در سطح یک درصد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ و رقم بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در سه رقم پسته مورد بررسی

ارقام پسته	F0			F1			F2		
	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	تعداد برگ	شاخص بیماری(۵-۰)	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	تعداد برگ	شاخص بیماری(۵-۰)	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	تعداد برگ	شاخص بیماری(۵-۰)
بادامی	۱۰/۲۵^{c}	۷^{b}	۰	۷/۷۵^{d}	۶^{c}	۲/۸۸	۵/۵^{e}	۴/۵^{d}	۴/۳۲
سرخس	۱۳/۳۷^{a}	۷/۷۵^{a}	۰	۱۲/۳۷^{b}	۷^{b}	۲/۲۷	۱۰/۶۲^{c}	۶^{c}	۲/۷۵
قزوینی	۱۳/۳۲^{a}	۷/۵^{ab}	۰	۱۲/۸^{ab}	۸^{a}	۱/۳۳	۱۲/۳۵^{b}	۷/۵^{ab}	۱/۸۲

بررسی تأثیر جدایه‌های *F. solani* بر شاخص‌های مختلف در رقم بادامی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص‌های مختلف شامل ارتفاع ریشه، وزن تر و خشک ریشه و ساقه اندازه‌گیری شده در رقم بادامی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد میان تیمارها وجود دارد (جدول۴). علائم بیماری بر روی بخش‌های هوایی گیاهان مایه‌زنی شده ابتدا به صورت کاهش رشد، پژمردگی و ریزش برگ‌ها بود که با پیشرفت بیماری در نهایت به صورت خشک شدن کامل دانهال‌ها مشاهده گردید (شکل ۲). مایه‌زنی دانهال‌ها با جدایه‌های F1 و F2 باعث کاهش میانگین وزن تر ساقه (به ترتیب ۲۲/۵ و ۲۵/۴ درصد) و میانگین وزن خشک ساقه

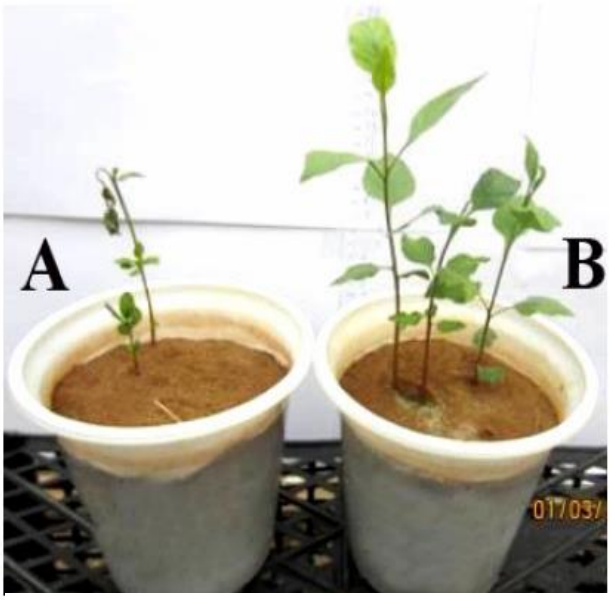
(به ترتیب ۲۷/۸ و ۳۲/۷ درصد) گردید که از این نظر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای قارچی با شاهد و همچنین بین دو تیمار قارچی مشاهده شد (شکل ۴ و ۵). بر اساس نتایج فوق جدایه F2 نسبت به F1 بیماری‌زایی بیشتری نشان داد و تأثیر بیشتری در کاهش رشد نهال‌ها داشت. با توجه به شکل‌های ۴ و ۵ بیشترین وزن تر و وزن خشک ساقه نیز مربوط به تیمار شاهد بود. علائم بیماری بر روی ریشه‌های گیاهان مایه‌زنی شده به صورت پوسیدگی سیاه‌رنگ و از بین رفتن ریشه‌های فرعی دیده شد که در مواردی این تغییر رنگ تا ناحیه طوقه نیز قابل مشاهده بود (شکل ۳).

جدول ۴- تجزیه واریانس تیمارها از نظر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در دانهال‌های رقم بادامی مایه‌زنی شده با جدایه‌های *Fusarium solani*

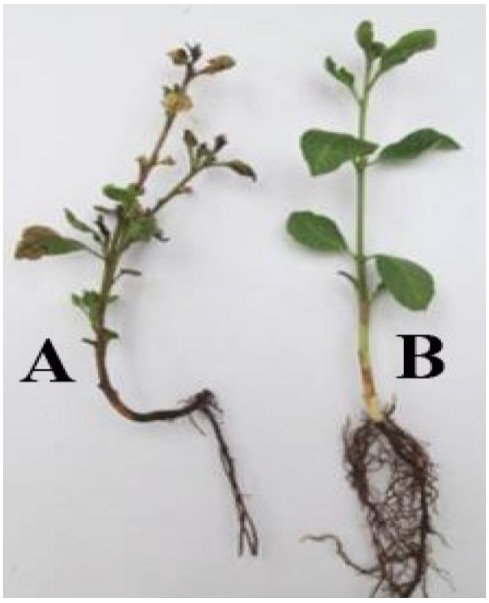
منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)				
		ارتفاع ریشه (سانتی‌متر)	وزن تر ساقه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
تیمار	۲	۱۱۸/۰۳**	۰/۳۸**	۰/۰۷۴**	۰/۳۳**	۰/۱۲**
خطا	۲۷	۰/۸۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۸
ضریب تغییرات C.V		۶/۱۳	۳/۳۵	۹/۱۳	۶/۳۴	۱۳/۰۵

**معنی‌دار در سطح یک درصد.

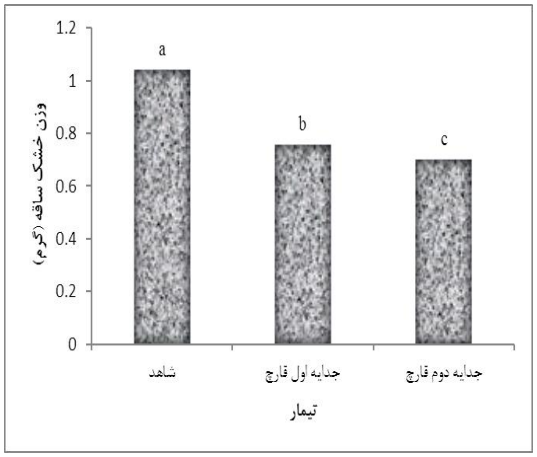
هیچ یک از علائم فوق در گیاهان شاهد دیده نشد. با کشت قطعاتی از ریشه و طوقه در گیاهان مایه‌زنی شده با *F. solani*، پرگنه‌های قارچ‌های مایه‌زنی شده بعد از ۳-۲ روز مجدداً از حاشیه قطعات کشت داده شده جداسازی و شناسایی گردیدند در حالی که از ریشه و طوقه گیاهان شاهد هیچ جدایه قارچی جداسازی نگردید. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین ارتفاع، وزن تر و وزن خشک ریشه مربوط به تیمار شاهد بود. در این خصوص جدایه F1 میانگین ارتفاع ریشه را ۳۰/۴ درصد نسبت به شاهد کاهش داد و از نظر آماری با جدایه F2 اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۶). همچنین جدایه قارچی F1 میانگین وزن تر و خشک ریشه را به ترتیب ۲۵/۴ و ۵۵/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش داد که از این نظر نیز بین دو جدایه F1 و F2 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۷ و ۸).



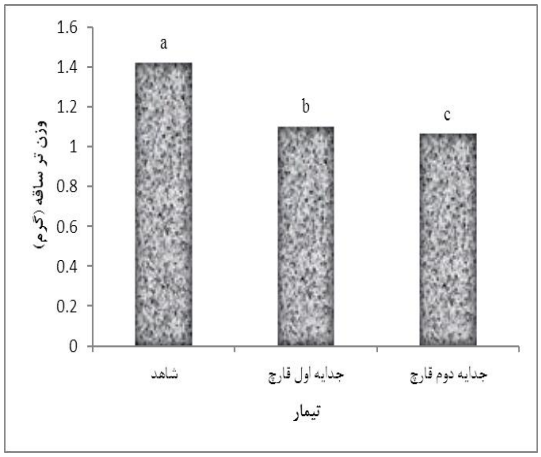
شکل ۲- علائم بیماری به صورت کاهش رشد و پژمردگی در نهال‌های پسته (رقم بادامی) مایه‌زنی شده *Fusarium solani* (جدایه F2) (A) در مقایسه با گیاهان شاهد (B) ۳۰ روز بعد ازعمل مایه‌زنی در شرایط گلخانه.



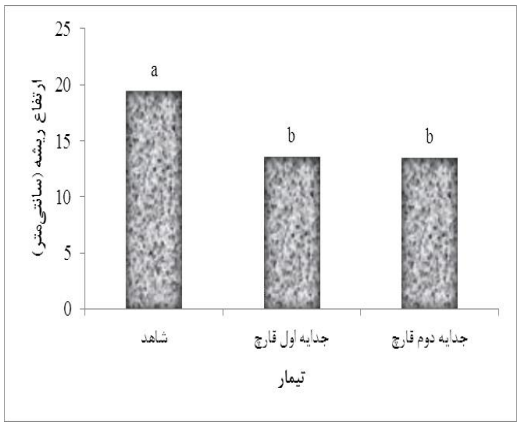
شکل ۳- علائم بیماری به صورت کاهش رشد و پوسیدگی ریشه در نهال پسته (رقم بادامی) مایه‌زنی شده با *Fusarium solani* (جدایه F2) (A) در مقایسه با ریشه گیاه شاهد (B)، ۳۰ روز پس از عمل مایه‌زنی در شرایط گلخانه.



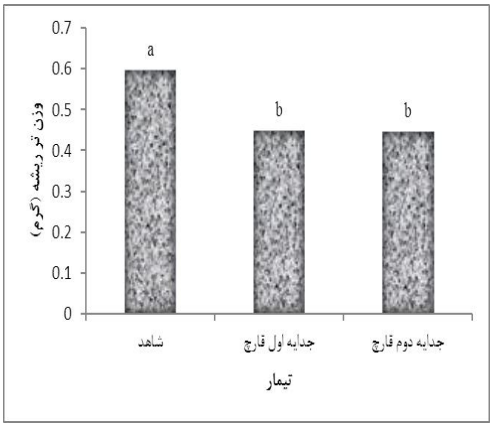
شکل ۴- مقایسه میانگین وزن تر ساقه نهال‌های پسته (رقم بادامی) مایه‌زنی شده با *Fusarium solani* در سه تیمار شاهد، جدایه F1 و جدایه F2 از *Fusarium solani*.



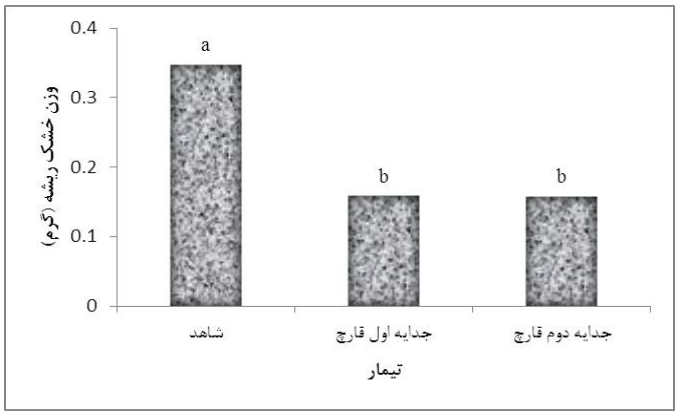
شکل ۵- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه نهال‌های پسته (رقم بادامی) مایه‌زنی شده با *Fusarium solani* در سه تیمار شاهد، جدایه F1 و جدایه F2 از *Fusarium solani*.



شکل ۶- مقایسه میانگین ارتفاع ریشه نهال‌های پسته (رقم بادامی) مایه‌زنی شده با *Fusarium solani* در سه تیمار شاهد شاهد، جدایه F1 و جدایه F2 از *Fusarium solani*.



شکل ۷- مقایسه میانگین وزن تر ریشه نهال‌های پسته (رقم بادامی) مایه‌زنی شده با *Fusarium solani* در سه تیمار شاهد، ، جدایه F1 و جدایه F2 از *Fusarium solani*



شکل ۸- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه نهال‌های پسته (رقم بادامی) مایه‌زنی شده با *Fusarium solani* در سه تیمار شاهد، جدایه F1 و جدایه F2 از *Fusarium solani*.

بحث

در این بررسی ۵۳ جدایه فوزاریوم از نهال‌های پسته بیمار در استان کرمان به‌دست آمد که بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و محیط کشت ۴۶ جدایه *F. solani* تشخیص داده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان این گونه را یکی از مهم‌ترین عوامل بیمارگر نهال‌های پسته در مناطق نمونه‌برداری شده دانست. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که گونه‌های فوزاریوم به عنوان یکی از عوامل اصلی خاکزاد باعث کاهش و خسارت اقتصادی محصولات مختلف در سراسر دنیا می‌شوند (۴ و ۵ و ۱۸). در مطالعه حاضر، علائم بیماری در نهال‌های آلوده به صورت زردی، کم‌برگی، پژمردگی، کاهش رشد و خشکیدگی کامل مشاهده گردید و با بررسی بخش‌های زیرزمینی علائم بیماری بر روی طوقه و ریشه‌ها به صورت پوسیدگی خشک و سیاه‌رنگ قابل مشاهده بود. علائم مختلفی مانند زردی، پژمردگی، کم‌برگی،

پوسیدگی ریشه‌ها و سیاه شدن آن‌ها در اثر گونه‌های مختلف جنس فوزاریوم و بر روی محصولات مختلف گزارش شده است (۲۰). اگرچه عوامل قارچی مختلفی به عنوان مولد پوسیدگی ریشه و طوقه در پسته گزارش شده‌اند ولی در این مطالعه *F. solani* به طور غالب از ریشه و طوقه نهال‌های بیمار پسته جداسازی گردید. طی مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۸ بر روی نهال‌های بیمار و خاک نهالستان‌های مختلف در شهرستان‌های سیرجان، شهربابک، زرند و رفسنجان در استان کرمان انجام شد *Rhizoctonia solani* به عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه نهال‌های پسته گزارش گردید (۹). اگر چه در این مطالعه نیز سه جدایه *R. solani* از نهال‌های بیمار جداسازی گردید ولی نسبت به *F. solani* از فروانی بسیار کمتری برخوردار بود. طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ در کشور تونس انجام شد گونه *F. solani* به عنوان عامل سرخشکیدگی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه درختان و نهال‌های پسته (*Pistacia vera*) در این کشور گزارش شد (۲۱). علاوه بر محصولات زراعی و صیفی *F. solani* به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه در درختان مختلف نیز گزارش شده است. نقش این گونه در ایجاد بیماری بر روی درختان جنگلی همیشه بحث‌انگیز بوده است. مطالعات نشان می‌دهد که *F. solani* یکی از بیمارگرهای مهم نهال‌های درختان جنگلی در خزانه‌هاست. به عنوان مثال این گونه عامل افتادگی و مرگ گیاهچه در دامنه وسیعی از مخروطیان محسوب می‌گردد (۸ و ۱۰). گونه *F. solani* همچنین عامل اصلی زوال و مرگ نهال‌های بلوط در خزانه‌ها نیز گزارش شده است (۱۷). اخیراً در کشور آرژانتین *F. solani* به عنوان عامل اصلی خشکیدگی و مرگ درختان جوان و نهال‌های زیتون (*Olea europaea* L.) از ریشه و طوقه درختان بیمار جداسازی و گزارش شده است (۱۵). نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی در این مطالعه نشان داد که جدایه‌های مورد استفاده بر روی نهال‌های پسته بیماری‌زا بوده و در نتیجه علائم بیماری به صورت زردی، کم‌برگی، کوتولگی، پژمردگی و نهایتاً خشک شدن نهال‌ها مشاهده شد. نتایج مشابهی نیز در مایه‌زنی نهال‌های پسته با *F. solani* در کشور تونس به‌دست آمده است بر این اساس تریکی و همکاران (۲۱) نشان دادند که جدایه‌های *F. solani* که از درختان و نهال‌ها پسته بیمار به‌دست آمده بودند بر روی نهال‌های مایه‌زنی شده در شرایط گلخانه‌ای بیماری‌زا هستند و علائم مختلف بیماری شامل قهوه‌ای شدن و افتادگی برگ‌ها، پژمردگی قسمت‌های انتهایی و در نهایت مرگ گیاهان مایه‌زنی شده را بعد از سه هفته گزارش کردند. یکی از عمومی‌ترین علائم بیماری که در طول این مطالعه در نهالستان‌های مختلف مشاهده شد کاهش تعداد برگ (برگ‌ریزی) و ارتفاع ساقه (کوتولگی) در نهال‌های بیمار نسبت به گیاهان سالم بود. با انجام آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های *F. solani* بر روی سه رقم بادامی، قزوینی و سرخس و در نظر گرفتن طول ساقه، تعداد برگ و همچنین شاخص بیماری، دو رقم بادامی و قزوینی به ترتیب به عنوان حساس‌ترین و مقاوم‌ترین رقم شناسایی شدند. علاوه بر این نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای مختلف رشد

شامل طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه و همچنین وزن تر و خشک ساقه در رقم "بادامی" نیز نشان داد که هر دو جدایه فوزاریوم مورد استفاده باعث کاهش معنی‌دار صفات ذکر شده نسبت به گیاهان شاهد شدند و می توان این گونه را به عنوان یک تهدید جدی برای نهالستان‌های پسته در استان کرمان معرفی نمود. اگر چه در این مطالعه و با توجه به نمونه‌برداری‌های انجام شده *F. solani* به عنوان عامل اصلی زوال نهال‌های پسته شناسایی گردید ولی نمونه‌برداری‌های بیشتر از نهالستان‌های مختلف در استان می‌تواند در جداسازی و شناسایی سایر عوامل قارچی و میزان اهمیت آنها مؤثر باشد. با توجه به موارد گفته شده، بازدید و نمونه‌برداری گسترده‌تر از نهال‌های پسته با ارقام و سنین مختلف در استان کرمان به عنوان یکی از استان‌های اصلی پسته‌کاری کشور لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

۱- بی‌نام. ۱۳۸۹. نتایج طرح آمارگیری نمونه‌ای محصولات باغی سال ۱۳۸۷. وزارت جهاد کشاورزی، معاونت امور برنامه‌ریزی و اقتصادی، دفتر آمار و فناوری اطلاعات، تهران. اسماعیل‌پور، ع. ۱۳۷۶. بررسی اثرات پایه و پیوندک پسته (گزارش پژوهشی). مؤسسه تحقیقات پسته کشور، رفسنجان.

۲- پناهی، ب.، اسماعیل‌پور، ع.، فربود، ف.، مؤذن‌پور کرمانی، م. و ح. فریور مهین. ۱۳۸۱. راهنمای پسته (کاشت، داشت و برداشت). نشر آموزش و ترویج کشاورزی، کرج.

۳- فریور مهین، ح. ۱۳۷۰. آفات و بیماریهای مهم درختان پسته در استان کرمان. انتشارات سازمان ترویج کشاورزی.

4- Bentley, A.R., M.G. Cromey, R. Farrokhi-Nejad, J.F. Leslie, B.A. Summerell and L.W. Burgess. 2006. Fusarium crown and root rot pathogen associated with wheat and grass stem bases on the South Island of New Zealand. Australasian Plant Pathology. 35(5): 495-502.

5- Bockus, W.W., R.L. Bowden, R.M. Hunger, W.L. Morrill, T.D. Murray and R.W. Smiley. 2007. Compendium of Wheat Diseases and Insects, 3rd Edition. APS Press, St. Paul, MN.

6- Burgess, L.W. 1981. 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.

7- Burgess, L.W., B.A. Summerell, S. Bullock, K.P. Gott and D. Backhouse. 1994. Laboratory Manual for Fusarium Research. University of Sydny 133p.

8- Hartley, C., T.C. Merrill and A.S. Rhoades. 1918. Seedling diseases of conifers. Journal of Agricultural Research. 15: 521-558.

9- Ilkhan, L., R. Farrokhi-Nejad, M.M. Aminaee and H. Rahimzadeh-Behzadei. 2011. Rhizoctonia root and crown rot of pistachio and its biological control in Kerman. Iranian Journal of Plant Pathology. 47: 21-23.

10- James, R.L., R.K. Dumroese and D.L. Wenny. 1989. Occurrence; characteristics, and descriptions of *Fusarium* isolates from Douglasfir seed and seedlings. USDA Forest Service, Northern Region, Forest Pest Management Report. 90-4. 23p.

11- Kraft, J.M., M.P. Haware, R.M. Jiménez-Daz, B. Bayaa and M. Harrabi. 1994. Screening techniques and sources of resistance to root rots and wilts in cool season food legumes. Euphytica. 73: 27–39.

12- Kraft, J.M. and W.J. Kalser. 1993. Screening for disease resistance in pea. In: Singh, K. B., Saxena, M. C. (eds), Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes. John Wiley and Sons, New York: 123–144.

13- MacDonald, J.D., L. Bolkan, Z. Banihashemi and S.M., .Mircetich. 1992. Trank and branch canker of pistachio gummosis caused by Phytophthora spp. California Pistachio Industry Annual Reports Crop Year 1991-1992. 162-170.

14- Nelson, P.E., T.A. Toussoun and W.F.O. Marasas. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA. Pp: 8-11.

15- Perez, B.A., O.M. Farinon and M.F. Berretta. 2011. First Report of *Fusarium solani* causing root rot of olive in Southeastern Argentina. Plant Disease. 95: 1476.

16- Quimio, T. H. 1976. Pathogenicity and cultural characteristics of *Fusarium solani* from papaya. Kalikasan Philippine. Journal of Biology. 5: 241- 250.

17- Ragazzi, A., L. Mugnai, S. Moricca, S. Vagniluca and I. Dellavalle. 1993. Requirements and biological aspects of *Fusarium eumartii* and its possible role in oak decline in Northeastern Italian forests. European Journal of Forest Pathology. 23: 171-177.

18- Saremi, H. 2000. Plant Diseases Caused by *Fusarium* Species. Jihad Daneshgahi, Ferdossy Mashhad University, Iran, p.160.

19- Saremi, H., H. Jafary and A. Ammarlou. 2007. Incidence of crown rot disease of wheat caused *Fusarium pseudograminearum* as a new soil born fungal species in North West Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences. 10: 3606-3612.

20- Summerell, B.A., J.F. Leslie, D. Backhouse, W.L. Bryden and L.W. Burgess. 2001. *Fusarium*: Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press. St. Paul- Minnesota. U.S.A. p.392.

21- Triki, M.A., A. Rhouma, A.C. Chaabouni and R. Ioos. 2011. Emergence of *Fusarium solani* causing root rot of pistachio trees in Tunisia. Acta Horticulturae. (ISHS) 912: 717-721.

22- Torp, M. and W. Langseth. 1999. Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae.* Mycopathologia. 147: 89-96.

23- Yagen, B. and A.Z. Joffe. 1976. Screeing of toxic isolates of *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichiodes* involved in causing alimentary toxic aleukia, Applied and Environmental Microbiology. 32: 423-427.

24- Westerlund, F.V., R.N. Campbell and K.A. Kimble. 1974. Fungal root rots and wilt of chickpea in California. Phytopathology. 64: 432-436