بررسی عوامل قارچی همراه با پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان و مطالعه بیماریزایی جدایه های ریز وکتونیای حاصله

زهرا لرکی[۱] *و رضا فرخی نژاد[۲]

۱*- **نویسنده مسؤول:** دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز (v.zarif@ksc.ir)

۲- استاد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت : ۹۱/۴/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۱۳

چکیده

به منظور مطالعه عوامل قارچی همراه با پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان ،طی سال زراعی ۸۶-۱۳۸۵ از گیاهان کلزای دارای علائم پوسیدگی ریشه و طوقه از نقاط مختلف استان نمونه برداری شد.از اندام های آلوده کلزا قطعات کوچکی جدا و بعد از سترون نمودن با اتانول ۷۵ درصد ، روی محیط کشت PDA قرار داده و تعداد۱۶۷ جدایه قارچی جداسازی شد. جدایه ها متعلق به جنس های فوزاریوم، سیلندروکارپون ، فوما و ریزوکتونیا بودند. جدایه های فوزاریوم متعلق به گونه های *F.solani* (۲۳جدایه)، *F. equiseti* (۲۱ جدایه) ، *F. heterosporum* (۶ جدایه) ، *F.nygamai* (۵ جدایه)، *F. chlamydosporum* (۳ جدایه)، *F. semitectum* (۲ جدایه) ، *F. oxysporium* (۲ جدایه) و *F. verticillioides* (۱ جدایه) وجدایه های فوما متعلق به گونه ی *Phoma lingam* بودند. از ۲۳ جدایه قارچ ریزوکتونیا، .تعداد ۱۲جدایه به AG2-1، ۶جدایه بهAG-4 ، ٤جدایه به AG-D و یک جدایه به AG-E متعلق بودند. بررسی بیماریزایی جدایه های ریزوکتونیا روی کلزا نشان دادکه همه جدایه های گروه های آناستوموزی AG2-1 ،AG-4 وAG-D. بیماریزاو جدایه AG-E غیر بیماریزا بود. شدت علائم بیماری بر مبنای طول زخم ایجاد شده بر روی ریشه و طوقه نشان داد که در حال حاضر *Rhizoctonia solani* AG2-1 مهمترین عامل پوسیدگی ریشه و طوقه در استان خوزستان است.

کلید واژه ها: کلزا، گروه آناستوموزی ، بیماری های خاکزی

مقدمه

پوسیدگی ریشه و طوقه یکی از بیماری های قارچی مهم در کلزا است که در بعضی موارد می تواند به مرگ کامل گیاهچه پیش و پس از خروج از خاک منجر شود. (هریسون و لولند[۱]، ۱۹۹۱) تا کنون در جهان عوامل قارچی گوناگونی به عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا شناسایی و گزارش شده اند که ازآن جمله می توان به قارچ هایی نظیر *Fusarium* spp.، *Pythium* spp. و *Rhizoctonia solani* اشاره کرد (استاف[۲]،۲۰۰۲). قارچ ریزوکتونیا یکی از مهمترین عوامل مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا می باشد به طوری که گونه *R. solani* از مناطق مختلف دنیا گزارش و بیماریزایی آن روی کلزا به اثبات رسیده است (کانگورا و باربتی،[۳] ۱۹۹۶؛ ییت بارکو همکاران[۴]، ۱۹۸۷؛ سامنر،[۵] ۱۹۷۴).

بطور کلی بیماری های ریزوکتونیایی در سراسر جهان شیوع دارند. این بیماری ها به بیشتر سبزی ها و گل ها، تعدادی گیاه زراعی، انواع چمن ها و درختان خسارت می زنند. نشانه های بیماری تا حدودی بسته

1- Harrison & Loland
2- Staff
3- Kangura & Barbetti
4- Yitbarek *et al.*
5- Sumner

به گیاه میزبان، مرحله ای که گیاه میزبان آلوده می شود و شرایط جوی تفاوت می کنندکه در کلزا با علائمی مانند گیاهچه میری، زخم های روی ریشه و طوقه و پوسیدگی همراه می باشد (کانگورا و باربتی ۱۹۹۶). در زمینه تعیین گروههای آناستوموزی این قارچ روی کلزا در کانادا تحقیقات بسیاری صورت گرفته است. رایمر و پیتفورد[1] در سال ۱۹۸۲ در ایالت مانیتوبا[2] و کامینسکی و همکاران[3] در سال ۱۹۹۶ در ایالت ساسکاچوان[4] گروه آناستوموزی AG2-1 را از ریشه و طوقه کلزا گزارش نمودند. درغرب کانادا نیز دو گروه آناستوموزی AG-4 وAG 2-1 به عنوان عامل مرگ گیاهچه قبل و بعد از جوانه زنی و بیماری پوسیدگی قهوه ای حلقوی ریشه[5] در کلزا تشخیص داده شدند. همچنین مشخص گردید که گروه آناستوموزی AG2-1 در مقایسه با گروه آناستوموزی AG-4 قدرت بیماریزایی بیشتری داشته و در شرایط دمایی پایین (خنک) خسارت بیشتری را بوجود می آورد (کامینسکی و همکاران ، ۱۹۹۶). یانگ و همکاران[6] (۱۹۹۶) نیز در مرکز و شمال غرب ایالت آلبرتا[7] قارچ *R.solani* با گروه آناستوموزی AG-9 را از ریشه وطوقه کلزا جداسازی کردند. در ایالت جورجیا[8] قارچ *R. solani* با گروه آناستوموزی AG2-1 وAG-4 از ریشه و طوقه کلزا گزارش و بیماریزایی آن به اثبات رسیده است (بیرد[9] ،۱۹۹۶). مطالعات انجام شده در سال ۱۹۹۷ در کانادا و امریکا نشان داد که مهمترین بیمارگر عامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه در کلزا قارچ ریزوکتونیا با گروه آناستوموزی AG-4 وAG2-1 می باشد و گروه آناستوموزی AG2-1 بعنوان عامل مرگ گیاهچه ، پوسیدگی ریشه در گیاهچه ها و گیاهان بالغ کلزا و گروه آناستوموزی AG-4 به عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه در گیاهان مسن معرفی گردید (ورما[10]، ۱۹۹۷).

در سال۲۰۰۳ در واشنگتن از گیاهان کلزای آلوده به بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی حلقوی ریشه دو گروه آناستوموزی AG-8 و AG2-1 جداسازی و گروه آناستوموزی AG2-1 برای اولین بار به عنوان عامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی حلقوی ریشه از این ناحیه گزارش شد (پائولیتز و همکاران[11]، ۲۰۰۶). شرودر و همکاران[12] (۲۰۰۷) آزمون بیماریزایی درمورد جدایه های AG2-1 روی گیاهان مختلفی از جمله کلزا ، نخود، گندم ، جو ، عدس و نخود فرنگی را انجام داده و نتیجه گرفتند که این گروه آناستوموزی روی کلزا به شدت بیماریزا بوده و سبب پوسیدگی هیپوکوتیل گیاهچه های کلزا می شود، در حالیکه روی گندم بیماریزا نیست (شرودر و همکاران ۲۰۰۷). بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در سال ۱۹۹۷ از کشور هلند نیزگزارش و عامل بیماری قارچ ریزوکتونیا با گروه آناستوموزی AG 2-1 گزارش شد. (اشنایدر و همکاران[13]، ۱۹۹۷).

در غرب استرالیا قارچ *R. solani* با دو گروه آناستوموزی AG 2-1 و AG -8 از ریشه و طوقه کلزا جداسازی و گزارش شد که هر دو گروه آناستوموزی به ترتیب باعث تاخیر در ظهور گیاهچه ها (بالا آمدن گیاهچه ها از خاک) و پوسیدگی شدید هیپوکوتیل یا ریشه می شوند. همچنین مشخص شد که گروه آناستوموزیAG2-1 عامل مرگ گیاهچه پس از ظهور گیاه از خاک نیز می باشد (کانگورا و همکاران، ۱۹۹۷). در سال ۱۹۹۹ نمونه برداری از مزارع کلزای این منطقه منجر به شناسایی ۶ گروه زیموگرام شامل سه گروه از ریزوکتونیاهای چند هسته ای-AG2) ZG5

1- Rimmer & Pitfor
2- Manitoba
3- Kaminiski *et al.*
4- Saskachwan
5-Brown gridling root rot
6- Yang *et al.*
7-Alberta
8- Georgia
9- Baird

10 - Verm
11- Paulit *et al.*
12- Schroeder *et al.*
13- Schneider *et al.*

ZG6 (AG2-1), 1 و ZG9 (AG10) وسه گروه از ریزوکتونیای دوهسته ای , CZG1(CAG1) CZG4 , CZG5 (AGK) گردید و مشخص شد که گروه ZG5 (AG2-1) نسبت به سایر گروهها قدرت بیماریزایی بیشتری داشته و عامل حدود ۷۰ درصد مرگ گیاهچه پس از خروج از خاک می باشد. در بازدیدهایی که درطی سالهای ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۸ از مزارع کلزا درغرب استرالیا صورت گرفت، مشخص شدکه گروه آناستوموزی ZG5 (AG2-1) سبب پوسیدگی هیپوکوتیل می شود در حالیکه گروه آناستوموزی ZG1-1(AG8) که در غلات و لگوم ها بیماریزا می باشد عامل پوسیدگی شدید ریشه اصلی در کلزا می باشد، در مقابل، گروه های دیگر مانند CZG1(CAG1) ,CZG4 ,CZG5(AGK) بعنوان بیمارگرهای ضعیفی درکلزا گزارش شدند. (کانگورا و همکاران ۱۹۹۹).

در بررسی هایی که در سال ۲۰۰۳ دراستان کیپ غربی[1] واقع در آفریقای جنوبی بر روی گیاهان از جمله کلزا صورت گرفت، قارچ *R. solani* با گروه آناستوموزی AG 2-1 جداسازی شد. آزمون بیماریزایی در مورد این قارچ نشان داد که این گروه آناستوموزی بر روی کلزا به شدت بیماریزا بوده در حالیکه روی گیاهان یونجه و نوعی باقلا بیماریزایی متوسط ، در جو بیماریزایی ضعیف و در گندم غیر بیماریزا گزارش شد. همچنین در این آزمون بیماریزایی ضعیف گروه آناستوموزی AG-3 در کلزا به اثبات رسید (آنتونی[2]، ۲۰۰۶).

در ایران نیز تا کنون عوامل قارچی مختلفی از ریشه و طوقه کلزا جدا سازی شده که از آن جمله می توان به گونه های مختلف قارچ *Fusarium* spp. (افشاری آزاد و شریفی ۱۳۸۷، نصراللهی و همکاران ۱۳۸۷، مختاری و بنی هاشمی ۱۳۸۹)، قارچ های *sclerotium Sclerotinia* و *R. solani* (افشاری آزاد و شریفی، ۱۳۸۷) ، *Phoma lingam*, (افشاری آزاد و شریفی۱۳۸۷، مختاری وبنی هاشمی ۱۳۸۹) و قارچ *Rhizoctonia cerealis* (مختاری و همکاران ، ۱۳۸۹) اشاره نمود. به علاوه گروه آناستوموزی AG2-1 در استان گلستان (سارانی و همکاران ،۱۳۸۴)، گروههای آناستوموزی AG-D،AG2-2-IIIB و AG-4 در استان فارس (مختاری وبنی هاشمی، ۱۳۸۹) وگروه آناستوموزی AG-8 از مریوان(افشاری آزاد و شریفی ،۱۳۸۷) گزارش شده است . هدف از اجرای این پژوهش جداسازی و شناسایی عوامل قارچی همراه با پوسیدگی ریشه و طوقه گیاه کلزا در استان خوزستان و بررسی بیماری زایی، خصوصیات ریخت شناسی و رفتار آناستو-موزی جدایه های ریزوکتونیا می باشد.

مواد و روش ها

جدا سازی عامل بیماری

گیاهان آلوده از مزارع کلزا در نقاط مختلف استان خوزستان شامل اهواز، ایذه ، دزفول ، شوش ، شوشتر و ملاثانی طی سال زراعی ۸۶-۱۳۸۵ جمع آوری گردیدند. از بافت های پوسیده ریشه و طوقه که علائم آلودگی را نشان می دادند، جداسازی قارچها صورت گرفت. ابتدا طوقه و ریشه آلوده با آب به خوبی شسته شد. سپس از حد فاصل بخش سالم و بیمار بوسیله اسکالپل قطعات کوچکی جدا گردید. این قطعات بوسیله هیپوکلریت سدیم۰/۵ درصد به مدت یک الی سه دقیقه ضد عفونی سطحی شد. نمونه ها دو مرتبه با آب مقطراستریل شسته شده و با کاغذ صافی استریل خشک گردیدند. قطعات گیاه پس از سترون شدن، در تشتکهای پتری حاوی محیط کشتهای آب آگار[3] (WA) و سیب زمینی دکستروزآگار[4](PDA) قرار گرفتند. تشتک های پتری

1- Western Cape
2- Anthony
3- Water Agar (WA)
4- Potato Dexteros Agar (PDA

پتری در دمای اطاق (حدود ۲۵ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. خالص سازی جدایه ها با روش نوک ریسه[1] یا تک اسپور بسته به نوع قارچ روی محیط کشت آب آگار انجام گرفت (سینگلتون و همکاران[2]، ۱۹۹۲).

بررسی خصوصیات مرفولوژیکی جدایه های ریزوکتونیا

جدایه های ریزوکتونیا از نظر ریخت شناسی، تعداد هسته در هر بند ریسه و رفتار آناستوموز مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه ها روی محیط کشت PDA در دمای $^{\circ}C$ ۲۵ رشد داده شدند. رنگ آمیزی هسته ها به دو روش باندونی و همکاران[3] (۱۹۷۹) بااستفاده از سافرانین و به روش بورپی و همکاران[4] (۱۹۷۸) بااستفاده از تریپان بلو[5] انجام گرفت. برای اندازه گیری قطر ریسه ، پس از رنگ آمیزی ریسه ها با آبی پنبه ۰/۵ درصد ، قطر ۵۰ ریسه با میکرومتر چشمی اندازه گیری و میانگین آنها به عنوان قطر ریسه در نظر گرفته شد. رنگ اسکلروتها پس از دو هفته رشد روی محیط کشت PDA تعیین گردید. ابعاد سلولهای تسبیحی با بامیکرومترچشمی اندازه گیری شد.

با استفاده از روش اسلاید پوشیده از آگار (هر و روبرتز[6]،۱۹۸۰) جدایه های ریزوکتونیا با جدایه های استاندارد[7] جفت شدند و سپس جوش خوردگی ریسه ها ها بررسی گردید. هنگامی که ریسه های متقابل به هم رسیدند با قرار دادن یک قطره آبی پنبه ۰/۵ درصد در محل تلاقی، ریسه ها رنگ آمیزی شده و با قرار دادن لامل روی نمونه ها، پیوند بین ریسه های متقابل در بزرگنمایی 40X و 100X بررسی شد.

آزمون بیماریزایی

برای تهیه مایه قارچ از روش اسنه و همکاران[8]، (۱۹۹۱) استفاده شد. ابتدا دانه های گندم به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شدند، سپس دانه های گندم خیس شده درون شیشه های در پیچ دار به مدت نیم ساعت در فشار ۱۵ پوند و دمای $^{\circ}C$ ۱۲۱ در دو روز متوالی سترون گردیدند. از حاشیه پرگنه های سه روزه ی جدایه های ریزوکتونیا ، سه قرص نه میلی متری جدا و درون شیشه های درپیچ دار حاوی گندم قرارگرفت. تا آلوده شدن کامل دانه های گندم ، شیشه های در پیچ دار در دمای$^{\circ}C$۲۵ نگهداری شد و هر سه روز یکبار، شیشه های مایه کوبی شده تکان داده شدند.

برای تهیه گیاهچه ها، ابتدا بذور کلزا با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۵ دقیقه و اتانول ۷۵ درصد به مدت نیم دقیقه ضدعفونی شدند. پس از شستشوی بذور با آب مقطراستریل، بذور درون پتری حاوی کاغذ صافی استریل قرار داده شد و مقداری آب مقطر استریل به درون پتری اضافه گردید. پتری ها به مدت دو روز در شرایط آزمایشگاه نگهداری شد تا بذور جوانه بزنند. گیاهچه های حاصل درون گلدانهای حاوی خاک برگ و ماسه سترون منتقل شدند. گلدانها در شرایط مزرعه به مدت چهار هفته نگهداری شدند. در این مدت گلدانها بطور مرتب آبیاری شدند. برای مایه زنی گیاهچه های کلزا، خاک پای هر گیاهچه کنار زده شد و ۳-۲ دانه گندم پوشیده از قارچ پای هر گیاهچه قرار گرفت و خاک آن برگردانده شد و سپس گلدانها آبیاری شدند. در تیمار شاهد از گندم سترون بدون قارچ استفاده گردید. پس از مایه زنی ،گیاهچه ها تا ۲۰ روز و به فاصله هر دو روز مورد بررسی قرار گرفتند و به محض مشاهده آلودگی علائم حاصل از بیماری بدقت اندازه گیری شد. در این بررسی آزمون بیماریزایی با طرح کاملا تصادفی و با ۵ تیمار و سه تکرار انجام شد.

نتایج

در این تحقیق ۱۶۷ جدایه قارچ از ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان جدا سازی و شناسایی شد. از این تعداد،۶۳ جدایه به جنس فوزاریوم ، شامل

1- Hyphal tip
2- Singelton *et al.*
3- Bandoni *et al.*
4- Burpee *et al.*
5- Trypan blue
6- Herr & Roberts
7- Tester
8- Sneh *et al.*

جدول ۱- محل جمع آوری، اندام گیاهی مورد بررسی ، تعداد جدایه وگونه های فوزاریوم بدست آمده از ریشه و طوقه کلزا درخوزستان

ردیف	محل نمونه برداری	اندام گیاهی	تعداد جدایه	گونه شناسایی شده
۱	دزفول(کشت و صنعت شهید بهشتی)(Dezful)	طوقه	۲	*F.solani*
۲	دزفول(کشت و صنعت شهید بهشتی)(Dezful)	ریشه	۳	*F.equise*
۳	شوشتر(روستای قل رومزی)(Shushtar)	ریشه	۱	*F. verticillioide*
۴	شوشتر(روستای قل رومزی)(Shushtar)	ریشه	۲	*F.equise*
۵	شوش(کشت و صنعت میان آب)(Shush)	ریشه	۲	*F.so*
۶	شوش(روستای عبدالخانی)(Shush)	ریشه	۱	*F.sol*
۷	ایذه(قلعه تل)(Izeh)	ریشه	۱	*F. oxyspor*
۸	ایذه(بارون گرد)(Izeh)	طوقه	۱	*F. oxysporu*
۹	ایذه(قلعه تل)(Izeh)	طوقه	۱	*F.solani*
۱۰	ایذه(روستای چشمه شیرین)(Izeh)	ریشه	۱	*F.equiseti*
۱۱	ایذه(روستای بی بی گل مرده)(Izeh)	طوقه	۲	*F.equiseti*
۱۲	دزفول(شوهان علیا)(Dezful)	ریشه	۳	*F.solani*
۱۳	دزفول(زاویه مرادی)(Dezful)	ریشه	۲	*F.solani*
۱۴	دزفول(کشت و صنعت شهیدرجایی)(Dezful)	ریشه	۲	*F. heterosporu*
۱۵	اهواز(دانشکده کشاورزی)(Ahwaz)	ریشه	۱	*F.solan*
۱۶	ملاثانی (دانشکده رامین)(Mollasani)	ریشه	۱	*F.equise*
۱۷	اهواز(روستای چم دغیم)(Ahwaz)	طوقه	۱	*F.equise*
۱۸	شوشتر(روستای دیلم)(Shushtar)	ریشه	۱	*F. heterospo*
۱۹	شوشتر(روستای شلیلی)(Shushtar)	طوقه	۱	*F. nyga*
۲۰	شوشتر(روستای قل رومزی)(Shushtar)	ریشه	۲	*F.sola*
۲۱	شوش(روستای عبدالخانی)(Shush)	طوقه	۲	*F.equiset*
۲۲	شوش(روستای عبدالخانی)(Shush)	طوقه	۱	*F.sola*
۲۳	شوش(روستای عبدالخانی)(Shush)	ریشه	۱	*F.equiseti*
۲۴	شوش(کشت و صنعت میان آب)(Shush)	ریشه	۲	*F. nygamai*
۲۵	ایذه(قلعه تل)(Izeh)	ریشه	۲	*F. chlamydosporum*
۲۶	ایذه(روستای چشمه شیرین)(Izeh)	ریشه	۱	*F.equiseti*
۲۷	ایذه(قلعه تل)(Izeh)	ریشه	۱	*F. nygamai*
۲۸	ملاثانی (دانشکده رامین)(Mollasani)	ریشه	۱	*F.solani*
۲۹	اهواز(روستای گبیر)(Ahwaz)	ریشه	۱	*F.equiseti*
۳۰	اهواز(روستای چم دغیم)(Ahwaz)	طوقه	۱	*F.equiseti*
۳۱	دزفول(کشت و صنعت شهیدرجایی)(Dezful)	ریشه	۲	*F.solani*
۳۲	دزفول(کشت و صنعت شهیدرجایی)(Dezful)	ریشه	۱	*F.equiseti*
۳۳	دزفول(کشت و صنعت شهیدرجایی)(Dezful)	ریشه	۱	*F. heterosporum*
۳۴	دزفول(شوهان علیا)(Dezful)	ریشه	۱	*F. heterosporum*
۳۵	ایذه(قلعه تل)(Izeh)	ریشه	۲	*F.solani*
۳۶	ایذه(بارون گرد)(Izeh)	ریشه	۲	*F.solani*
۳۷	ایذه(بارون گرد)(Izeh)	ریشه	۱	*F.equiseti*
۳۸	ایذه(روستای چشمه شیرین)(Izeh)	طوقه	۱	*F.equiseti*
۳۹	ایذه(قلعه تل)(Izeh)	ریشه	۲	*F. semitectum*
۴۰	شوش(کشت و صنعت میان آب)(Shush)	ریشه	۱	*F. heterosporum*
۴۱	شوش(کشت و صنعت میان آب)(Shush)	ریشه	۱	*F. chlamydosporum*

گونه های *F. solani* ، *F. equiseti* ، *F. heterosporum*۳۸ ، *F. nygamai* ، *F. semitectum* ، *F. chlamydosporum* ، *F. oxysporium* و *F. verticillioides* (جدول ۱)، ۲۳ جدایه به قارچ ریزوکتونیا (جدول ۲)، ۴۳ جدایه به قارچ *Cylindrocarpon* spp. و جدایه به *Phoma lingam* تعلق داشت . در بررسی گروههای آناستوموزی جدایه های ریزوکتونیا ، در مجموع چهار گروه آناستوموزی شامل AG2-1 AG-4 ، AG-D وAG-E تشخیص داده شد. برخی از مشخصات جدایه های بدست آمده در جدول ۲ خلاصه شده است.

در آزمون بیماریزایی جدایه های ریزوکتونیا علائم متداول بیماری بصورت مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه، شانکر در انتهای ساقه ، پوسیدگی قهوه ای حلقوی ریشه و پژمردگی عمومی بود. پوسیدگی ریشه معمولا به رنگ قهوه ای تیره مایل به سیاه بود. همچنین در ناحیه طوقه و قاعده ساقه ، بافتها پوسیده و به رنگ قهوه ای تیره دیده شدند. در ناحیه طوقه نیز شانکرهایی تشکیل گردید که حاشیه آنها دارای رنگ قهوه ای تیره بود.

جدول۲- محل نمونه برداری و خصوصیات جدایه های ریزوکتونیای بدست آمده از ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان

ردیف	گروه آناستوموزی	قطر رسیه (میکرومتر)	تعداد هسته	ابعاد سلولهای تسبیحی(میکرومتر)	رنگ اسکلروت	محل جمع آوری
1	AG-D	4.8±0.2	2	-	کرم	دزفول
2	AG2-1	9.2±0.1	6-9	25-12×14-9	قهوه ای روشن	شوش
3	AG2-1	7.7±0.2	6-8	23-11×15-8	قهوه ای تیره	دزفول
4	AG2-1	7.7±0.2	4-7	22-15×19-8	قهوه ای تیره	شوشتر
5	AG2-1	7.8±0.6	4-7	26-11×8-16	قهوه ای تیره	ایذه
6	AG2-1	8.1±0.2	6-8	34-14×12-9	قهوه ای تیره	ایذه
7	AG-4	6.4±0.5	5-6	17-28×7-14	قهوه ای تیره	شوشتر
8	AG-D	5.6±0.1	2	16-23×6-15	قهوه ای تیره	بارون گرد
9	AG-4	7.2±0.1	5-8	18-31×14-6	قهوه ای تیره	شوش
10	AG2-1	7.5±0.1	6-8	11-32×19-8	قهوه ای تیره	دزفول
11	AG2-1	7.4±0.1	5-7	25-12×16-9	قهوه ای روشن	اهواز
12	AG-E	4.7±0.2	2	18-26×9-12	کرم	بارون گرد
13	AG-D	5.3±0.1	2	15-27×8-12	سفید	شوشتر
14	AG-4	6.7±0.3	4-7	22-31×12-14	قهوه ای تیره	ملاثانی
15	AG2-1	7±0.2	5-6	25-11×15-9	قهوه ای روشن	ایذه
16	AG-4	0.1± 7.4	6-8	19-23×9-15	قهوه ای تیره	شوهان علیا
17	AG-4	8.3±0.2	6-8	12-28×8-16	قهوه ای روشن	دزفول
18	AG-4	7±0	6-7	16-28×8-17	قهوه ای روشن	دزفول
19	AG2-1	8.2±0.1	5-8	31-12×14-9	قهوه ای روشن	دزفول
20	AG2-1	8.2±0.1	5-8	30-14×18-9	قهوه ای تیره	دزفول
21	AG2-1	7.4±0.3	4-7	27-12×21-8	قهوه ای تیره	شوش
22	AG2-1	8.6±0.7	5-8	28-12×16-9	قهوه ای تیره	شوشتر
23	AG-	4.5±0.5	2	-	کرم	ایذه

مقایسه میانگین طول لکه ها ی ریشه و طوقه ایجاد شده توسط گروههای مختلف آناستوموزی پس از ۱۰ روز در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود و گروههای آناستوموزی جدا شده از کلزا از نظر شدت بیماریزایی در سه گروه قرار گرفتند. نتایج این مقایسه نشان داد که بین گروه آناستوموزی AG-4 و AG2-1 اختلاف معنی داری وجود نداشت و شدت بیماریزایی آنها در کلزا تقریبا مشابه یکدیگر بود اما بین این دو گروه و گروه آناستوموزی AG-D تفاوت معنی داری وجود داشت. گروه آناستوموزی AG-E نیز روی کلزا بیماری زا نبود.

مقایسه میانگین طول لکه ها ی ریشه و طوقه پس از۲۰ روز نیز در سطح ۰/۰۵ معنی دار بود و گروههای آناستوموزی جدا شده از کلزا در چهارگروه قرار گرفتند . نتایج این مقایسه نشان داد که بین سه گروه آناستوموزی AG 2-1 ، AG-4 وAG-D تفاوت معنی معنی داری وجود دارد بگونه ایی که شدت بیماریزایی گروه آناستوموزی AG 2-1 از دو گروه دیگر بیشتر بود و گروه آناستوموزیAG-D نیز کمترین شدت بیماریزایی را در کلزا داشت . گروه آناستوموزی AG-E حتی۲۰ روزپس از تلقیح نیزهیچ گونه علائم بیماری ایجاد نکرد.

جمع بندی و بحث

بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه یکی از مهمترین بیماریها در کلزا می باشد ، به گونه ای که می توان از آن به عنوان یک فاکتور محدود کننده کشت کلزا نام برد. این مسئله بویژه در مزارعی که درآن کلزا بطور پی در پی و هرساله کشت می شود، بیشتر مشهود است. تا کنون عوامل قارچی گوناگونی مانند *Fusarium* spp.، *Phoma lingam* ، *Pythium* spp. و *R. solani* به عنوان عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا از مناطق مختلف جهان گزارش شده اند(کانگورا و باربتی[1]، ۱۹۹۶).

در این تحقیق ۶۳ گونه فوزاریوم از ریشه و طوقه کلزا جداسازی و شناسایی شد؛ این گونه ها عبارت بودند از *F.solani, F.oxysporum,* ،*F.equiseti* ، *F. semitectum* ، *F.nygamai* ، *F.verticillioides* ، *F. chlamydosporum* ، *F.heterosporum* ، که در این میان گونه های *F.solani* و *F. equiseti* به ترتیب با ۲۳ و ۲۲ جدایه بیشترین فراوانی را در بین گونه ها دارا بودند و گونه *F.verticilioides* با یک جدایه کمترین فراوانی را به خود اختصاص داد.

از میان ۸ گونه فوزاریوم شناسایی شده ، تا کنون گونه های *F.*solani ،*F.equiseti* ، *F. semitectum* و *F.oxysporum* از کلزا در مناطق مختلف دنیا مانند استرالیا گزارش شده است (لی و همکاران[2]، ۲۰۰۷). همچنین گونه های *F. solani* ، *F. equiseti* و*F. semitectum* ازریشه و طوقه کلزا از آرژانتین گزارش شده است (مدیا و همکاران[3]، ۱۹۹۷). در این تحقیق گونه های *F.nygamai* ، *F.verticillioides* و *F. chlamydosporum* از ایران گزارش شدند.

علاوه بر گونه های مختلف فوزاریوم و جدایه های متعدد جنس سیلندروکارپون ، در این پژوهش ۲۳ جدایه از جنس ریزوکتونیا عامل پوسیدگی ریشه و طوقه که به گروه های AG2-1 (۵۲/۲ درصد)، AG-4 (۲۶/۱درصد)، AG-D (۱۷/۴ درصد) وAG-E (۴/۳درصد) تعلق داشتند، از کلزا جدا سازی شدند.

گروه آناستوموزیAG2-1 از ریشه و طوقه کلزا در نقاط مختلف استان خوزستان جداسازی شد (جدول۱). این گروه آناستوموزی باعث مرگ گیاهچه قبل و بعد از خروج گیاهچه از خاک ، پوسیدگی ریشه و طوقه ، شانکر در پایین ساقه و پوسیدگی حلقوی در طیف وسیعی از گیاهان بخصوص چلیپائیان[4]میشود (یولیانتی و

1- Kangura &Barbetti

2- Li *et al.*
3- Madia
4- Cruciferous

همکاران[1]، ۲۰۰۶ ، یانگ، ۱۹۹۶ و سامنر، ۱۹۷۴) و تقریبا به تمام اعضای خانواده براسیکاسه[2] از جمله خردل هندی[3] ،کلزا[4] و شلغم روغنی[5] حمله می کند (ورما ۱۹۹۶، سامنر ۱۹۷۴). همچنین این گروه آناستوموزی از گیاهان مختلفی مانند جو ، شبدر ویونجه در افریقای جنوبی (آنتونی ۲۰۰۶) ، سبزیجات ، سیب زمینی ، نخود فرنگی ، لوبیا و کدو تنبل (شرودر و همکاران ۲۰۰۷) ، کاهو ، چغندر قند ، گلهای زنبق ، سنبل ، لاله و سوسن در هلند (اشنایدر و همکاران ۱۹۹۷) و شبدر، جو، یولاف، لولیوم و خردل هندی از غرب استرالیا (کانگورا و همکاران ۱۹۹۷) گزارش شده است.

در بررسی بیماریزایی جدایه های AG2-1 روی کلزا علائم بیماری به صورت ایجاد شانکر روی طوقه ، پوسیدگی قهوه ای حلقه مانند روی ریشه ، لکه های قهوه ای تیره در نوک ریشه ها ، افتادگی کامل گیاهچه ها و پژمردگی عمومی بود. طول لکه ها ی ریشه و طوقه ایجاد شده توسط جدایه های این گروه ۱۰ روز پس از مایه زنی ۸/۵-۶ سانتیمتر بود و بعضی از جدایه ها ۶-۴ روز پس از مایه زنی باعث مرگ گیاهچه های کلزا گردیدند. طول لکه ها ۲۰ روز پس از مایه زنی حدود ۱۱– ۸/۵ سانتیمتراندازه گیری شد. درایران این گروه آناستوموزی ازریشه کلزا دراستان گلستان (سارانی و همکاران ،۱۳۸۴) ، مرکزی و کردستان(افشاری آزاد و شریفی، ۱۳۸۷) گزارش شده است. با توجه به فراوانی گروه آناستوموزی AG2-1 و شدت علائم ایجاد شده ، در حال حاضر این گروه آناستوموزی مهمترین عامل پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان می باشد.

گروه آناستوموزی AG-4 با ۶ جدایه پس از AG2-1 بیشترین تعداد جدایه را داشت. این گروه آناستوموزی از ریشه و طوقه کلزا در بعضی از نقاط استان خوزستان جداسازی شد (جدول۲). جدایه های این گروه عامل پوسیدگی میوه گوجه فرنگی ، پوسیدگی ساقه نخودفرنگی، و شانکر ساقه سیب زمینی می باشند. همچنین منجر به مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه در طیف وسیعی از گیاهان از جمله پیاز، سیب زمینی ، نخود و لوبیا می شوند (اسنه و همکاران، ۱۹۹۶). این گروه آناستوموزی در ایران از گیاهان مختلفی ازجمله ریشه و طوقه باقلا(عظیمی و همکاران ،۱۳۸۴) ، نخود ایرانی، ریشه زیتون، گل حنا، گل ناز و چغندر قند (صفایی و همکاران، ۱۳۷۸) جداسازی شده است.

گروه آناستوموزی AG-4 نیز در ریشه و طوقه کلزا ایجاد آلودگی کرد که علائم حاصل از مایه زنی جدایه های این گروه آناستوموزی بصورت مرگ گیاهچه ، ایجاد شانکر روی طوقه و پوسیدگی ریشه و طوقه مشاهده شد . در مایه زنی این گروه بر خلاف گروه آناستوموزی AG 2-1 علائم پوسیدگی قهوه ای حلقوی مشاهده نشد. طول لکه های ریشه و طوقه ۱۰ و۲۰ روزپس از مایه زنی به ترتیب ۷-۶ سانتیمتر و ۹- ۸ سانتیمتراندازه گیری شد . در بررسی منابع موجود، این گروه آناستوموزی از ریشه کلزا دراستان فارس نیز گزارش شده است(مختاری و بنی هاشمی، ۱۳۸۹).

از گروه آناستوموزیAG-D ،۴ جدایه از ریشه کلزا در استان خوزستان جداسازی شد (جدول۲). این گروه آناستوموزی بطور کلی غیر بیماریزا و یا دارای بیماریزایی ضعیفی می باشد (بورپی وهمکاران ،۱۹۷۸) و اولین بار در سال ۱۹۷۹ توسط اوگوشی و همکاران گزارش گردید (اوگوشی و همکاران[6]، ۱۹۹۰). این گروه آناستوموزی در بعضی از گیاهان بعنوان عامل مرگ گیاهچه ، پوسیدگی ریشه و طوقه، شیت بلایت ، پوسیدگی میوه و بلایت شکوفه گزارش شده است (اوگوشی و همکاران ، ۱۹۹۰). گروه آناستوموزی AG-D تاکنون از غلات و گراسها از امریکای شمالی، اروپا و آسیا گزارش شده است (بورپی و همکاران ، ۱۹۷۸). این گروه آناستوموزی همچنین به عنوان عامل

1- Yulianti
2- Brassicaceae
3- *B. juncea*
4- *B. napus*
5- *B.rapa*

6- Ogoshi *et al.*

بیماری شوره سیاه[1] غده های سیب زمینی ، عامل پوسیدگی ریشه گلهای رز ، نوعی چمن[2] ، جو (پریاتموجا و همکاران[3] ،۲۰۰۱) و ریشه و طوقه ی نوعی گراس[4] گزارش شده است (بورپی و همکاران ، ۱۹۸۰) این گروه آناستوموزی از ریشه و طوقه کلزا در غرب استرالیا نیز گزارش گردیده است (کانگورا و همکاران، ۱۹۹۹).

در بررسی بیماریزایی جدایه های گروه آناستوموزی AG-D بر روی کلزا علائم بیماری به صورت پوسیدگی ریشه و طوقه و پژمردگی عمومی مشاهده شد. بطور کلی شدت بیماریزایی جدایه های این گروه روی کلزا پایین و کمتراز گروههای AG2-1 وAG-4 بود. طول لکه ها ی ریشه و طوقه ۱۰ روز پس از مایه زنی ۴/۵-۳ سانتیمتر بود. طول لکه های ایجاد شده روی ریشه و طوقه پس از ۲۰ روز نیز ۶/۵-۵ سانتیمتر اندازه گیری شد. نتایج بیماریزایی مشاهده شده حاصل از این گروه روی کلزا، نتایج مطالعات پژوهشگرانی را که گفته اند این گروه روی کلزا بیماریزاست تایید می نماید(کانگورا و باربتی ۱۹۹۶). این گروه آناستوموزی از ریشه کلزا دراستان فارس هم گزارش شده است (مختاری وبنی هاشمی، ۱۳۸۹).

گروه آناستوموزی AG-E با داشتن یک جدایه کمترین فراوانی را در بین گروههای شناسایی شده داشت (جدول۲). تنها جدایه این گروه از ریشه کلزا در شهر ایذه جداسازی شد. این گروه آناستوموزی از گیاهان *Linum usitatissimum* و *Oxalis corniculata* از ژاپن نیز گزارش شده است (پریاتموجا و همکاران، ۲۰۰۱). در خوزستان نیز این گروه آناستوموزی ازطوقه و ریشه لوبیا و خاک اطراف آن گزارش گردیده است (توکل و همکاران، ۱۳۸۲). در بررسی بیماریزایی جدایه متعلق به گروه آناستوموزی AG-E هیچ گونه علائمی از بیماری روی کلزا مشاهده نشد.

در بررسی منابع موجود، گزارشی از این گروه آناستوموزی روی کلزا مشاهده نشد. با توجه به ارزش غذایی کلزا و سطح زیر کشت آن در استان خوزستان و بیماریزا بودن جدایه های ریزوکتونیای بدست آمده ، ادامه تحقیقات در زمینه تعیین میزان خسارت و کنترل بیماری های ناشی از ریزوکتونیا در مزارع کلزا ضروری به نظر می رسد.

1- Black Scurf
2- *Zoysia spp*
3- Priyatmoja *et al.*
4- Turfgrass

منابع

۱. افشاری آزاد، ه.، شریفی،ک.۱۳۸۷.گروههای آناستوموزی و توان بیماری زایی جدایه های *Rhizoctonia solani* عامل پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در مناطق مختلف کشور. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، همدان. ص ۱۹۷.

۲. توکل، خ. ۱۳۸۲. جداسازی ریزوکتونیای دوهسته ای غیربیماریزا و بررسی اثر بیوکنترل آنها روی ریزوکتونیای چند هسته ای بیماریزا. پایان نامه ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی . دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران، ۱۵۱ ص.

۳. سارانی، ش. ا.، شریفی تهرانی ، ع .، احمد زاده ، م.،و نیکخواه ، م.ج . ۱۳۸۴. کنترل بیولوژیکی قارچ *Rhizoctonia solani* عامل مرگ گیاهچه کلزا با استفاده از *Bscillus subtilis* و *Streptomyces* sp. . مجله علوم و صنایع کشاورزی ، ویژه حفاظت نباتات، ۲۱(۱): ۲۵- ۳۷.

۴. صفایی، ن.، میناسیان ، و.، و رحیمیان، ح. ۱۳۷۸. جداسازی ، تشخیص و بررسی بیماریزایی گونه های ریزوکتونیا از گیاهان مختلف در استان خوزستان. مجله بیماریهای گیاهی، ۳۵ (۱-۴): ۱-۸ .

۵. عظیمی، ص.، فرخی نژاد ، ر.، و موسوی جرف ،ع.۱۳۸۴. جداسازی و بررسی بیماریزایی چند گروه آناستوموزی قارچ ریزوکتونیا از طوقه و ریشه باقلا در استان خوزستان، مجله بیماریهای گیاهی، ۴۱ (۳): ۳۲۹-۳۴۳.

۶. کاویان پی ، ع. ۱۳۷۷. جداسازی و تشخیص قارچهای مولد پوسیدگی و مرگ گیاهچه و نهال در خزانه های درختان جنگلی خوزستان. پایان نامه ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی . دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران، ۸۳ ص.

۷. مختاری، ن.، بنی هاشمی،ض.۱۳۸۹. تعیین گروههای آناستوموزی، اثبات بیماری زایی و اهمیت جدایه های ریزوکتونیا عامل بوته میری کلزا در فارس. خلاصه مقالات نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، تهران، ص ۳۹۲.

۸. نصراللهی،ن.،صنیعی راد،آ.، نصر اصفهانی،م.وبخشی خانکی،غ.۱۳۸۷. بررسی و شناسایی عوامل بیماری زای قارچی گیاه کلزا در اصفهان. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، همدان، ص ۲۲۴.

9. Anthony, P.K. 2006. Characterization of *Rhizoctonia* spp. recovered from crop plant used in rotational cropping system in Western Cape Province of South Africa. Phytopathology, 90: 1399-1406.

10. Baird, R.E. 1996. First report of *Rhizoctonia solani* AG-4 on canola in Georgia. Plant Disease, 80: 104.

11. Bandoni, R.J. 1979. Safranin as a rapid nuclear stain for fungi. Mycologia, 71: 873-40.

12. Burpee, L., Sanders, P.L., Cole, H.Jr., and Kim, S.H. 1978.A Staining technique for nuclei of *Rhizoctonia solani* and related fungi . Mycologia, 70: 1281-30.

13. Harrison, L.M., and Loland, J. 1991. Canola disease survey in the Peace River region in 1990. Canadian Plant Disease survey, 71:100 p.

14. Herr, L.J., and Roberts, D.L. 1980. Characterization of *Rhizoctonia solani* for populations obtained from sugar beet fields with different soil textures. Phytopathology, 70: 479-480.

15. Kaminiski, D.A., Morrall, R.A., and Duczec, L.J. 1996. Survey of Canola Diseases in Saskatchewan-1995. Canadian Plant Disease Survey, 76: 99-102.

16. Khangura, R., Barbetti, M.J., and Sweetingham, M.W. 1999. Characterization and pathogencity of *Rhizoctonia* species on canola. Plant Disease, 83 (8): 714-721.

17. Khangura, R., Barbetti, M.J., and Sweetingham, M.W. 1997. Association of Rhizoctonia species with hypocotyls rot and damping –off in canola. (Abstr.) Page 40 in: Proc. Bienn. Conf. Australas. Plant Pathol. Soc., 11th. Perth, WA.

18. Khangura, R., and Barbetti, M.J. 1996. Management of fungal diseases of canola for sustainable rotations in Western Australia. Western Australian Oilseed Update Meeting for Advisers and Consultants, Feb 1996, pp: 28-30.

19. Li, M., Murray, G.M., and Ash, G.J. 2007. New root disease of canola in Australia. Australasian Plant Disease, 2: 93-94.

20. Madia, M., Gaetan, S., and Zucotti, Y.S. 1997. Podredumbre radial de la colza (canola) causada por especies del genero *Fusarium* spp. Bol. San. Veg., 23: 11-15.

21. Ogoshi, A., Cook, R.J., and Bassett, E.N. 1990. *Rhizoctonia* species and anastomosis groups causing root rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. Phytopathology, 80: 784-788.

22. Paulitz, T.C., Okubara, P.A., and Schilinger, W.F. 2006. First report damping –off of canola caused by *Rrhizoctonia solani* AG 2-1 in Washington State. Plant Disease, 90: 829.

23. Priyatmoja, A., Yotari, Y., Hattori, K., and Kageyama, K. 2001. Characterization of *Rhizoctonia* spp. caused root and stem rot of miniature rose. Plant Disease, 85: 1200-1205.

24. Rimmer, S.R., and Pitfor, R.G. 1982.Manitoba rapeseed disease survey 1978-1980 Can. Plant Disease Survey, 62: 45-49.

25. Schneider, J.H.M., Schilder, M.T., and Dijst, G. 1997. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG 2 isolates causing bare patch in field grown tulips in the Netherlands. European Journal of Plant Pathology, 103: 265-279.

26. Schroeder, K.L., Paulitz, T.C., and Okubara, P.A. 2007.Geographic distribution of *Rhizoctonia* and *Pythium* species in soils throughout eastern Washington. Phytopathology, 28: 315-319.

27. Singelton, L.L., Mihail, J.D, and Rush, C.M. 1992. Methods for research on soil born phytopathogenic fungi. APS Press, 265 p.

28. Sneh, B., Neate, S., and Diyst, G. 1996. Rhizoctonia Species: Taxonomy, molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers, 578 p.

29. Sneh, B., Burpee, L.L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. St. Paul. MN: APS Press. 133p.

30. Staff, O. 2002. Spring and winter canola: Seedling Disease Complex.web site: http/WWW. omafra.gov.on.ca / English /crops/pub 811 / 811 sling. htm.

31. Sumner, D.R. 1974. Ecology and control of seedling diseases of crucifers, Phytopathology, 64: 692-697.

32. Verma, P.R. 1997. Biology and control of *Rhizoctonia solani* on rapeseed: A review. Phytoprotection, 77: 99-111.

33. Yang, J., Kherbanda, P.D., and Wang, H. 1996. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-9 in Alberta. Plant Disease, 80: 513-518.

34. Yang, J., and Verma, P.R. 1992. Screening genotype for resistance to pre-emergence damping - off and postemergence seedling root rot of oilseed rape and canola caused by *Rhizoctonia solani* AG2-1.Crop Protection, 11: 443-448.

35. Yitbarek, S.M., Verma, P.R., and Morrall, R.A. 1987. Anastomosis groups, pathogenicity, and specificity of *Rhizoctonia solani* isolates from seedling and adult rapeseed /canola plants and soil in Saskatchewan. Canadian Journal of plant Pathology, 9:6-13.

36. Yulianti,T., Sivasithamp, K., and Turner, D.W. 2006. Response of different forms of propagules of *Rhizoctonia solani* AG 2-1(ZG5) exposed to the volatiles produced in soil amended with green manures. Annals of Applied Biology, 148: 105-111.