فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال پنجم، شماره ۱۸، تابستان ۱۳۹۵، صفحه ۲۰۲- ۱۸۳
تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۹ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۲۱

عوامل و شدت بیماری پوسیدگی خشک سیب‌زمینی در انبارهای اردبیل و ارزیابی مقاومت ارقام

لیلا خوشنویس: دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه گیلان، ایران، khoshnevis@yahoo.com
احمد روحی بخش *: استادیار ویروس‌شناسی گیاهی، دانشگاه گیلان، ایران، a_rouhibakhsh1966@guilan.ac.ir
صدیقه موسی نژاد: استادیار قارچ‌شناسی و بیماری‌های قارچی گیاهان، دانشگاه گیلان، ایران، mousanejad@guilan.ac.ir

چکیده

مقدمه: پوسیدگی خشک از بیماری‌های مهم سیب‌زمینی جهت نگهداری در انبار محسوب می‌شود. این پژوهش به‌منظور ارزیابی شدت بیماری پوسیدگی خشک در انبارهای شهرستان اردبیل، شناسایی قارچ‌های مسبب بیماری و ارزیابی مقاومت چهار رقم سیب‌زمینی به این بیماری انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۳۹ انبار در شهرستان اردبیل بررسی و در مجموع ۱۵۰ نمونه بیمار جمع‌آوری شدند. شدت آلودگی هر انبار و درصد فراوانی غده‌های پوسیده با انتخاب ۳ گونی ۵۰کیلویی سیب‌زمینی و شمارش تعداد غده‌های پوسیده تعیین شد. سپس جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها انجام گرفت. به‌منظور ارزیابی عکس‌العمل پنج رقم سیب‌زمینی به چهار گونه *فوزاریوم* و تعیین رقم مقاوم به بیماری، آزمایشی با چهار تکرار در قالب طرح فاکتوریل انجام شد. جدایه‌ها به‌روش تلقیح سوسپانسیون کنیدیوم به برش‌های غده سیب‌زمینی مایه‌زنی شدند. حساسیت غده‌ها نسبت به عوامل بیماری پس از گذشت چهار روز از مایه‌زنی در شرایط تاریکی و حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد.

نتایج: چهار گونه *فوزاریوم* به نام‌های *فوزاریوم اکسیسپوروم*، *فوزاریوم پوآ*، *فوزاریوم سولانی* و *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس* به‌عنوان عوامل بیماری‌زای سیب‌زمینی در شهرستان اردبیل شناسایی شدند. بین گونه‌های *فوزاریوم* بررسی‌شده از نظر قدرت بیماری‌زایی، اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. عکس‌العمل ارقام نسبت به گونه‌های مختلف *فوزاریوم* آزمون‌شده متفاوت بود. رقم بورن دارای کمترین میزان آلودگی (۱۲/۵درصد) و رقم سبلان دارای بیشترین میزان آلودگی (۹۸/۸۷درصد) بود. رقم سبلان به همراه ارقام خاوران، آگریا و لاین ۳۹۷۰۰۹۳ بیشترین حساسیت را نسبت به گونه‌های مختلف قارچ *فوزاریوم* بررسی‌شده داشتند.

بحث و نتیجه‌گیری: براساس نتایج، رقم بورن به‌عنوان مقاوم‌ترین و ارقام سبلان، خاوران، اگریا و لاین هیبرید ۳۹۷۰۰۹۳ به‌عنوان حساس‌ترین ارقام به پوسیدگی خشک ناشی از گونه‌های *فوزاریوم* معرفی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: سیب‌زمینی، پوسیدگی خشک، *فوزاریوم*، مقاومت

* نویسنده مسؤول مکاتبات

Copyright © 2016, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0/), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

سیب‌زمینی[1]، یکی از محصولات مهم و استراتژیک جهان محسوب می‌شود که در تغذیه انسان از اهمیت زیادی برخوردار است؛ به‌طوری‌که پس از گندم، ذرت و برنج در رژیم غذایی انسان جای دارد (۱). براساس آمارهایی که سازمان خواروبار کشاورزی ملل متحد ارائه کرده، میزان تولید سیب‌زمینی در جهان حدود ۳۱۰ میلیون تن با سطح زیر کشت حدود ۱۹ میلیون هکتار در ۱۲۵ کشور دنیا است. در حال حاضر، متوسط عملکرد سیب‌زمینی آبی در ایران حدود ۲۶ تن در هکتار است و ۱۶۴ هزار هکتار از زمین‌های زراعی ایران زیر کشت سیب‌زمینی قرار دارد. میزان تولید سیب‌زمینی در ایران حدود ۴ میلیون و ۲۰۰ هزار تن است که استان همدان با ۲۰/۸۳درصد از تولید سیب‌زمینی کشور در رتبه نخست قرار می‌گیرد و استان اردبیل با ۱۶/۲۳درصد در رتبه دوم قرار دارد (۲).

پوسیدگی خشک[2] یکی از بیماری‌های مهم و محدودکننده سیب‌زمینی جهت نگهداری در انبار و در زمان حمل‌ونقل آن محسوب می‌شود. در این بیماری غده‌های آلوده معمولاً خشک می‌شوند؛ اما ممکن است گاهی پوسیدگی مرطوب نیز رخ دهد. پوسیدگی خشک را معمولاً گونه‌های مختلف *فوزاریوم*[3] ایجاد می‌کنند. در صورتی که در آلودگی‌های ناشی از باکتری‌ها، سطح غده‌های آلوده، چروکیده یا دچار پوسیدگی مرطوب با بافت قهوه‌ای‌رنگ مایل به خاکستری یا سیاه می‌شود و گاهی غده‌های آلوده به‌رنگ صورتی نیز دیده می‌شوند (۳).

قارچ *فوزاریوم* از شاخه آسکومایکوتا[4] و متعلق به راسته هیپوکرالس[5] و خانواده نکتریاسه[6] است که در بسیاری از گیاهان زراعی باعث ایجاد بیماری می‌شود. کنیدیوفورهای این قارچ، ساده یا به‌صورت مجتمع با انشعاب انتهایی هستند که به سلول اسپورزا ختم می‌شوند. سلول‌های اسپورزا در این قارچ از نوع فیالیدی هستند. این قارچ دارای چند نوع کنیدیوم به نام‌های میکروکنیدیوم، ماکروکنیدیوم و کلامیدوسپور است. میکروکنیدیوم‌ها یک یا دوسلولی و استوانه‌ای‌شکل‌اند و ماکروکنیدی‌ها چندسلولی و هلالی‌شکل هستند. کلامیدوسپورها با دیواره ضخیم در وسط ریسه‌ها و حتی در میان سلول‌های ماکروکنیدی و یا در انتهای ریسه‌ها به‌صورت انفرادی، خوشه‌ای یا زنجیری تشکیل می‌شوند (۴). این قارچ مایکوتوکسین‌هایی تولید می‌کند که علاوه بر گیاهان بر روی حیوانات نیز ایجاد بیماری می‌کنند و بسیار خطرناک هستند. گونه *فوزاریوم اکسیسپوروم*[7] می‌تواند در انسان‌ها بیماری آلرژیک تنفسی ایجاد کند (۵).

تاکنون ۱۳ گونه *فوزاریوم* به‌عنوان عوامل مهم پوسیدگی خشک سیب‌زمینی معرفی شده‌اند؛ اما در هر کشور تنها یک الی دو گونه از نظر فراوانی و شدت بیماری‌زایی در اولویت قرار دارند (۶). در سال ۱۹۸۹ ترون و هولز[8] عامل پوسیدگی خشک سیب‌زمینی در مزارع آفریقای جنوبی را هشت گونه از قارچ *فوزاریوم* معرفی کردند. همچنین گونه *فوزاریوم سمبوسینوم*[9] در آمریکا، بریتانیا و ساحل عاج، گونه *فوزاریوم سولانی*[10] در اروپا و آمریکای شمالی، گونه *فوزاریوم اوناسئوم*[11] در فنلاند، گونه *فوزاریوم اکوایستی*[12] در هند، گونه‌های *فوزاریوم اکسیسپوروم* و *فوزاریوم اسپوروتریکویدس*[13] در کشورهای مصر، آفریقای جنوبی و ایرلند شمالی به‌عنوان گونه‌های غالب شناسایی شده‌اند. گونه‌های *فوزاریوم کولموروم*[14]، *فوزاریوم اوناسئوم* و *فوزاریوم اکسیسپوروم* از سایر نقاط جهان به‌عنوان عوامل بیماری

پوسیدگی خشک گزارش شده‌اند (۷).

خسارت ناشی از پوسیدگی خشک در آمریکا سالیانه مبلغی بالغ بر یکصد میلیون دلار برآورد شده است که علاوه بر خسارت مالی به‌علت توکسین‌زابودن اغلب گونه‌های *فوزاریوم*، خطر جدی برای سلامت انسان و دام به شمار می‌رود (۸). بیماری پوسیدگی خشک در غده‌هایی که در زمان برداشت، درجه‌بندی و حمل‌ونقل زخمی شدند و فرصت لازم برای تکمیل دوره ترمیم و چوب‌پنبه‌ای‌شدن به بافت زخمی داده نشده است، به وجود می‌آید (۹). حساسیت غده‌ها نسبت به عامل بیماری پس از دو ماه انبارداری افزایش می‌یابد و گسترش بیماری سه ماه پس از شروع زمان انبارداری اتفاق می‌افتد (۱۰). کشت غده‌های بذری آلوده موجب پوسیدگی غده‌ها و اندام‌های بذری جدید می‌شود و کاهش تعداد بوته در واحد سطح و در نتیجه کاهش عملکرد را به دنبال خواهد داشت (۷). این بیماری بیش از ۶۰ درصد محصول انبارشده را در معرض خطر پوسیدگی قرار می‌دهد (۱۱).

در گزارشی در مجله بیماری‌های گیاهی میشیگان که فیلیپ[۱۵] و همکاران از دانشگاه ایالتی میشیگان ایالات متحده منتشر کرده‌اند، گونه‌های *فوزاریوم سمبوسینوم*، *فوزاریم اوناسئوم* و *فوزاریوم سولانی* به‌عنوان عوامل اصلی ایجادکننده بیماری پوسیدگی خشک معرفی شدند (۱۲). عوامل بیماری پوسیدگی خشک در کشور لهستان طی پژوهشی در سال ۲۰۰۸ به کمک روش‌های مورفولوژیکی و مولکولی شناسایی شدند و در نتیجه گونه‌های *فوزاریوم سمبوسینوم* و *فوزاریوم سولانی* به‌عنوان عوامل اصلی پوسیدگی خشک و گونه‌های *فوزاریوم سولفوروم*[۱۶]، *فوزاریوم اکسیسپوروم*، *فوزاریوم کوئرولئوم*[۱۷]، *فوزاریوم اوناسئوم* و *فوزاریوم کولموروم* و *فوزاریوم اکوایستی* نیز به‌عنوان عواملی با اهمیت کمتر تعیین شدند (۱۳). در مطالعات مشترک بین دانشگاه ایالتی اورگون و انجمن کشاورزان تولیدکننده محصولات ارگانیک در اورگون و واشنگتن به‌منظور شناسایی عامل بیماری در غده‌های سیب‌زمینی، گونه‌های *فوزاریوم سمبوسینوم*، *فوزاریوم سولانی* و *فوزاریوم اوناسئوم* به‌عنوان عوامل اصلی پوسیدگی خشک سیب‌زمینی در انبارهای این ایالت‌ها معرفی شدند (۱۴).

همچنین طی پژوهشی مقاومت ۱۳ رقم و ۲۴۷ کلون مختلف سیب‌زمینی به پوسیدگی خشک در سانجرویل آمریکا بررسی شد. پس از جداسازی و شناسایی گونه‌های قارچ *فوزاریوم* عامل پوسیدگی خشک که شامل *فوزاریوم روزئوم*[۱۸]، *فوزاریوم اوناسئوم*، *فوزاریوم سمبوسینوم* و *فوزاریوم کورئولئوم* بودند، تفاوت‌هایی در مقاومت به یک یا چند گونه *فوزاریوم* مشاهده شد. کلون ۷۲۰۰-۳۳ب بیشترین مقاومت را به هر چهار گونه *فوزاریوم* عامل بیماری از خود نشان داد (۱۵).

پوسیدگی خشک سیب‌زمینی را نخستین بار در ایران شریف و ارشاد[۱۹] گزارش کردند و عامل آن *فوزاریوم سولانی* معرفی شد (۱۶). کریمی[۲۰] (۱۷) گونه *فوزاریوم اکسیسپوروم* را مهم‌ترین عامل پوسیدگی خشک سیب‌زمینی در انبارهای استان فارس اعلام کرد. در منطقه فریدن اصفهان با بررسی انبارهای سیب‌زمینی مشخص شد که گونه‌های مختلف قارچ *فوزاریوم* عامل پوسیدگی خشک، مهمترین عامل ایجاد خسارت هستند (۱۸). همچنین گونه‌های *فوزاریوم سولانی*، *فوزاریوم اکسیسپوروم*، *فوزاریوم سولفوروم* و *فوزاریوم کلامیدوسپوروم*[۲۱] به‌عنوان عوامل ایجاد پوسیدگی خشک غده‌های سیب‌زمینی در فریدن اصفهان معرفی

شدند (۱۹). مستوفی زاده قلمفرسا و بنی هاشمی[۲۲] دوازده گونه *فوزاریوم* از جمله *فوزاریوم کولموروم*، *فوزاریوم سمی تکتوم*[۲۳]، *فوزاریوم گرامینئاروم*[۲۴]، *فوزاریوم اکوایستی*، *فوزاریوم سولانی* و *فوزاریوم اکسیسپوروم* را به‌عنوان عوامل ایجاد پوسیدگی غده‌های سیب‌زمینی در استان فارس گزارش کردند (۲۰). فلاحتی رستگار[۲۵] و همکاران ده گونه از جمله *فوزاریوم سولانی*، *فوزاریوم اکوایستی* و *فوزاریوم اکسیسپوروم* را از غده‌های پوسیده سیب‌زمینی در استان خراسان جداسازی کردند (۲۱).

طی شناسایی عوامل ایجاد پوسیدگی غده‌های بذری سیب‌زمینی در منطقه جیرفت در سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۲، گونه‌های قارچی *سیلیندروکارپون دیدیمیوم*[۲۶]، *فوزاریوم اکوایستی*، *فوزاریوم کولموروم*، *فوزاریوم سولانی* و باکتری *رالستونیا سولاناسئاروم*[۲۷] به‌ترتیب با فراوانی ۴۷/۳، ۱۵/۸، ۱۳/۲، ۷/۹ و ۱۵/۸درصد به‌عنوان عوامل بیماری‌زای غده‌های بذری سیب‌زمینی معرفی شدند (۲۲).

در کشور ایران گونه‌های مختلف *فوزاریوم* به‌عنوان عوامل پوسیدگی خشک از انبارها و مزارع و حتی خاک‌های مختلف جداسازی شدند و محققان آن‌ها را شناسایی کردند، ولی تاکنون این امر در استان اردبیل به‌صورت یک پژوهش میدانی در ارقام مختلف سیب‌زمینی صورت نگرفته است. این پژوهش به‌منظور ارزیابی شدت بیماری پوسیدگی خشک در انبارهای شهرستان اردبیل، شناسایی قارچ‌های مسبب بیماری و ارزیابی مقاومت چهار رقم سیب‌زمینی به این بیماری انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تعیین شدت آلودگی انبارها و جمع آوری نمونه: طی بازدید از انبارهای مناطق مختلف شهرستان اردبیل، نمونه‌های دارای علائم پوسیدگی خشک جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. هم‌زمان میزان آلودگی هر انبار محاسبه شد. برای این منظور در شهرستان اردبیل ۳۹ انبار انتخاب و از هر انبار ۳ گونی ۵۰کیلویی سیب‌زمینی از قسمت‌های مختلف انتخاب شدند. با ایجاد برش در غده‌ها و شمارش تعداد غده‌های پوسیده در هر گونی، درصد فراوانی غده‌های پوسیده تعیین شد. همچنین شدت پوسیدگی غده‌ها برای هر انبار بر اساس روشی که نصر اصفهانی[۲۸] (۲۳) معرفی کرد تعیین شد. درجه‌بندی آلودگی غده‌ها بدین صورت بود: صفر: بدون آلودگی؛ یک شانزدهم: اگر از ۱۶ قسمت غده، یک قسمت آلودگی داشته باشد؛ یک هشتم: اگر از ۸ قسمت غده، یک قسمت آلودگی داشته باشد؛ یک‌چهارم: اگر از ۴ قسمت غده، یک قسمت آلودگی داشته باشد؛ یک‌دوم: نصف غده سیب‌زمینی آلودگی داشته باشد و بزرگ‌تر از یک‌دوم: بیش از نصف غده آلودگی داشته باشد.

تعداد غده‌های هر تیپ آلودگی به‌ترتیب در اعداد صفر، ۱، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ضرب شدند و اعداد حاصل با هم جمع شدند و بر مجموع تعداد غده‌ها تقسیم شدند. عدد حاصل، شدت آلودگی هر انبار تعیین شد. برای اینکه تفاوت بین انبارها از نظر شدت آلودگی بررسی و آزمون آماری بین آن‌ها انجام شود، انبارها به‌عنوان تیمار در نظر گرفته شدند و تفاوت آماری آن‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار بررسی شد. از آزمون اختلاف معنی‌دار قابل‌اعتماد توکی[۲۹] برای مقایسه میانگین انبارها از نظر صفت بررسی‌شده، استفاده شد.

کشت نمونه‌ها، جداسازی و خالص سازی قارچ‌ها: برای کشت و جداسازی اولیه قارچ‌ها، از هر پاکت حاوی نمونه، تعداد ۲ غده انتخاب و با آب مقطر سترون شست‌وشو شدند. سپس، از محل بین بافت آلوده و سالم، قطعاتی به ابعاد ۱/۵ × ۱/۵ میلی‌متر مربع بریده و با الکل ۷۰ درصد به‌مدت یک دقیقه و سپس با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به‌مدت سه دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. به‌منظور حذف هیپوکلریت سدیم، غده‌ها سه مرتبه با آب مقطر سترون شست‌وشو و برای آبگیری روی کاغذ صافی استریل قرار داده شدند. سپس ۵-۳ قطعه از هر نمونه روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار[۳۰] داخل تشتک‌های پتری قرار داده شدند. تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷-۳ روز داخل انکوباتور نگهداری شدند و پس از تشکیل پرگنه قارچ، از حاشیه پرگنه قطعات کوچکی به محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار جدید انتقال داده شد. ظروف پتری به‌مدت ۵-۳ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و کلنی‌های به‌دست‌آمده به محیط برگ میخک- آگار[۳۱] منتقل شدند. از کلنی‌های رشدکرده در این محیط با استفاده از روش تک اسپور و نوک ریسه کشت جدید و خالص تهیه شد.

برای تهیه محیط کشت برگ میخک- آگار، محیط کشت آب- آگار[۳۲] ۲درصد در تشتک پتری ریخته شد و قبل از منعقدشدن محیط کشت، ۴-۳ قطعه برگ میخک خشک و استریل به آن اضافه شد. یکی از مزایای این محیط، تسریع در کنیدی‌زایی است و معمولاً کنیدیوم‌های دوکی‌شکل تیپیک (یکی از ویژگی‌های لازم برای تشخیص گونه) روی آن تشکیل می‌شوند و شرایط طبیعی را برای رشد قارچ فراهم می‌کند. این محیط کشت از نظر میزان کربوهیدرات‌ها فقیر است، بنابراین قارچ روی آن به‌صورت پراکنده رشد می‌کند. در نتیجه، مشاهده برخی از ویژگی‌های تاکسونومیکی مانند زنجیره میکروکنیدیوم، سرهای دروغین[۳۳]، منوفیالید[۳۴] و اسپورودوکیوم[۳۵] را امکان‌پذیر می‌کند.

نگهداری نمونه‌ها: برای نگهداری جدایه‌های خالص شده و به منظور عدم تغییر در بیماری‌زایی آن‌ها و محافظت در مقابل آلودگی‌ها، جدایه‌های خالص شده به لوله آزمایش حاوی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها: برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها، از غده‌های سیب زمینی رقم آگریا تهیه‌شده از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر[۳۶] کرج استفاده شد. برای هر جدایه از سه غده سیب‌زمینی هم‌شکل استفاده شد. به‌منظور حذف خاک و ذرات گرد و غبار، غده‌ها ابتدا شسته شدند. برای ضدعفونی سطحی، ابتدا غده‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه درون هیپوکلریت سدیم ۵درصد غوطه‌ور و سپس جهت حذف محلول هیپوکلریت سدیم، سه بار با آب مقطر سترون شست‌وشو شدند. همچنین به‌منظور ضدعفونی مجدد، یک بار دیگر غده‌ها با پنبه آغشته به اتانول ۹۵درصد ضدعفونی سطحی و در معرض هوا خشک شدند. سپس با استفاده از چوب‌پنبه سوراخ‌کن، حفره‌هایی به عمق و پهنای ۶ میلی‌متر در غده‌های سیب‌زمینی ایجاد شد (۲۴ و ۲۵).

سپس برش‌هایی به قطر ۰/۵ سانتی‌متر مربع از پرگنه‌های جوان جدایه‌های قارچی روی سطح محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، جدا و در داخل حفره‌های ایجادشده در غده‌های سیب‌زمینی قرار داده شدند. سطح حفره‌ها با استفاده از پارافیلم پوشانده شد و غده‌ها در داخل انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد

به‌مدت سه هفته در وضعیت تاریکی نگهداری شدند. در نمونه‌های شاهد از قطعات محیط کشت سترون سیب‌زمینی- دکستروز- آگار استفاده شد. بعد از سه هفته، غده‌های سیب‌زمینی بررسی شدند و با استفاده از یک چاقوی سترون از وسط حفره‌ها برش تهیه شد و در صورت ایجاد و پیشرفت بیماری، از محل بین بافت سالم و آلوده برش‌هایی به‌قطر یک سانتی‌متر مربع جدا و به محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار انتقال داده شد و کشت‌ها در انکوباتور در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ روز نگهداری شدند (۲۲).

تشخیص گونه‌ها: به‌منظور شناسایی گونه‌های مختلف *فوزاریوم* از منابع معتبر و محیط های غذایی و شرایط دمایی و نوری مختلفی به شرح زیر استفاده شد:

کشت جدایه ها روی محیط های غذایی: برای شناسایی گونه‌های *فوزاریوم* از محیط‌های کشت برگ میخک- آگار و سیب‌زمینی- دکستروز- آگار استفاده شد (۲۶). برای کشت جدایه‌ها روی محیط غذایی، از جدایه‌های تک‌اسپورشده استفاده شد. به‌منظور دستیابی به اندام‌هایی مانند اسپوردوکیوم، سرهای دروغین و میکروکنیدی و ماکروکنیدی، جدایه‌ها روی محیط برگ میخک- آگار و در نزدیکی برگ‌های میخک کشت شدند. وجود برگ‌های میخک در محیط موجب می‌شود قارچ روی برگ‌ها، اسپوردوکیوم حاوی ماکروکنیدیوم و در سطح آگار، کنیدیوفورهای حامل میکروکنیدی تولید کند. تشکیل کلامیدوسپور در محیط برگ میخک- آگار، دو هفته به طول می‌انجامد که یک معیار مهم در شناسایی بعضی گونه‌های فوزاریوم است.

فوزاریوم‌ها برای اسپورزایی و تشکیل رنگدانه به نور ماوراء بنفش و درجه حرارت متناوب (۲۰ درجه سانتی‌گراد در شب و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز) احتیاج دارند. برای تشخیص و شناسایی گونه‌های فوزاریوم در آزمایشگاه، کشت‌ها در شرایطی نگهداری شدند که حرارت روزانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد و حرارت شبانه ۲۰ درجه سانتی‌گراد و نیز ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی فراهم باشد (۴، ۲۷ و ۲۸). بنابراین تشتک‌های حاوی کشت قارچ در داخل انکوباتور با شرایط دمایی و نوری یادشده به‌مدت دو هفته قرار داده شدند.

تشخیص گونه‌ها: پرگنه‌ها پس از رشد و تشکیل کنیدیوم روی برگ میخک بعد از ۱۴روز، برپایه ویژگی‌های ظاهری از قبیل نوع فیالید (مونوفیالید یا پلی فیالید)، وجود یا نبود کلامیدوسپور، شکل ماکروکنیدیوم، وجود یا نبود میکروکنیدیوم، نحوه قرارگرفتن میکروکنیدیوم (در سرهای دروغین، به‌صورت زنجیره یا به هر دو صورت) تشخیص داده شدند. از محیط سیب‌زمینی– دکستروز – آگار تنها برای تعیین رنگ، نرخ رشد، نحوه رشد پرگنه و همچنین برای نگهداری میان‌مدت جدایه‌ها استفاده شد (۲۶). برای شناسایی گونه‌های *فوزاریوم* از کلیدهای معتبر موجود (۲۷ و ۲۸) استفاده شد. در این پژوهش شناسایی گونه‌های فوزاریوم تنها براساس مشخصات فرم غیرجنسی انجام شد.

بررسی مقاومت ارقام: ارقام استفاده‌شده در این بخش شامل سبلان[۳۷]، آگریا[۳۸]، بورن[۳۹]، خاوران[۴۰] و لاین ۳۹۷۰۰۹۳ بودند که غده‌های بذری آن‌ها از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. جهت تهیه مایه تلقیح، جدایه‌های خالص‌شده ۴ گونه شناسایی شده فوزاریوم به محیط سیب‌زمینی– دکستروز – آگار منتقل شدند و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور قرار گرفتند. بعد از گذشت ۷ روز، از

پرگنه‌های حاوی اسپور کشت‌های موردِنظر، سوسپانسیون اسپور با غلظت $۱۰^{۴}$×۱ اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه شد.

در این بررسی از غده‌های سیب‌زمینی هم‌اندازه استفاده شد. به‌منظور حذف خاک و ذرات گرد و غبار، ابتدا غده‌ها با جریان آب شسته شدند. سپس غده‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند تا خشک شوند. غده‌های سیب‌زمینی پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۵درصد به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با آب سترون شست‌وشو شدند. آنگاه با چاقوی سترون برش‌هایی عرضی به‌ضخامت ۱۰ میلی‌متر از غده‌های سیب‌زمینی تهیه شد و قطعات با آب مقطر سترون شست‌وشو داده شدند. قطعات روی کاغذ صافی سترون در داخل تشتک‌های پتری ۱۰سانتی‌متری قرار داده شدند و به‌مدت ۲ ساعت قبل از تلقیح به همان حالت قرار گرفتند.

قطعات سیب‌زمینی توسط سوسپانسیون اسپور جدایه‌های موردِنظر تلقیح شدند. مقدار مناسب از سوسپانسیون اسپور با غلظت مذکور بر روی هر برش سیب‌زمینی قرار داده شد و بعد از مسدودکردن درب تشتک‌های پتری با پارافیلم، تشتک‌ها به‌مدت ۴ روز در تاریکی و در دمای ۱± ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل با دو عامل ارقام سیب‌زمینی و گونه‌های *فوزاریوم* و به‌صورت کاملاً تصادفی با چهار تکرار طراحی شد که ارقام سیب‌زمینی دارای ۵ سطح و گونه‌های *فوزاریوم* دارای چهار سطح بودند.

برای ارزیابی شدت بیماری حاصل از ۴ گونه *فوزاریوم* روی ۵ رقم مختلف سیب‌زمینی، از مقیاس ارائه‌شده در جدول ۱ استفاده شد (۲۹).

نتایج

تعیین شدت آلودگی انبارها و جمع آوری نمونه‌ها: طی سال ۱۳۹۱- ۱۳۹۰ پس از بازدید از انبارهای شهرستان اردبیل، در مجموع ۱۵۰ نمونه سیب‌زمینی آلوده به پوسیدگی خشک جمع‌آوری شد. همچنین شدت پوسیدگی غده‌ها برای هر انبار تعیین شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس شدت آلودگی انبارها در شهرستان اردبیل نشان داد، به‌لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین انبارهای بررسی‌شده از نظر شدت آلودگی در سطح احتمال ۱درصد وجود داشت (جدول ۲).

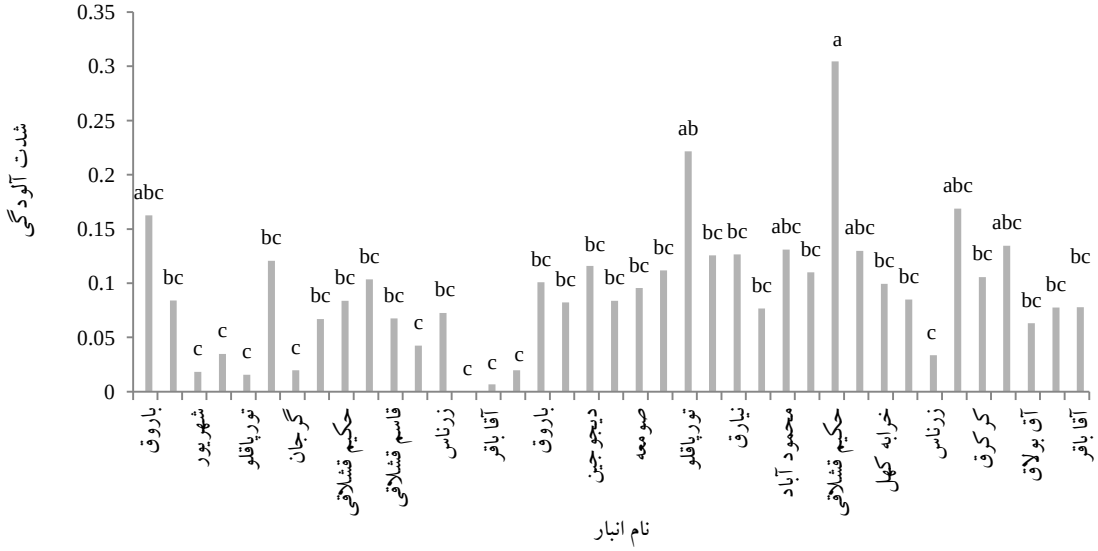
جدول ۱- شاخص ارزیابی شدت بیماری پوسیدگی خشک سیب‌زمینی حاصل از گونه‌های مختلف *فوزاریوم*

شاخص آلودگی	شرح شاخص آلودگی
آلودگی ۱۰۰ درصد	تغییر رنگ و آلودگی تمام سطح برش سیب‌زمینی
آلودگی ۵۰ درصد	تغییر رنگ و آلودگی نصف سطح برش سیب‌زمینی
آلودگی ۲۵ درصد	تغییر رنگ و آلودگی در یک‌چهارم سطح برش سیب‌زمینی
آلودگی ۱۲/۵ درصد	تغییر رنگ و آلودگی در یک‌هشتم سطح برش سیب‌زمینی
آلودگی ۰ درصد	نبودِ آلودگی در سطح برش سیب‌زمینی

جدول ۲- تجزیه واریانس شدت آلودگی انبارهای مختلف سیب‌زمینی شهرستان اردبیل به بیماری پوسیدگی خشک

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
تیمار (انبار)	۳۸	۰/۳۹۷۳	۰/۰۱۰۴	**۴/۶۸
خطا	۷۸	۰/۱۷۴۳	۰/۰۰۲۲	
کل	۱۱۶	۰/۵۷۱۶		

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۱- مقایسه میانگین شدت آلودگی انبارهای مختلف سیب‌زمینی شهرستان اردبیل به بیماری پوسیدگی خشک

مقایسه میانگین شدت آلودگی انبارهای شهرستان اردبیل نشان داد، انبار منطقه حکیم قشلاقی دارای بالاترین شدت آلودگی یعنی ۰/۳۰۴درصد بود و با انبارهای مناطق باروق، تورپاقلو، محمودآباد، جوراب، گیلانده و بابولان در یک گروه آماری قرار گرفت و با سایر انبارها اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۱).

جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها: در بخش جداسازی عوامل ایجادکننده پوسیدگی خشک، در مجموع ۸۴ جدایه به دست آمد که ۲۳ جدایه به گونه *فوزاریوم سولانی*، ۲۱ جدایه به گونه *فوزاریوم اکسیسپوروم*، ۱۸ جدایه به گونه *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس* و ۱۴ جدایه به گونه *فوزاریوم پوآ* [۴۱] تعلق داشتند. همچنین ۲ جدایه به *آلترناریا* [۴۲]، ۳ جدایه به *آسپرژیلوس* [۴۳] و ۳ جدایه به *کلوتوتریکوم* [۴۴] تعلق داشتند. گونه *فوزاریوم سولانی* که ۲۷/۱۸ درصد از کل جدایه‌ها را شامل شد از انبارهای گرجان، باروق، شهریور، جبه دار، صومعه، تورپاقلو، یونجالو، خرابه کهل، قاسم قشلاقی، زرناس، آق بولاق، الماس، خشکرود، نیار و نیارق به دست آمد. گونه *فوزاریوم اکسیسپوروم* با فراوانی ۲۵ درصد از کل جدایه‌ها از انبارهای باروق، گرجان، آقا باقر، سلطان آباد، بابولان، کرکرق، الماس، خشکرود، نیار، تورپاقلو، خرابه کهل و دیجوجین به دست آمد. گونه *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس* که ۲۱ درصد از کل جدایه‌ها را شامل شد از انبارهای باروق، گرجان، شهریور، محمود آباد، یونجالو، کرکرق و نیار جداسازی شد. همچنین گونه *فوزاریوم پوآ* که ۱۶درصد

گونه *فوزاریوم پوآ* که ۱۶ درصد از کل جدایه‌ها را شامل شد از انبارهای جوراب، ارجستان، گیلانده، بابولان، سلطان آباد و آقا باقر شهرستان اردبیل به دست آمد. براساس نتایج به‌دست‌آمده گونه *فوزاریوم سولانی* از پراکنش گسترده‌ای در انبارهای شهرستان اردبیل برخوردار بوده و تقریباً در تمامی انبارهای شهرستان وجود داشت.

اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها: نتیجه آزمون بیماری‌زایی نشان داد از بین جدایه‌های حاصل، ۲۰ جدایه باعث ایجاد پوسیدگی خشک شدند. علائم ظاهری بیماری روی رقم آگریا به‌صورت لکه‌های قهوه‌ای کوچک بود که به‌کندی پیشروی کردند و پوسته روی لکه‌ها فرورفته و چروکیده و مرکز آن‌ها خشک و مرده بود. قسمت‌های داخلی لکه‌ها به‌رنگ قهوه‌ای و حاشیه آن‌ها روشن‌تر بود. علائم آلودگی با توجه به گونه *فوزاریوم* به‌صورت لکه‌های سیاه، قهوه‌ای آبسوخته و زرد یا صورتی متغیر بود (شکل ۲). از لکه‌های فوق مجدداً جداسازی قارچ انجام شد. در جدایه‌های بیماری‌زا قارچ جداشده با جدایه تست‌شده از لحاظ مشخصات ظاهری و رشدی مطابقت داشت.

تشخیص گونه‌ها: شناسایی جدایه‌ها به کمک منابع معتبر علمی (۲۷ و ۲۸) انجام شد. بر این اساس ۴ گونه *فوزاریوم* شناسایی شدند.

گونه فوزاریوم پوآ: میزان رشد کلنی این گونه روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار پس از ۴ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۵/۵-۴/۲ سانتی‌متر بود (شکل ۳).

شکل ۲- الف: آزمون بیماری‌زایی روی رقم آگریا، ب: جداسازی مجدد قارچ عامل بیماری از غده‌های مایه‌زنی‌شده با قارچ، ج: غده‌های مایه‌زنی‌شده درون انکوباتور

این گونه روی محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار میسیلیوم‌های متراکم کرکدار تولید کرد که در ابتدا سفید بودند و به مرور زمان، رنگ آن‌ها سفید متمایل به صورتی تا قهوه‌ای شد. تولید اسپوردوکیوم در این گونه نادر بود، ولی میکروکنیدی‌ها به‌صورت فراوان تشکیل شدند. رنگ کلنی در آگار به‌شکل خاکستری تا قرمز تیره بود.

قارچ فوق روی محیط برگ میخک- آگار، تعداد کمی ماکروکنیدی تولید کرد که نسبتاً کوتاه، داسی‌شکل و معمولاً دارای سه جداره عرضی بودند و سلول‌های انتهایی آن‌ها کمی انحنا داشتند. سلول پایه به‌شکل پاشنه‌دار و یا دارای کمی فرورفتگی بود. ماکروکنیدی از فیالیدهای منفرد، روی کنیدیوفورهای منشعب و یا مستقیماً روی میسیلیوم تولید شد. میکروکنیدی‌ها فراوان و عمدتاً گرد و گاهی لیمویی‌شکل و گاهی کمی نوک‌تیز بودند. میکروکنیدی‌ها از فیالیدهای منفرد جامی‌شکل در روی کنیدیوفورهای متراکم و خوشه‌ای تشکیل شدند (شکل ۴). در این گونه کلامیدوسپور تشکیل نشد.

با توجه به مشخصات یادشده و مقایسه آن با منابع بوس[45] (۲۷) و نلسون[46] و همکاران (۲۸) قارچ فوق به‌عنوان گونه *فوزاریوم پوآ* تعیین نام شد.

شکل ۳- سطح رویی پرگنه *فوزاریوم پوآ* در محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار

الف **ب** **ج**

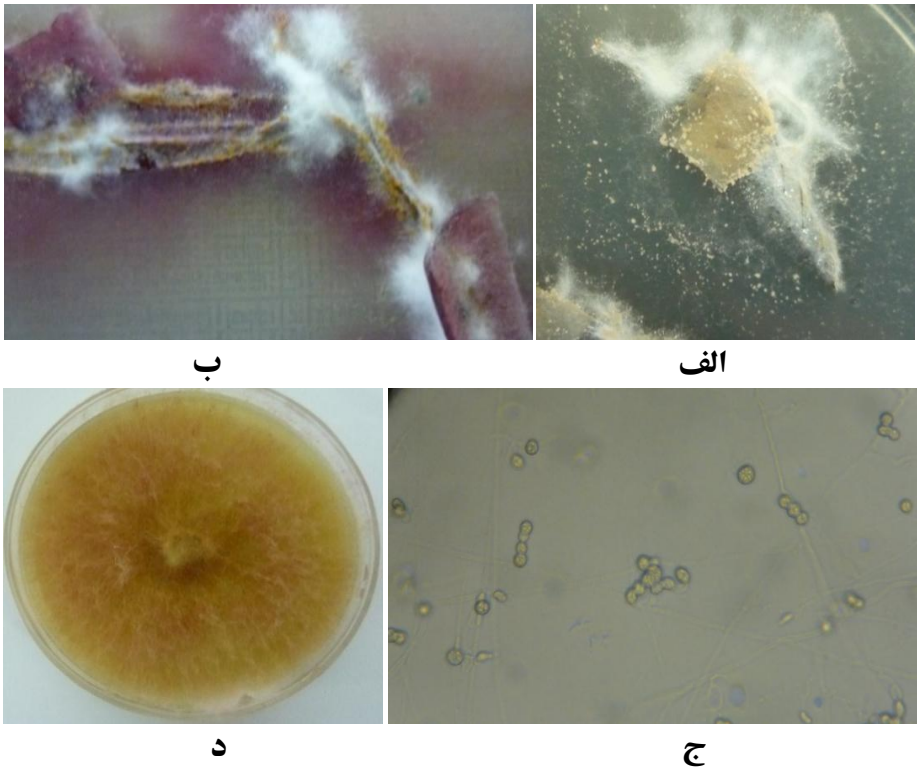
شکل ۴- الف: ماکروکنیدی، ب: میکروکنیدی و ماکروکنیدی و ج: میکروکنیدی قارچ *فوزاریوم پوآ* در محیط برگ میخک - آگار (مقیاس ۲۰ میکرون)

گونه فوزاریوم اسپوروتریکیویدس: میزان رشد پرگنه‌های قارچ روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار پس از ۴ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۵/۱- ۳/۵ سانتی‌متر بود (شکل ۵).

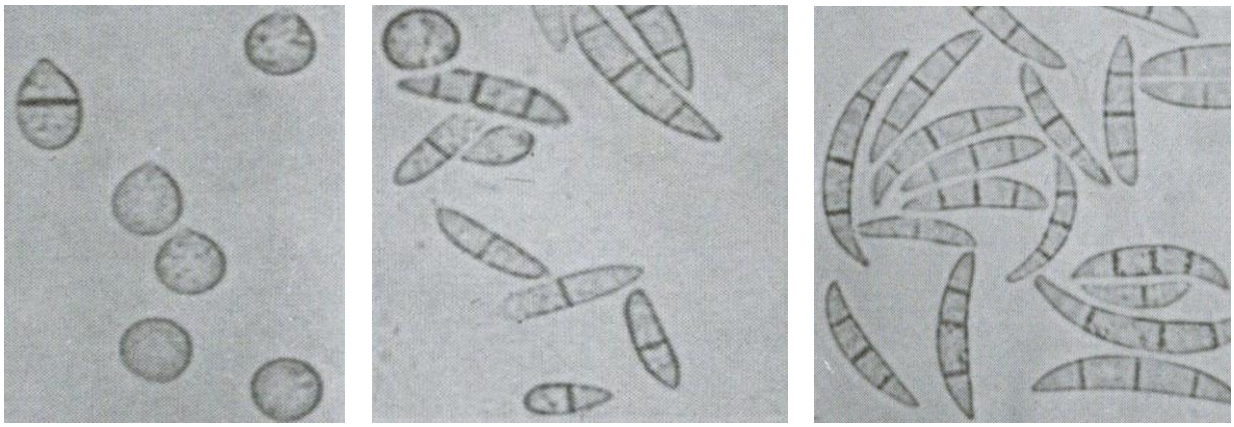
این گونه روی محیط یادشده میسیلیوم‌های فراوان پنبه‌ای تولید کرد که در ابتدا سفید و بعد به سفید متمایل به صورتی تا نارنجی متمایل به قهوه‌ای تغییر رنگ دادند. اسپوردوکیوم‌های نارنجی کم‌رنگ گاهی در کشت‌های کهنه مشاهده شدند. رنگ کلنی از پشت تشتک پتری قرمز تیره بود.

روی محیط برگ میخک- آگار، ماکروکنیدی‌ها به‌صورت فراوان در اسپوردوکیوم‌های نارنجی‌رنگ تشکیل شدند. طول آن‌ها متوسط و دارای ۳ تا ۵ جدار عرضی بودند و شکل ماکروکنیدی‌ها داسی‌شکل و سلول انتهایی آن‌ها کشیده و سلول پایه به‌صورت پاشنه پا یا دارای کمی فرورفتگی بود. ماکروکنیدی‌ها از فیالیدهای منفرد و کنیدیوفورهای منشعب در روی اسپوردوکیوم‌ها تشکیل شدند و به‌ندرت بر روی فیالیدهای منفرد و مستقیماً روی هیف تشکیل شدند. میکروکنیدی‌ها به‌صورت فراوان بر روی فیالیدهای مجتمع تشکیل شدند. میکروکنیدی‌ها به اشکال تخم‌مرغی، گلابی، دوکی و یک تا دوسلولی بودند و غالباً یک برجستگی در انتها داشتند (شکل ۶). کلامیدوسپورها به‌وفور در کشت‌های کهنه تشکیل شدند. کلامیدوسپورها منفرد یا زنجیری یا خوشه‌ای بودند و چنانچه رسیده و کامل بودند، به‌صورت قهوه‌ای کم‌رنگ مشاهده شدند.

مشخصات فوق با منابع بوس (۲۷) و نلسون و همکاران (۲۸) مطابقت داشت؛ لذا تحت گونه یادشده نام‌گذاری شد.



شکل ۵- قارچ *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس*، الف: تشکیل اسپورودوکیوم کرم‌رنگ بعد از یک هفته روی محیط برگ میخک- آگار، ب: تولید رنگدانه ارغوانی‌رنگ در محیط برگ میخک- آگار، ج: کلامیدوسپورهای منفرد و زنجیری روی محیط برگ میخک- آگار، د: سطح رویی پرگنه قارچ در محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار



الف **ب** **ج**

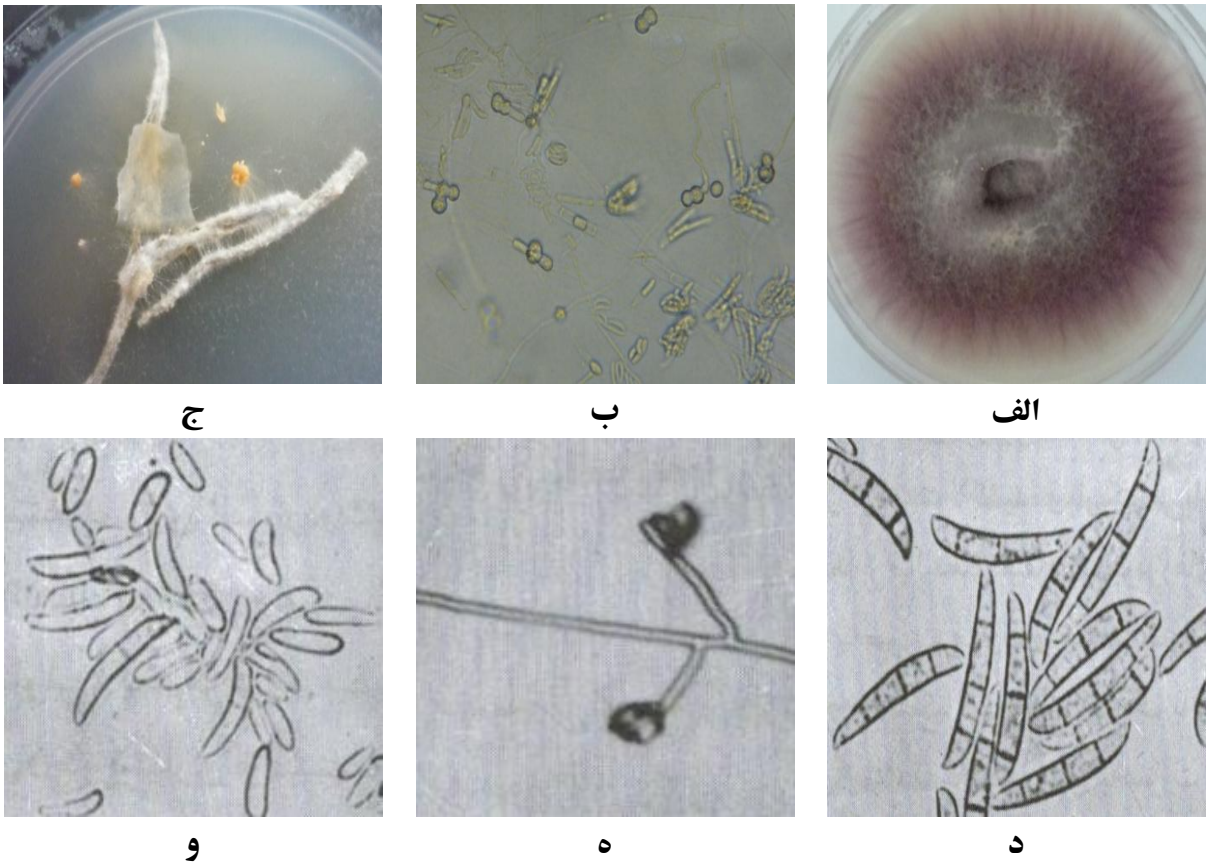
شکل ۶- قارچ *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس*، الف: ماکروکنیدی، ب: میکروکنیدی‌های دوکی و ماکروکنیدی، ج: میکروکنیدی‌های گلابی‌شکل (مقیاس ۲۰ میکرون)

گونه فوزاریوم اکسیسپوروم: میزان رشد کلنی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار پس از ۴ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۵/۵-۴/۷ سانتی‌متر بود (شکل ۷).

شکل ظاهری کلنی روی محیط مذکور در این گونه بسیار متغیر بود. میسیلیوم‌های پنبه‌ای و پراکنده و گاهی متراکم با رنگ‌های سفید و بنفش کم‌رنگ مشاهده شدند. در بعضی جدایه‌ها، ماکروکنیدی‌های فراوان به‌صورت یک توده در سطح کلنی تشکیل شدند. رگه‌های قهوه‌ای کم‌رنگ، آبی یا بنفش در این گونه تشکیل شدند. گرچه این گونه در داخل آگار رنگدانه‌های کم‌رنگ تا بنفش تیره تولید کرد، بعضی جدایه‌ها اساساً بی‌رنگ بودند. کلنی این گونه گاهی به‌راحتی تغییر ماهیت داد که در این حالت به‌صورت یک لایه آبکی با میسلیوم‌های کم مشاهده شد.

روی محیط برگ میخک- آگار، ماکروکنیدی‌ها در اسپوردوکیوم‌های فراوان و نارنجی کم‌رنگ تولید شدند. طول آن‌ها کم یا متوسط بود. ماکروکنیدی‌ها داسی‌شکل تا قایقی‌شکل تا کمی کشیده و دارای سه جدار عرضی نازک بودند و در دو طرف به یک نقطه منتهی شدند و روی فیالیدهای منفرد و یا کنیدیوفورهای منشعب تولید شدند. میکروکنیدی‌ها عموماً به‌صورت سرهای دروغین روی فیالیدهای منفرد و کوتاه تشکیل شدند. میکروکنیدی‌ها معمولاً تک‌سلولی، تخم‌مرغی، بیضوی و یا قلوه‌ای‌شکل بودند.

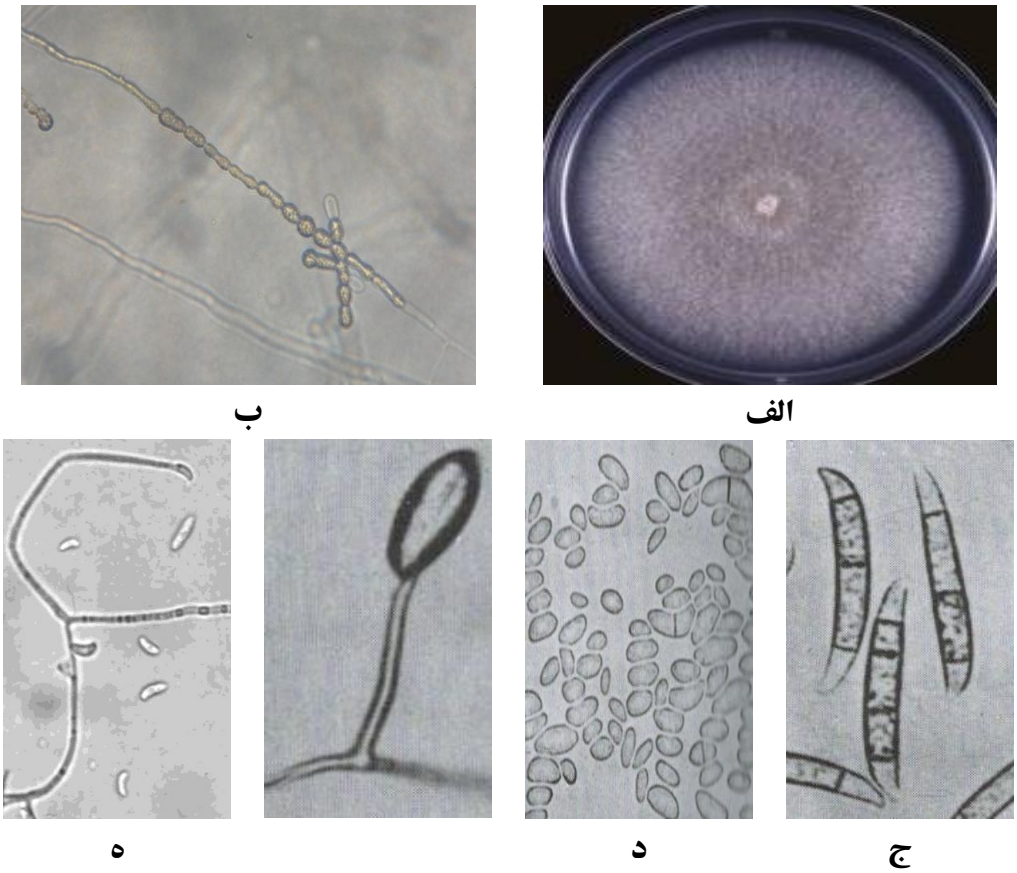
کلامیدوسپورها به‌فراوانی و البته به‌کندی تولید شدند و گاهی تولید آن‌ها ۳ تا ۶ هفته طول کشید، ولی به‌راحتی در سطح کلنی روی ریسه‌ها قابلِ‌مشاهده بودند. مشخصات فوق با منابع بوس (۲۷) و نلسون و همکاران (۲۸) مطابقت داشت و تحت گونه یادشده نام‌گذاری شد.



شکل ۷- قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم*، الف: سطح رویی پرگنه قارچ در محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، ب: کلامیدوسپورهای منفرد و زنجیری در محیط برگ میخک- آگار، ج: اسپورودوکیوم در محیط برگ میخک- آگار، د: ماکروکنیدی، ه: میکروکنیدی روی فیالید منفرد به‌صورت سرهای دروغین (مقیاس ۲۰ میکرون)، و: ماکروکنیدی های تشکیل‌شده روی اسپورودوکیوم

گونه فوزاریوم سولانی: میزان رشد کلنی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار پس از ۴ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۴/۷-۳/۲ سانتی‌متر بود (شکل ۸). این گونه روی محیط یادشده میسیلیوم‌های سفید تا کرم‌رنگ و به‌صورت پراکنده و پنبه‌ای تولید کرد. تولید انبوه ماکروکنیدی روی اسپوردوکیوم‌های کرم یا سبز متمایل به آبی از مشخصات این گونه بود. بعضی جدایه‌ها رنگی نبودند ولی بعضاً تولید رنگدانه‌های بنفش کم‌رنگ یا قهوه‌ای کم‌رنگ کردند. رگه‌های رنگی گاهی در محیط کشت به وجود آمدند.

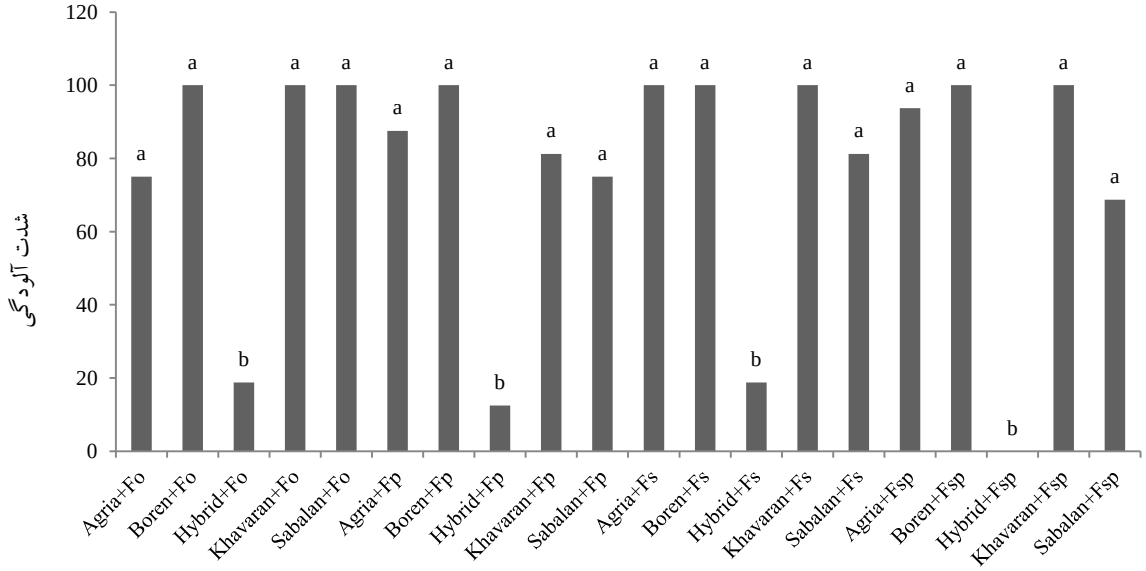
روی محیط برگ میخک- آگار، ماکروکنیدی‌ها روی اسپوردوکیوم‌های کرم‌رنگ تولید شدند. ماکروکنیدی‌ها عموماً سوسیسی‌شکل بوده و قطر (پهنای) آن‌ها زیاد بود. ماکروکنیدی‌ها کمی خمیده و دارای ۴-۳ جدار عرضی بودند و عمدتاً دیواره‌های ضخیم داشتند. ماکروکنیدی‌ها از فیالیدهای منفرد کنیدیوفورهای منشعب روی اسپوردوکیوم تشکیل شدند. میکروکنیدی‌ها به‌صورت فراوان و عمدتاً مجتمع روی فیالیدهای منفرد طویل تشکیل شدند. میکروکنیدی‌ها یک یا دوسلولی، تخم‌مرغی و بیضوی یا قلوه‌ای‌شکل بودند. کلامیدوسپور به‌صورت فراوان در بسیاری از کشت‌ها و در خلال ۲ تا ۳ هفته تشکیل شد (شکل ۸).مشخصات یاد شده با منابع بوس (۲۷) و نلسون و همکاران (۲۸) مطابقت داشت.



شکل ۸- قارچ *فوزاریوم سولانی*، الف: سطح رویی پرگنه قارچ در محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، ب: کلامیدوسپور زنجیری‌شکل قارچ در محیط برگ میخک- آگار، ج: ماکروکنیدی، د: میکروکنیدی ه: ریسه (مقیاس ۲۰ میکرون)

بررسی مقاومت ارقام: ارزیابی شدت بیماری حاصل از گونه‌های مختلف *فوزاریوم* روی ارقام مختلف سیب‌زمینی، با مایه‌کوبی سوسپانسیون اسپور روی سطح غده‌های برش‌خورده سیب‌زمینی و با استفاده از مقیاس الحسن[47] (۲۹) و همکاران انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد، بین گونه‌های *فوزاریوم* بررسی‌شده از نظر قدرت بیماری‌زایی به‌لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار وجود نداشت، اما بین ارقام مختلف سیب‌زمینی از نظر حساسیت به قارچ در سطح احتمال ۱درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین این نتایج نشان داد بین اثر متقابل گونه‌های قارچ *فوزاریوم* و ارقام سیب‌زمینی بررسی‌شده در این آزمایش در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت.

نتایج مقایسه میانگین حساسیت ارقام مختلف سیب‌زمینی نشان داد رقم بورن با کمترین میزان آلودگی (۱۲/۵درصد) با سایر ارقام اختلاف معنی‌داری داشت و به‌تنهایی در یک گروه آماری قرار گرفت و نسبت به سایر ارقام از مقاومت بیشتری نسبت به قارچ *فوزاریوم* برخوردار بود. از طرف دیگر رقم سبلان با بیشترین میزان آلودگی (۹۸/۸۷۵درصد) به همراه ارقام خاوران، آگریا و لاین ۳۹۷۰۰۹۳ بیشترین حساسیت را نسبت به قارچ *فوزاریوم* داشتند و این ارقام با هم در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۹).



شکل ۹- مقایسه میانگین شدت آلودگی (بر اساس درصد) ارقام سیب‌زمینی نسبت به گونه‌های شناسایی‌شده قارچ *فوزاریوم*؛ Fo، *فوزاریوم اکسیسپوروم*، Fp، *فوزاریوم پوآ*، Fs، *فوزاریوم سولانی*، Fsp، *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس*

بحث و نتیجه‌گیری

زخمی‌شدن و یا آفت‌زدگی غده‌ها در زمان برداشت، رسیده‌نشدن فیزیولوژیکی غده‌ها، شرایط نامناسب انبار و انبارداری نادرست به‌عنوان عوامل تشدیدکننده پوسیدگی سیب‌زمینی در انبار و سردخانه معرفی شده‌اند (۱۸، ۳۰ و ۳۱). بنابراین نبودِ انبارهای مناسب، رعایت‌نکردن اصول صحیح انبارداری در سردخانه‌ها و ضدعفونی‌نشدن غده‌ها قبل از ورود به سردخانه مهم‌ترین دلایل افزایش پوسیدگی غده‌های سیب‌زمینی در انبارها هستند. پوسیدگی غده‌های بذری سبب نروییدن یا مرگ بوته‌ها در کشت بعدی می‌شود.

بیماری پوسیدگی خشک، زمانی ایجاد می‌شود که غده‌ها زخمی شده باشند و یا اینکه غده‌ها در زمان برداشت از نظر فیزیولوژیکی کاملاً رسیده و آماده برداشت نباشند و در تماس با سایر غده‌ها به‌راحتی پوست نازک آن‌ها کنده شود و در معرض آلودگی قرار گیرند. البته شرایط نامناسب انبار، انباشتن بیش از حد غده‌های سیب‌زمینی در زمان حمل‌ونقل، شرایط دمایی و رطوبت نامناسب انبار جهت التیام زخم ها و جراحات در مراحل اولیه انبارداری از مواردی هستند که غده‌ها را به بیماری حساس می‌کنند.

در پژوهش حاضر چهار گونه *فوزاریوم* شامل *فوزاریوم پوآ*، *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس*، *فوزاریوم اکسیسپوروم* و *فوزاریوم سولانی* از انبارهای سیب‌زمینی شهرستان اردبیل جداسازی و شناسایی شدند. براساس نتایج به‌دست آمده گونه *فوزاریوم سولانی* از پراکنش گسترده‌ای در انبارهای شهرستان اردبیل برخوردار بوده و تقریباً در تمامی انبارهای شهرستان وجود داشت. *فوزاریوم اسپوروتریکیویدس* در مصر، آفریقای جنوبی و ایرلند شمالی، به عنوان عامل مهم پوسیدگی خشک سیب‌زمینی گزارش شده است (۳۲). *فوزاریوم اکسیسپوروم* یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس *فوزاریوم* است و از نظر بهداشتی و اقتصادی در کشاورزی مهم است. میزبان‌های متعدد برای این گونه معرفی شده است

(۳۳). این قارچ به‌عنوان عامل مهم بیماری‌های پوسیدگی ریشه و طبق پیاز خوراکی (۳۴)، پوسیدگی ریشه نخود (۳۵) و پوسیدگی ریشه غلات (۳۶) معرفی شده است. *فوزاریوم اکسیسپوروم* در اغلب نقاط سیب‌زمینی‌کاری به‌عنوان یکی از عوامل پوسیدگی خشک غده و قطعات بذری سیب‌زمینی معرفی شده است (۳۷ و ۳۸). گونه *فوزاریوم سولانی* انتشار گسترده جهانی و میزبان‌های متعددی دارد (۳۹). یکی از میزبان‌های مهم این قارچ، غده‌های سیب‌زمینی هستند که در آن‌ها بیماری پوسیدگی خشک ایجاد می‌کند (۴۰). این گونه در ایران به‌عنوان یکی از عوامل پوسیدگی ریشه و طبق پیاز (۳۴)، عامل پوسیدگی سیاه ریشه نخود (۴۱) و پوسیدگی ریشه گندم (۳۶) معرفی شده است.

همچنین براساس نتایج حاصل از این بررسی، رقم بورن به‌عنوان مقاوم‌ترین و ارقام سبلان، خاوران، آگریا و لاین هیبرید ۳۹۷۰۰۹۳ به‌عنوان حساس‌ترین ارقام نسبت به بیماری پوسیدگی خشک ناشی از گونه‌های *فوزاریوم* معرفی می‌شوند. البته با توجه به نبودِ دسترسی به تمامی ارقام استفاده‌شده جهت کشت در استان اردبیل، معرفی دقیق و صحیح ارقام مقاوم، متحمل و حساس، نیاز به بررسی بیشتر دارد. به‌طور کلی مشخص شد غده‌های ارقام مختلف سیب‌زمینی در شرایط یکسان آزمایش شامل مایه تلقیح، دما، رطوبت، مدت‌زمان آزمایش، مدت زمان نگهداری غده‌ها در اطاقک رشد، حرارت ثابت و نحوه مایه‌زنی یکسان، واکنش متفاوتی نسبت به گونه‌های *فوزاریوم* عامل پوسیدگی خشک از خود نشان می‌دهند و نسبت به گونه‌های *فوزاریوم* عامل بیماری به‌طور مستقل عمل می‌کنند. گزارش‌های مشابهی از نصر اصفهانی و مرتضوی[۴۸] (۴۲)، ترون و هولز (۷) و پلاته[۴۹] (۴۳) وجود دارد. به تازگی در کشور آمریکا رقم‌های آدورا[۵۰] و کاستیل[۵۱] و در کانادا کلون‌های اف ۹۳۰۳۲ و اف ۹۴۰۳۶ نسبت به این بیماری انباری، مقاوم معرفی شده‌اند (۴۴).

محاسبات گروهی شدت بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم شناسایی‌شده در تهران نشان داد اختلاف معنی‌داری از نظر بیماری‌زایی بین *فوزاریم سولانی*، *فوزاریوم سمبوسینوم*، *فوزاریوم اکوایستی* و *فوزاریوم اکسیسپوروم* وجود نداشت؛ ولی *فوزاریوم سمبوسینوم* بیماری‌زاتر از *فوزاریوم اکوایستی*، *فوزاریوم اکسیسپوروم* و *فوزاریوم رتیکولاتوم*[۵۲] بود و *فوزاریوم سولانی* بیماری‌زاتر از *فوزاریوم اکوایستی*، *فوزاریوم اکسیسپوروم* و *فوزاریوم رتیکولاتوم* و نهایتاً *فوزاریوم رتیکولاتوم* ضعیف‌تر از *فوزاریوم اکوایستی* و *فوزاریوم اکسیسپوروم* بود (۴۵). در پژوهش‌هایی که شریفی[۵۳] (۴۶) و شریفی[۵۴] و همکاران (۴۵) انجام داده‌اند گونه‌های *فوزاریوم سولانی*، *فوزاریوم سمبوسینوم* و *فوزاریوم اکسیسپوروم* بیشترین قدرت بیماری‌زایی را داشتند. همچنین در بررسی ایشان رقم بورن به‌عنوان مقاوم‌ترین رقم معرفی شد.

ترون و هولز در سال ۱۹۸۹ درصد شدت بیماری‌زایی جدایه‌های *فوزاریوم اکومیناتوم*[۵۵] به‌دست‌آمده از غده‌های پوسیده را ۵۲/۱درصد اعلام کردند. همچنین ایشان دو گونه *فوزاریوم اکسیسپوروم* و *فوزاریوم سولانی* را بیماری‌زاترین عوامل بیماری پوسیدگی خشک دانستند و حضور دو گونه در کنار هم را بسیار مخرب و خطرناک معرفی کردند.

کریمی نیز در سال ۱۹۷۰ عامل اصلی پوسیدگی غده سیب زمینی در دماوند و کرج را *فوزاریوم اکسیسپوروم* معرفی کرد. شدت بیماری‌زایی جدایه یادشده پس از *فوزاریوم سولانی* و *فوزاریوم سمبوسینوم* قرار داشت.

References

(1) Harris PM. Mineral nutrition. In: Harris PM, editor. *The potato crop: The scientific basis for improvement*. 2nd ed. London: Chapman and Hall; 1992. p 163-213.

(2) Ministry of Jihad-e-agriculture, Bureau of Statistics and Information Technology. *Agricultural statistic letter*. Iran: Ministry of Jihad-e-agriculture Press; 2011. 119 p.

(3) Rowe RC., Sally A., Richard MR. *Fusarium dry rot and seed-piece decay of potato*. Columbus: The Ohio State University Press; 2006.

(4) Saremi H. *Fusarium biology, ecology and taxonomy*. Ferdowsi University of Mashhad: Jihad Daneshgahi Press; 2005. 153 p.

(5) Rebell G. *Fusarium*: *Diseases, Biology and Taxonomy*. University Park: The Pennsylvania State University Press; 1981.

(6) Cullen DW., Toth IK., Pitkin R., Boonhan N., Walsh K et al. Use of quantitative molecular diagnostic assays to investigate *Fusarium* dry rot in potato stocks and soil. *Phytopathology* 2005; 95 (12): 1462- 71.

(7) Theron DJ., Holz G. Predication of potato dry rot based on the presence of *Fusarium* in soil adhering to tuber at harvest. *Plant Disease* 1991; 75 (2): 126-30.

(8) Marasas WFO., Nelson PE., Toussoun TA. *Toxigenic Fusarium species, identification and mycotoxicology*. University Park: Pennsylvania State University Press; 1984. 328 p.

(9) Hudson DE., Orr PH. Incidence of mechanical injury to potatoes during certain storage- related handling operations in the Red River valley production area. *American Journal of Potato Research* 1977; 54 (1): 11- 21.

(10) Guenthner JF. *The international potato industry*. Cambridge: Woodhead Publishing LTD; 2001. 222 p.

(11) Carnegie SF., Ruthven AD., Lindsay DA., Hall TD. Effect of fungicides applied to seed potato tubers at harvest or after grinding on fungal storage disease and plant development. *Annals of Applied Biology* 1990; 116 (1): 61- 72.

(12) Phillip W., Hammerschmit R., Kirk W. *Fusarium dry rot*. Lansing: Michigan State University Press; 2007.

(13) Lenc L., Łukanowski A., Sadowski Cz. The use of PCR amplification in determining the toxiogenic potential of *Fusarium sambucinum* and *F. solani* isolated from potato tubers with symptoms of dry rot. *Bydgoszcz Poland Phytopathology* 2008; 48 (1): 13- 23.

(14) Selman L., Andrews N., Masley A. *Diagnosing tuber abnormalities in Western Oregon and Washington*. Corvallis: Oregon State University Press; 2008.

(15) Leach SS., Webb RE. Resistance of selected potato cultivars and clones to *Fusarium* dry rot. *Phytopathology* 1981; 71 (8): 623-629.

(16) Sharif G., Ershad D. *A list of fungi on cultivated plants, shrubs and trees of Iran*. Tehran: Plant Pests and Diseases Research Institute Press; 1966.

(17) Karimi AR. Wilt of potato plants and dry rot of potato tubers. *Iranian Journal of Plant Pathology* 1970; 6 (1-2): 35- 53.

(18) Nasr-Esfahani M. A survey on potato loss in storages of Esfahan. *Seed and Plant Production Journal* 2003; 19 (2): 191- 208.

(19) Nasr-Esfahani M. *Fusarium* species associated with dry rot of potato tubers in Esfahan, Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 1998; 34 (3-4): 225- 32.

(20) Mostofi zadeh-Ghalamfarsa R., Banihashemi Z. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with potato tuber rot in south-east of Fars province. In: *Proceeding of 14th Iranian Plant Protection Congress*. Esfahan:

Esfahan University of Technology Press; 2000. 305 p.

(21) Falahati Rastgar M., Ghale Dozdani H., Jafarpour B. Etiology of potato dry rot in Khorasan province. In: *Proceeding of 14th Iranian Plant Protection Congress*. Esfahan: Esfahan University of Technology Press; 2000. 305 p.

(22) Azadvar M., Najafinia M., Ershad D. Study on causal agents of potato tuber rot in store and cold-room of Jiroft region. *Pajouhesh-Va-Sazandegi* 2006; 75 (2): 97-101.

(23) Nasr-Esfahani M. Susceptibility assessment of potato cultivars to *Fusarium* dry rot species. *Potato Research* 2005; 48 (3-4): 215- 26.

(24) Choiseul J., Allen L., Carnegie SF. Fungi causing tuber dry rots of seed potatoes in storage in Scotland. *Potato Research* 2007; 49 (4): 241- 53.

(25) Peters JC., Les AK., Cullen DW., Sullivan L., Stroud GP., Cunnington AC. Characterization of *Fusarium* spp. responsible for dry rot of potato in Great Britain. *Plant Pathology* 2008; 57 (2): 262-71.

(26) Nelson PE., Toussaun TA., Cook RJ. *Fusarium: Diseases., Biology and Taxonomy*. University Park: The Pennsylvania State University Press; 1981.

(27) Booth C. *The genus Fusarium*. Wallingford: CAB press; 1971. 237 p.

(28) Nelson PE., Toussoun TA., Marasas WFO. *Fusarium*: *Species: An illustrated manual for identification*. University Park: The Pennsylvania State University Press; 1983. 193 p.

(29) El-Hassan KE., El-Saman MG., Mosa AA., Mostafa MH. Variation among *Fusarium* spp., the causal of potato tuber dry rot in their pathogenicity and mycotoxins production. *Egyptian Journal of Phytopathology* 2007; 35 (2): 53- 68.

(30) Roshandel S., Babaie A., Taheri A., Morshedi A. *Potato health management*. Tehran: Hadian Press; 2006. 447 p.

(31) Hooker WJ. *Compendium of potato diseases*. *Saint Paul*: APS Press; 1981. 125 p.

(32) Varns JL., Schaper LA., Preston DA. Potato losses during the first 3 months of storage of processing. *American Potato Journal* 1985; 62 (8): 930- 23.

(33) Hanson LE., Schwager SJ., Loria R. Sensitivity to Thiabendazole in *Fusarium* species associated with dry rot of potato. *Phytopathology* 1996; 86 (4): 378- 84.

(34) Behroozin M., Assadi P. Report on three *Fusarium* species as the causal agents of the basal and root rot of onion and their distribution in East Azarbaijan. *Iranian Journal of Plant Pathology* 1994; 30 (1-2): 41- 9.

(35) Ershad D. *Fungi of Iran*. Tehran: Agricultural Research, Education and Extension Organization Press; 1995. 874 p.

(36) Zare R., Ershad D. *Fusarium* species isolated from cereals in Gorgan area. *Iranian Journal of Plant Pathology* 1997; 33 (1-2): 1- 14.

(37) Cullen DW., Toth IK., Pitkin R., Boonhan N., Walsh K et al. Use of quantitative molecular diagnostic assays to investigate *Fusarium* dry rot in potato stocks and soil. *Phytopathology* 2005; 95 (12): 1462- 71.

(38) Schisler A., Slininger PJ., Bothast RJ. Effects of antagonists cell concentration and two-strain mixtures on biological control of *Fusarium* dry rot of potatoes. *Phytopathology* 1997; 87 (2): 177- 83.

(39) Gerlach W., Nirenberg H. *The genus Fusarium. A pictorial atlas*. Berlin: BBA Press; 1982. 406 p.

(40) Saremi H. The *Fusarium* importance in agriculture. Ardabil: Ardabil Azad University Press; 1997.

(41) Karampour F., Hejaroud GA. *Fusarium* solani as the Chickpea black root rot agent

in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 1993; 29 (1-2): 147- 8.

(42) Nasr-Esfahani M., Mortazavi A. Comparative susceptibility of commercial cultivars and wild clones of potato to *Fusarium* dry rot. *Iranian Journal of Plant Pathology* 2004; 40 (3-4): 291- 311.

(43) Platt HW. Cultivar response to *Fusarium* storage rot as effected by two methods of seed origin propagation: Clonal selection and in vitro culture. *American Journal of Potato Research* 1992; 69 (3): 179- 86.

(44) Huaman Z., Tivoli B., Lindo L. Screening for resistance to *Fusarium* dry rot in progenies of cultivars of *S.* tuberosum. *American Journal of Potato Research* 1989; 66 (6): 357- 64.

(45) Sharifi K., Zare R., Zamani Zade H., Arjmandian A. *Fusarium* species causing dry rot of potatoes in Ardabil, Tehran and Hamedan provinces. *Plant pests and diseases* 2008; 76 (2): 93- 113.

(46) Sharifi K. *Evaluation of potato commercial cultivars and hopeful clones reaction to Fusarium species, the causal agent of dry rot of potato tubers and seeds*. Tehran: Iranian Institute of Plant Protection Press; 2011.

---

[1]- *Solanum tuberosum* L.
[2]- dry rot
[3]- *Fusarium* spp.
[4]- Ascomycota
[5]- Hypocreales
[6]- Necteriaceae
[7]- *F. oxysporum*
[8]- Theron and Holz
[9]- *F. sambusinum*
[10]- *F. solani*
[11]- *F. avenaceaum*
[12]- *F. equiseti*
[13]- *F. sporotrichioides*
[14]- *F. culmorum*
[15]- Phillip
[16]- *F. sulphureum*
[17]- *F. coeruleum*
[18]- *F. roseum*
[19]- Sharif and Ershad
[20]- Karimi
[21]- *F. chlamydosporum*
[22]- Mostofi zadeh- Ghalamfarsa and Banihashemi
[23]- *F. semitectum*
[24]- *F. graminearum*
[25]- Falahati Rastgar
[26]- *Cylindrocarpon didymum*
[27]- *Ralstonia solanacearum*
[28]- Nasr Esfahani
[29]- Tukey
[30]- Potato Dextrose Agar
[31]- Carnation Leaf Agar
[32]- Water Agar
[33]- False heads
[34]- Monophialide
[35]- Sporodochium
[36]- Seed and Plant Improvement Institute
[37]- Sabalan
[38]- Agria
[39]- Boren
[40]- Khavaran
[41]- *F. poae*
[42]- *Alternaria* spp.
[43]- *Aspergillus* spp.
[44]- *Colletotrichum* spp.
[45]- Booth
[46]- Nelson
[47]- El-Hassan
[48]- Nasr Esfahani and Mortazavi
[49]- Platt
[50]- Adora
[51]- Castil
[52]- *F. reticulatum*
[53]- Sharifi
[54]- Sharifi
[55]- *F. acuminatum*

The potato dry rot causal agent and severity in Ardabil storages and the resistance of cultivars to the disease

Leila Khoshnevis
MSc. Student of Plant Pathology, University of Guilan, Iran, khoshnevis@yahoo.com
Ahmad Rouhibakhsh *
Assistant Professor of Plant Virology, University of Guilan, Iran, a_rouhibakhsh1966@guilan.ac.ir
Sedigheh Mousanejad
Assistant Professor of Plant Pathology, University of Guilan, Iran, mousanejad@guilan.ac.ir

Abstract

Introduction: Dry rot is one of the most important diseases of potato in storages. The aim of this study was to determine dry rot severity in potato storages of Ardabil, identify the disease causal agents and evaluate some potato cultivars resistance to the disease.

Materials and methods: Totally 150 infected samples were collected from thirty nine studied storages in Ardabil. Dry rot severity and the prevalence of infected tubers were determined by surveying three 50 kg bags of potato in the storages. Fungi isolated and purified from the tubers with dry rot symptoms. A factorial design with four replications was applied in order to evaluate the reaction of five potato cultivars to four *Fusarium* species and determining the resistant one to dry rot. Potato tuber slices were inoculated by conidial suspension of *Fusarium* species. Four days after inoculation and maintaining in darkness and 25°C, the cultivars susceptibility was identified.

Results: Four species of *Fusarium* were identified as dry rot causal agents in Ardabil as follows: *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. solani* and *F. sporotrichioides*. There was no significant difference between *Fusarium* species in pathogenicity. The reaction of cultivars to various *Fusarium* species was different. Boren had the lowest infection (12.5%) and Sabalan showed the highest (98.87 %). Sabalan ،Khavaran ،Agria and hybrid line 3970093 displayed the highest susceptibility to various studied *Fusarium* species.

Discussion and conclusion: Based on the results, Boren is introduced as the most resistant cultivar to *Fusarium* dry rot and Sabalan, Agria and hybrid line 3970093 as the susceptible ones.

Key words: Potato, Dry rot, *Fusarium*, Resistance

* Corresponding author
Received: January 19, 2015 / **Accepted:** September 12, 2015