

جداسازی و ارزیابی میزان کارایی قارچ *Fusarium oxysporum* Schlecht. در کنترل زیستی گل جالیز مصری (*Phelipanche aegyptiaca* (Pers) Pomel.) در گوجه فرنگی

Isolation and evaluation of the efficacy of *Fusarium oxysporum* Schlecht. for biological control of Egyptian broomrape (*Phelipanche aegyptiaca* (Pers) Pomel.) in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

مسلم تقی پور<sup>۱</sup>، قربانعلی اسدی<sup>۲\*</sup>، مهدی راستگو<sup>۲</sup> و محمود رضا کریمی شهری<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۴

### چکیده

استفاده از قارچ‌های خاکزی همچون جنس فوزاریوم، یکی از استراتژی‌های کنترل و مدیریت گیاهان انگلی می‌باشد. بر این اساس به منظور ارزیابی پتانسیل بیماری‌زایی، از ساقه بوته‌های آلوده گل جالیز مصری (*Phelipanche aegyptiaca*)، قارچ *Fusarium oxysporum* جداسازی و پس از شناسایی، آزمایشی در محیط گلخانه با استفاده از دو تیمار تلقیح شده با سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* و تیمار شاهد (عدم تلقیح) انجام شد. در تیمار تلقیح شده، از سوسپانسیون قارچی با غلظت  $5 \times 10^7$  اسپور در میلی لیتر، به میزان ۵۰ میلی لیتر به ازای هر گلدان و در تیمار شاهد از آب شیر استفاده شد. صفات مورد مطالعه شامل تعداد کل ساقه‌های انگل، تعداد ساقه‌های انگل خارج شده، تعداد ساقه‌های انگل بیمار و مرده، تعداد ساقه‌های انگل سالم، تعداد ساقه‌های گل داده، تعداد ساقه انگل به ازای بوته، ارتفاع ساقه های انگل، وزن خشک گل جالیز مصری و وزن خشک بوته‌های گوجه‌فرنگی بودند. نتایج مقایسه میانگین دو تیمار با آزمون *t*-test، اختلاف معنی‌داری را در وزن خشک گل جالیز و گوجه‌فرنگی نشان داد به طوری که میانگین وزن خشک گل جالیز در تیمار تلقیح شده با قارچ *F. oxysporum* (۶ گرم)، در مقایسه با تیمار شاهد (۱۶/۸۴ گرم)، ۲/۸ برابر کمتر بود. همچنین بیشترین میانگین وزن خشک گوجه‌فرنگی (۳۶/۴۳ گرم) در تیمار تلقیح شده با قارچ *F. oxysporum* مشاهده شد که نسبت به شاهد با ۲۵/۲۵ گرم، ۴۴/۲۲ درصد افزایش داشته است. در آزمون دامنه میزبانی نیز، هیچ یک از گیاهان آزمون شده علائم آلودگی پایداری را اعم از پژمردگی دائم و نکروزه شدن، نشان ندادند. به طور کلی استفاده از این گونه قارچ در کنترل زیستی گل جالیز مصری توانست بر روی تمامی صفات مورد مطالعه موثر واقع شود، ماده خشک گل جالیز مصری را کاهش و ماده خشک گوجه‌فرنگی را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: قارچ خاکزی، دامنه میزبانی، کنترل زیستی، گیاه انگلی، مدیریت گل جالیز.

۱ - دانشجوی دکتری علوم علف های هرز دانشگاه فردوسی مشهد.

۲ - دانشیار و مدرس گروه اگروتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

۳ - استادیار بخش گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ایران.

\* مسئول مکاتبات: asadi@um.ac.ir

## مقدمه

(Mozaffari, 1996). در کشورهای همچون ایران، عراق، پاکستان، عربستان سعودی، فلسطین اشغالی و افغانستان گل جالیز مصری می‌تواند در محصولات تیره سیب-زمینی (*Solanacea*) مخصوصا گوجه‌فرنگی، به عنوان آسیب‌پذیرترین محصول نسبت به گل جالیز مصری (Joel *et al.*, 2007) تا ۴۰ درصد ایجاد خسارت کند (Das *et al.*, 2019) خسارت گل جالیز نسبت به میزان از طریق کاهش عملکرد محصول و کاهش کیفیت محصول تولیدی، مستقیم است ولی علاوه بر اینها به دلیل داشتن ویژگی‌هایی همانند داشتن میزان تخصصی، روش‌های متنوع و مختلف پراکنش، رقابتی و مهاجم بودن نسبت به میزان، تولید بذر فراوان، طولانی بودن زمان زنده‌مانی بذر باعث شده است که کنترل گل جالیز با روش‌های مدیریتی معمول دشوار باشد (Rathore *et al.*, 2014). این علف هرز انگلی، بیشترین خسارت خود را قبل از خروج ساقه‌های گل‌دهنده‌اش وارد می‌کند، بنابراین کاهش اصلی محصول ممکن است پیش از پیدایش آلودگی رخ دهد. از این رو، استراتژی‌های کنترلی این گیاه انگلی بایستی قادر باشد قبل از خروج از خاک و استقرار آن، در مراحل اولیه وارد آوردن خسارت به گیاه محصول آن را محدود کند (Habimana *et al.*, 2014). یکی از استراتژی‌هایی که می‌تواند نقش مهمی در کنترل گیاهان انگل ریشه داشته باشد، استفاده از عوامل کنترل زیستی مخصوصا قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی هستند. عوامل کنترل زیستی قارچی (Biological Control Agents) می‌توانند در جایی که آفت‌کش‌های شیمیایی غیرقابل استفاده‌اند (ارگانوکلرین‌ها) و یا از رده خارج شده‌اند (مانند متیل بروماید) و یا در جایی که مقاومت به علف‌کش‌ها گسترش یافته است، بکار گرفته شوند. روش‌های زیستی در کنترل گل جالیز در محصولات مختلف بوسیله محققین متعددی انجام شده ولی هیچ یک از آنها به طور کامل موثر نبوده است (Amsellem *et al.*, 2001a). در بین گونه‌های قارچی انگل که به عنوان مهاجم

گیاهان انگلی موجود در سطح جهان؛ به استثنای قطب جنوب، که شامل یک درصد کل ۲۶۰۰۰۰ گونه نهان‌دانه در ۲۸ خانواده گیاهی می‌باشند (Eizenberg and Goldwasser, 2018)، شامل جنس‌های شناخته شده‌ای در سطح جهان از جمله *Striga*, *Orobancha/Phelipanche* و *Cuscuta* می‌باشد که به طور مستقیم آب و مواد غذایی در دسترس میزان را مورد استفاده قرار می‌دهند (Fernandes- Aparicio *et al.*, 2020). گل جالیز؛ انگل مطلق ریشه گیاهان دولپه بوده و به دلیل فقدان برگ و کلروفیل و عدم فتوسنتز، با جذب آب و مواد غذایی از گیاه میزان، سبب کاهش رشد و ایجاد خسارت در محصول از ۵ تا ۱۰۰ درصد می‌شود. دامنه میزبانی این گیاه انگلی بسیاری از گیاهان زراعی دولپه همانند گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.)، تنباکو (*Nicotinatabacum* L.)، آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، کلزا (*Brassica napus* L.)، نخود (*Cicerarietinum* L.) و خربزه (*Cucumismelo* L.) می‌باشد و در بیشتر از ۸۰ کشور جهان و ۱۶ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی دنیا گزارش شده است (Minbashi, 2003). جنس گل جالیز (*Orobancha*) دارای بیش از ۱۵۰ گونه است که مهمترین آنها عبارتند از *O. crenata*, *O. aegyptiaca*, *O. ramose*, *O. cernua*, *O. cumana*, *O. minor* در حدود چهار الی پنج درصد اراضی کشاورزی دنیا به انگل‌های ریشه‌ای گل جالیز و استرایگا (*Striga* spp.) آلوده هستند (Sauerborn, 1991). در ایران ۳۶ گونه گیاه انگلی گل جالیز وجود دارد که در بین همه آنها گونه *O. aegyptiaca* که مترادف آن *Phelipanche aegyptiaca* می‌باشد، از اهمیت بیشتری برخوردار است و خسارت قابل توجهی را به محصولات مختلف زراعی، سبزیجات، صیفی جات و درختان میوه وارد می‌کند

## جداسازی و ارزیابی میزان کارایی قارچ ...

بودن آنها که می‌تواند در اولین مراحل فعالیت گیاهان انگلی جنس فوزاریوم مهمترین کاندید برای کنترل زیستی بوده‌اند (Sauerborn *et al.*, 2007). از بین گونه‌های مختلف جنس فوزاریوم، گونه *Fusarium oxysporum* دارای فرم‌های اختصاصی (*Formae speciales*) زیادی است که باعث ایجاد بیماری در میزبان‌هایشان می‌شوند (Michieles and Rep, 2009). قارچ *F. oxysporum* شامل هم‌استرین‌های بیماری‌زا و هم غیر بیماری‌زا است. فرم‌های بیماری‌زای گیاهی، باعث ایجاد پژمردگی آوندی در میزبان می‌شوند. این قارچ تولید هاگ‌های غیر جنسی (هاگ‌های میتوسپوری) شامل میکروکنیدی، ماکروکنیدی و کلامیدوسپور می‌کند (Gordon and Martyn, 1997). قارچ‌های گونه فوزاریوم به دلیل مزایایی که دارند، می‌توانند به عنوان عوامل کنترل زیستی مورد استفاده قرار گیرند؛ مزایایی همچون راحتی کشت در محیط‌های کشت مصنوعی، تولید فراوان زادمایه (*Inoculum*) و خاکزری

انجام شد.

مصری، به مدت ۲۰ دقیقه با آب شیر شسته شده سپس در زیر هود لامینار (Laminar Air Flow, Class II, Pooya Electronic, Iran) روی کاغذ صافی واتمن (Whatman GF/A) گذاشته شده تا خشک شوند. سپس برش‌هایی با استفاده از تیغه اسکالپل استریل به اندازه ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر از نزدیک‌ترین محل آلودگی یا لبه آلودگی در ساقه گل دهنده گل جالیز از محل آوند‌های آلوده زده شد. نمونه‌ها ابتدا به مدت ۹۰ ثانیه در الکل ۷۶ درصد غوطه‌ور شده و پس از آن با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۲ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس سه بار با آب مقطر استریل شسته شده و سپس بر روی کاغذ صافی واتمن در زیر هود قرار داده شدند تا خشک شود. چهار قطعه از نمونه‌های گیاهی درون پتری‌دیش‌هایی شیشه‌ای با قطر نه سانتی‌متر حاوی محیط آب آگار (Water agar) در چهار طرف تشتک پتری‌دیش قرار داده شدند و درب آنها با پارافیلیم محکم شده و در انکوباتور (Behdad, BI, 65)

## مواد و روش‌ها

این پژوهش طی دو سال (سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹) در آزمایشگاه و گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و همچنین مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی خراسان رضوی و دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد.

## - جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی قارچ *Fusarium oxysporum*

ساقه‌های آلوده و بیمار گل جالیز مصری در اواخر تابستان سال ۱۳۹۸ از بوته‌هایی که دارای علائم بیماری از قبیل پژمردگی آوندی، آویختگی بوته و یا علائم کلروز و نکروز در محل ساقه گل دهنده بودند، از مزارع زیر کشت گوجه-فرنگی در اراضی کشاورزی واقع در حاشیه شهر مشهد با مختصات جغرافیایی  $36^{\circ}18'N$ ,  $50^{\circ}58'E$  و ارتفاع ۹۶۶ متر از سطح دریا، جمع‌آوری و در پاکت‌های کاغذی قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل شدند. ساقه‌های آلوده گل جالیز

## جداسازی و ارزیابی میزان کارایی قارچ ....

بیشتری داشتند، انتخاب و پس از کشت نوک هیف آنها در محیط WA، شناسایی اولیه در بخش گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد و برای شناسایی دقیق تر به موسسه توپاژ کرج فرستاده شدند. برای شناسایی مجدد جدایه قارچی بر اساس اصول و روش کخ؛ جداسازی قارچ *F. oxysporum* از ساقه‌های آلوده گل جالیز مصری آلوده در آزمایش بیماریزایی انجام و بر اساس مشخصات مرفولوژیکی و میکروسکوپی پرگنه‌ها و اندام‌های قارچی رشد یافته در محیط کشت طبیعی PDA، CLA و WA شامل رنگ و اندازه پرگنه، شکل و نوع میکرو و ماکرو کنیدیوم، وجود یا عدم وجود کلامیدوسپور، شکل و اندازه فیالیدها بر اساس منابع معتبر همانند اشنايدر و هانس، بوس، داس و همکاران ( Snyder & Hansen, 1954; Booth, 1971; Das et al., 2019) ارزیابی و مجدداً شناسایی شد.

فلاسک شیکر (Flask shaker, FL 83, IRAN) با چرخش ۱۳۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه به مدت شش روز قرار داده شده تا کنیدیوم فراوان تولید شود. برای فیلتراسیون و جدا نمودن قطعات میسلیوم قارچی از اسپورها (کنیدیوم‌ها) از پارچه پنیر هشت لایه استفاده شد، سپس فازهای سوسپانسیون قارچی بدست آمده با دور ۵۰۰۰ به مدت پنج دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ (Hettich, Zentrifugen, EBA 21, Germany) جداسازی شده و پس از آن دو بار دیگر با آب مقطر سانتریفیوژ شده تا تمام عصاره و مواد غذایی اطراف اسپورها شسته شوند. پس از تهیه سوسپانسیون قارچی و قبل از تلقیح آن در خاک، تعداد اسپور آن در میلی لیتر (Clony forming unit) با استفاده از یک عدد هموستیومتر (Precicolor, HBG, Germany) محاسبه و در میزان  $10^7 \times 5$  اسپور در میلی لیتر تنظیم شد.

- **آزمایش گلدانی بیماریزایی قارچ *F. oxysporum***

(incubator) در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و ۱۲/۱۲ ساعت (روشنایی و تاریکی متناوب) داده شدند. پس از هفت روز، از نمونه‌های درون انکوباتور کشت دیگری (sub culture) در محیط سیب‌زمینی- دکستروز آگار (Potato Dextrose Agar) تهیه گردید. به این منظور با استفاده از سوزن تلقیح از کلونی‌های هفت روزه تشکیل شده در اطراف نمونه‌های کشت شده، تکه‌های کوچکی از محیط کشت همراه با میسلیوم رشد یافته برداشته شد و در وسط پتری-دیش‌های حاوی محیط PDA قرار داده شد. ۳۶ عدد پتری دیش شش سانتی متری یک بار مصرف حاوی محیط PDA کشت شده با قارچ، با پارافیلیم محکم شده و در شرایط محیطی آزمایشگاه به مدت چهار روز قرار داده شدند تا رشد نمایند. پس از گذشت این مدت، پرگنه‌های رشد یافته بررسی شده و از میان ۳۶ نمونه قارچی رشد یافته در محیط PDA، تعداد هشت پرگنه قارچی در هشت پتری دیش را که از لحاظ مرفولوژیکی به قارچ *F. oxysporum* شباهت

- **تهیه زادمایه و سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum***

برای تهیه سوسپانسیون قارچی جهت تلقیح گلدانی در آزمایش بیماریزایی، با استفاده از تکه‌هایی ۰/۵ سانتی متری (به ازای هر پتری‌دیش یک تکه) حاوی قارچ *F. oxysporum* نگه‌داری شده در محیط (Sucrose Nutrient Agar) SNA در زیر هود و با رعایت شرایط استریل، در محیط PDA انجام شد. پس از آن با پارافیلیم درب پتری‌ها محکم شده و برای رشد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (دمای معمولی اتاق) قرار داده شدند. جهت تهیه زادمایه قارچی جهت تلقیح، ابتدا محیط PDB (Potato Dextrose Broth) تهیه و درون ظروف ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شده و سپس در اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. آنگاه در زیر هود تکه‌هایی ۰/۵ میلی-متری از محیط PDA چهار روزه، حاوی میسلیوم و هاگ قارچ درون ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری قرار داده شدند (به ازای هر ارلن‌مایر سه تکه محیط PDA). سپس درب ارلن‌مایرها دوباره با فویل آلومینیومی محکم شده، بر روی

با استفاده از قارچ فوزاریوم (جدا شده از محل آوند لیترا از سوسپانسیون آماده شده قارچ فوزاریوم، روی سطح خاک گلدان‌ها ریخته شده و سپس برای نفوذ به منطقه ریشه و محل اتصال ریشه با هاستوریوم گل جالیز به میزان خیلی کمی آب به آن اضافه شد. پس از گذشت ۴۰ روز از کاشت گلدان‌ها، اولین ساقه انگل گل جالیز مصری خارج شده و سپس بقیه ساقه‌های انگل گل جالیز مصری به مرور خارج شدند. در طول دوره داشت (۹۰ روز) نیز یک نوبت کود سرک با محلول کودی اوره با غلظت ۳ گرم در لیتر انجام و مبارزه با آفات گلخانه‌ای مانند مگس سفید (*Trialeurodes vaporariorum*) و مینوز گوجه-فرنگی (*Liriomyza huidobrensis*) در چند نوبت با سموم مختلف از جمله استامی پراید (*Acetamipride*) با غلظت ۰/۵ در هزار، دای کلرووس (*Dichlorvos*) با غلظت ۱/۵ در هزار و تیاکلوپراید (*Thiacloprid*) به میزان ۰/۵ در هزار انجام شد. پس از پایان ۹۰ روز، جمع‌آوری داده‌ها بر اساس شاخص‌های مورد مطالعه شامل تعداد کل ساقه‌های انگل، تعداد ساقه‌های انگل خارج شده، تعداد ساقه‌های انگل بیمار و مرده، تعداد ساقه‌های انگل سالم، تعداد ساقه‌های گل داده، تعداد ساقه انگل به ازای بوته، ارتفاع ساقه‌های انگل، وزن خشک گل جالیز مصری و وزن خشک بوته‌های گوجه‌فرنگی انجام گرفت.

#### - آزمون دامنه میزبانی

به منظور آزمون عدم بیماری‌زایی قارچ فوزاریوم بر روی گیاه اصلی و نه گیاه دیگر متعلق به خانواده گیاه اصلی و چند خانواده گیاهی دیگر، آزمایشی گلخانه‌ای تحت عنوان آزمون دامنه میزبانی با دو تیمار تلقیح با سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* و عدم تلقیح (شاهد) و هر تیمار با ۱۰ تکرار انجام شد. ۱۰ گیاه مورد استفاده در این آزمایش شامل؛ بادنجان (*Solanum melongena L.*)، فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum L.*) از خانواده سیب‌زمینی؛ خیار

برای انجام آزمون بیماری‌زایی بر روی گل جالیز مصری ساقه‌های آلوده گل جالیز مصری (آزمایشی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و ۲۰ تکرار انجام شد. تیمارها شامل تلقیح شده با قارچ فوزاریوم و تیمار عدم تلقیح به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. ۴۰ عدد گلدان پلاستیکی (ارتفاع و قطر دهانه گلدان ۲۰ × ۱۷ سانتی-متر) و ظرفیت حدود ۴/۵ کیلوگرم خاک انتخاب و سپس هر کدام از آنها با مخلوط خاکی به نسبت ۱:۱:۱:۰/۵ (خاک مزرعه، شن و کود حیوانی) با اسیدیته pH = ۷/۳ و شوری EC = ۱۱۳۳ میکروزیمنس که در کیسه‌های ۵ کیلوگرمی ریخته شده و در اتوکلاو به ظرفیت ۱۰۰ کیلوگرم در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس، فشار بخار ۱۵ پاسکال به مدت یک ساعت استریل شده بود، پر شدند به نحوی که وزن هر گلدان‌ها به ۴ کیلوگرم رسید. پس از آن خاک را در گلدان‌ها ریخته و گلدان‌ها را به صورت کاملاً تصادفی در محیط گلخانه مرتب نموده و سپس در هر گلدان تعداد پنج بذر ضدعفونی شده گوجه‌فرنگی رقم موبایل (*Mobil*) در ۱-۲ سانتی متری خاک بالای گلدان کاشته شد. قبل از کاشت بذور گوجه‌فرنگی، مقدار ۰/۱ گرم از بذر گل جالیز مصری (ضدعفونی سطحی شده با اتانول ۷۰ درصد) با عمر یک سال، با خاک پنج سانتی متری بالای گلدان‌ها مخلوط شدند. پس از کشت، بلافاصله آبیاری انجام شد و دمای گلخانه در ۲۵ درجه سلسیوس در روز و ۱۸ درجه سلسیوس در شب تنظیم گردید. در زمان کاشت مقدار ۰/۵ گرم از کود NPK ۲۰-۲۰-۲۰ به هر گلدان اضافه شد. آبیاری گلدان‌ها به طور مرتب دوبار در طول هفته انجام شد. پس از گذشت دو هفته از زمان کاشت، بوته‌های اضافی در هر گلدان حذف و فقط دو گیاهچه در هر گلدان باقی گذاشته شد. قبل از تلقیح سوسپانسیون قارچی، خاک گلدان‌ها مرطوب شده بود تا جذب و نفوذ اسپورهای قارچ *F. oxysporum* بهتر انجام شود. در تیمارهای تلقیح قارچی، مقدار ۵۰ میلی

## جداسازی و ارزیابی میزان کارایی قارچ ....

روز گیاهچه‌های آزمون دامنه میزبانی کنترل و بررسی‌های لازم انجام شده تا در صورت بروز علائم یادداشت شوند. در پایان دوه ۶۰ روزه از زمان کاشته شدن، جمع‌آوری و آنالیز داده‌ها انجام شد.

### - آنالیز داده‌ها

در پایان دوره داشت در آزمایش گلدانی در گلخانه (۹۰ روز پس از کاشت)، داده‌های مربوط به صفات رشدی مورد مطالعه شامل تعداد کل ساقه‌های انگل گل‌جالیز، تعداد ساقه‌های انگل خارج شده، تعداد ساقه‌های انگل گل داده، تعداد ساقه‌های انگل سالم، آلوده و مرده، تعداد ساقه انگل به ازای بوته، ارتفاع ساقه‌های انگل، وزن خشک ساقه‌های انگل گل-جالیز و گیاه گوجه‌فرنگی جمع‌آوری و سپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1, 3 بر اساس مقایسه دو میانگین با آزمون T در سطح ۵ درصد ( $p \leq 0.05$ ) آنالیز شده و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ انجام شد. لازم به ذکر است پیش از مقایسه میانگین‌ها آزمون نرمال بودن انجام شد.

## نتایج و بحث

### جداسازی و شناسایی قارچ *F. oxysporum*

پس از بررسی‌های انجام شده بر روی جدایه‌های قارچی بر اساس توالی یابی ژن *Ef-1α*، مشخص شد که از بین ۸ جدایه قارچی مطالعه شده، چهار جدایه‌های قارچی S1, S2, S3 و S4 (گروه یک) متعلق به قارچ گونه *F. tricinctum*، دو جدایه S5 و S6 (گروه چهار) متعلق به قارچ گونه *F. eguisei*، جدایه S7 (گروه دو) متعلق به قارچ گونه *Fusarium* sp. و جدایه S8 (گروه سه) نیز به قارچ گونه *F. oxysporum* تعلق داشته است که برای ادامه کار و آزمایشات بعدی از این ایزوله استفاده شد (جدول ۱).

(*Cucumis sativus* L.)، کدو (*Cucurbita pepo*) (L. و خربزه (*Cucumis melo* L.) از خانواده کدوئیان؛ هویج نانئیس (*Dacus carota* L.) از خانواده چتریان؛ آفتابگردان از خانواده کاسنی؛ لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) از خانواده بقولات و گندم (*Triticum aestivum* L.) از خانواده گندمیان و خود گوجه‌فرنگی بودند. بر این اساس ۱۰۰ گلدان پلاستیکی در ابعاد ۱۴ × ۲۵ سانتی‌متر (ارتفاع و قطر دهانه) به ظرفیت حجمی دو کیلوگرم خاک استفاده شد. خاک مورد استفاده برای گلدان‌ها به نسبت ۵/۰: ۱: ۱ کود دامی، شن و خاک مزرعه بود. پس از استریل نمودن خاک در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس، فشار ۱۵ پاسکال به مدت ۳۰ دقیقه) به گلخانه منتقل شده و سپس گلدان‌ها از خاک پر شده و در هر گلدان سه عدد بذر از هر گیاه در عمق مناسب کاشته شدند. پس از تصادفی سازی چینش تیمارها و تکرارها در گلخانه آبیاری انجام شد. در طی فصل رشد، مبارزه با آفات و بیماری‌ها بر اساس توصیه‌های گیاهپزشکی انجام شده و آبیاری نیز به صورت هفتگی در دو تا سه نوبت بسته به نیاز انجام شد. دو هفته پس از رویش گیاهچه‌ها، بوته‌های اضافی حذف شده و در هر گلدان یک بوته نگه داشته شد (به جز گندم که دو بوته در هر گلدان نگه داشته شد). ۲۵ روز پس از سبز شدن، در هر گلدان مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی شش روزه با تراکم حداقل ۱۰<sup>۷</sup> × ۵ اسپور در هر میلی‌لیتر در پای بوته‌هایی که از قبل مرطوب شده بودند، ریخته شد. سپس یک نوبت آبیاری بسیار سبک به منظور پراکنده شدن اسپورها تا محل ریشه گیاهچه‌ها انجام شد. همچنین جهت جلوگیری از خشک شدن پای بوته‌ها و تامین رطوبت مورد نیاز برای فعالیت قارچی و جوانه‌زدن آنها، هر روز یک نوبت آبیاری سبک تا روز سوم انجام شد. پنج روز پس از تلقیح سوسپانسیون قارچی تا ۳۰ روز پس از آن، هر

جدول ۱- شناسایی گونه های قارچ *Fusarium* جدا شده از گل جالیز مصری در توالی یابی ژن *Ef- 1α*

Table 1- *Fusarium* species identification isolated from *O. aegyptiaca* based on sequences of translation elongation factor (*Ef- 1α*) gene

گونه قارچی	کد توالی یابی	کد جدایه	گروه قارچی
Fungi species	Sequences code	Isolate Code	Fungi group
	SH73	S1	
<i>F. acuminatum/ F. tricintum</i>	-	S2	گروه یک
	-	S3	Group 1
	-	S4	
<i>Fusarium</i> sp.	SH75	S7	گروه ۲
<i>F. oxysporum</i>	SH76	S8	گروه ۳
<i>F. equiseti</i>	-	S5	گروه ۴
	SH74	S6	Group 4

اطلاعات مربوط به کد جدایه و گروه قارچی در ارتباط با این پژوهش بوده که توسط محققین داده شده است.

Isolate code and fungi group data that use by researchers, is connected this research.

نتایج نشان داد که اختلاف دو میانگین کلیه صفات مورد مطالعه در دو تیمار تلقیح شده با سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* و تیمار عدم تلقیح (شاهد)، معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) بوده و نشان دهنده تاثیرات مشهود کاربرد سوسپانسیون قارچی بر روی کلیه صفات اندازه گیری شده گیاه انگلی و گیاه محصول است. با توجه به نتایج، تعداد کل ساقه های انگل گل جالیز مصری در تیمار تلقیح شده با سوسپانسیون قارچ فوزاریوم نسبت به تیمار عدم تلقیح قارچی (شاهد) حدود ۳ برابر کمتر بوده است (شکل ۱). تعداد ساقه های انگل خارج شده از خاک گل جالیز مصری نیز متاثر از فعالیت قارچ مذکور در تیمار تلقیح شده در مقایسه با تیمار عدم تلقیح کاهش ۴ برابری را نشان می دهد. بر همین اساس تعداد ساقه های انگل گل جالیز مصری به

مشخصات مرفولوژیکی و میکروسکوپی اندام های قارچ *F. oxysporum* پس از جداسازی و شناسایی مجدد پس از گذشت چهار روز از رشد قارچ *F. oxysporum* در محیط PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، پرگنه ای (Clony) به صورت میسلیوم های پنبه ای متراکم به رنگ سفید و به قطر ۳/۵ سانتیمتر تشکیل شد. رشد قارچ *F. oxysporum* در محیط CLA نیز تشکیل میکروکنیده های فراوان به شکل بیضوی تک سلولی و دوسلولی بر روی فیالیدهای منفرد و کوتاه نمود. ماکروکنیدی های قایقی شکل خمیده و دارای سه جدار عرضی در محیط CLA و بر روی کنیدیو فورهای منشعب در اسپورودوکیوم های کم رنگ تولید شدند. کلامیدوسپورها نیز پس از گذشت ۴۰ روز در محیط WA تشکیل شدند.

- آزمایش گلدانی بیماریزایی

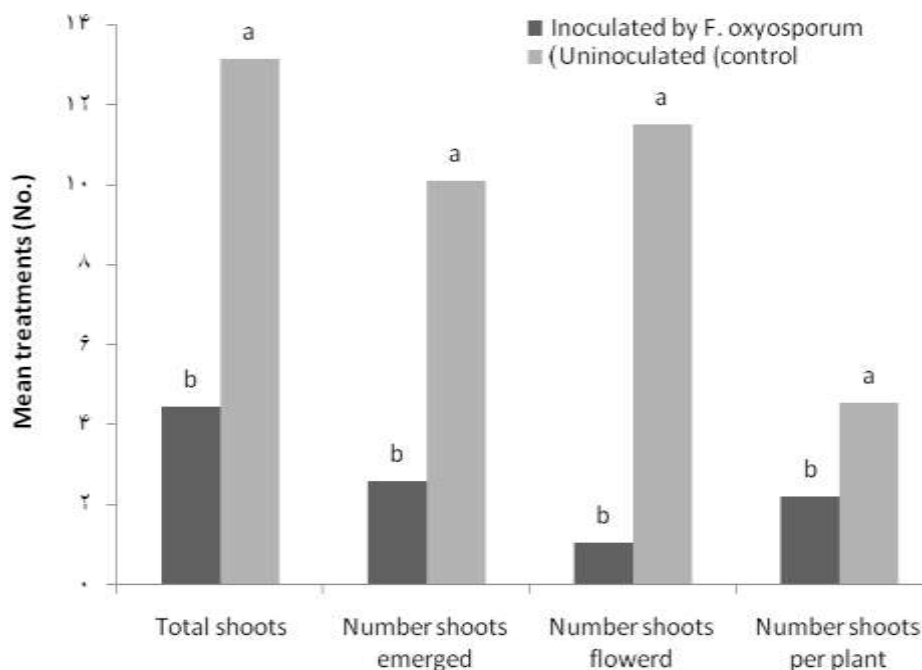
## جداسازی و ارزیابی میزان کارایی قارچ ....

تحقیقات انجام شده بدین گونه است که تعداد و وزن تازه ساقه‌های انگل خارج شده گل جالیز در زمانی که قارچ‌های مختلف به عنوان عامل کنترل زیستی ارزیابی می شدند محاسبه شده و بهترین جدایه‌ای که در آن پژوهش به دست آمد، قارچ *F. oxysporum* (FT<sub>2</sub>) بود که سبب ۷۰ درصد کاهش ساقه‌های انگل خارج شده گل جالیز بعد از کاربرد حداقل ۱۰<sup>۷</sup> اسپور در گلدان بود. از دیگر نتایج بدست آمده در این آزمایش، کاهش ۴۰ درصدی ساقه‌های انگل خارج شده و زیرزمینی گل جالیز بود (Boari and Vurro, 2004). همچنین بر اساس نتایج بدست آمده در تحقیقات انجام شده توسط عبدالقادر و ال موگی (Abdel-Kader and El-Mougy, 2009)، گونه‌های مختلف قارچ فوزاریوم، جزء فراوان‌ترین قارچ‌های موجود در ریزوسفر گیاهانی مانند گوجه‌فرنگی، لویا و نخودفرنگی بوده که باعث آلودگی شدیدی در گل جالیز شده به طوری که موجب کاهش ۴۰ تا ۵۰ درصدی خروج ساقه‌های انگلی و کاهش ۸۰ تا ۱۰۰ درصدی آلودگی به گل جالیز شده است.

ازای بوته گوجه‌فرنگی در دو تیمار تلقیح شده قارچی و عدم تلقیح (شاهد) نیز دارای اختلاف معنی‌داری بوده به نحوی که تعداد ساقه‌های انگل گل جالیز به ازای هر بوته در کاربرد سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* حدود ۳ برابر کاهش داشته است (شکل ۱).

همچنین یافته‌ها نشان داد که کاربرد سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* باعث کاهش ساقه‌های گل دهنده انگل گل جالیز مصری شد. به نحوی که تعداد ساقه‌های انگل خارج شده که توانستند به مرحله گل‌دهی برسند، به طور معنی‌داری نسبت به حالت عدم استفاده از سوسپانسیون قارچی (شاهد) کاهش داشتند. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، تعداد ساقه‌های انگل گل‌داده گل جالیز مصری در تیمار شاهد بیش از ۴ برابر تیمار کاربرد سوسپانسیون قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم می‌باشد. در گلدان‌های شاهد (عدم تلقیح)، ساقه‌های انگل گل جالیز مصری زودتر از خاک خارج شده و به مرحله گل‌دهی رسیدند و تعداد ساقه‌های گل دهنده نیز بیشتر شد. در این خصوص پژوهش‌های مختلفی انجام شده و نتایج مشابه‌ای هم بدست آمده است به عنوان مثال نتایج یکی از این





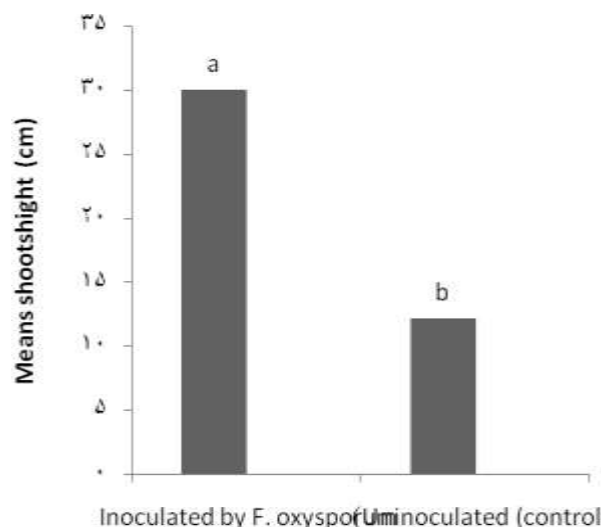
شکل ۱- اثر کاربرد سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* بر روی تعداد کل ساقه انگل، تعداد ساقه های انگل خارج شده، تعداد ساقه انگل گل داده و تعداد ساقه انگل به ازای هر بوته. حروف مشابه بر روی ستون ها بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ بر اساس آزمون t-test می باشد.

Figure 1- Effect suspension *F. oxysporum* on total shoots number, number shoots emerged, number shoots flowered and number shoots per plant. Same letter on each column indicates not significant difference (t- test at  $P \leq 0.05$ )

(Elmurodov, 2021). همچنین غزنوی و همکاران (Ghaznaviet al., 2019). در پژوهش دیگری که با استفاده از علف کش زیستی اروساید (Orocide) که به دو روش سم آبیاری (Herbigation) و خیساندن ریشه گوجه فرنگی در محلول علف کش زیستی انجام شد، مشخص نمودند که کاهش ارتفاع گل جالیز مصری در دو تیمار فوق به ترتیب ۴۴ و ۲۳ درصد در مقایسه با تیمار شاهد بوده است.

اختلاف میانگین ارتفاع ساقه های انگل گل جالیز نیز در دو تیمار تلقیح قارچی و عدم تلقیح معنی دار بود بر این اساس بیشترین میانگین ارتفاع ساقه های انگل گل جالیز در تیمار عدم تلقیح (۲۸/۶ سانتی متر) مشاهده گردید و نسبت به تیمار تلقیح قارچی (۱۲/۱ سانتی متر)، حدود ۲/۳ برابر افزایش ارتفاع در ساقه های انگل گل جالیز مصری مشاهده شد (شکل ۲). بر اساس بررسی های مشابه انجام شده، ارتفاع ساقه های گل جالیز مصری در گوجه فرنگی در شرایط عدم کنترل، ۳۷/۴ سانتی متر می باشد

## جداسازی و ارزیابی میزان کارایی قارچ ....

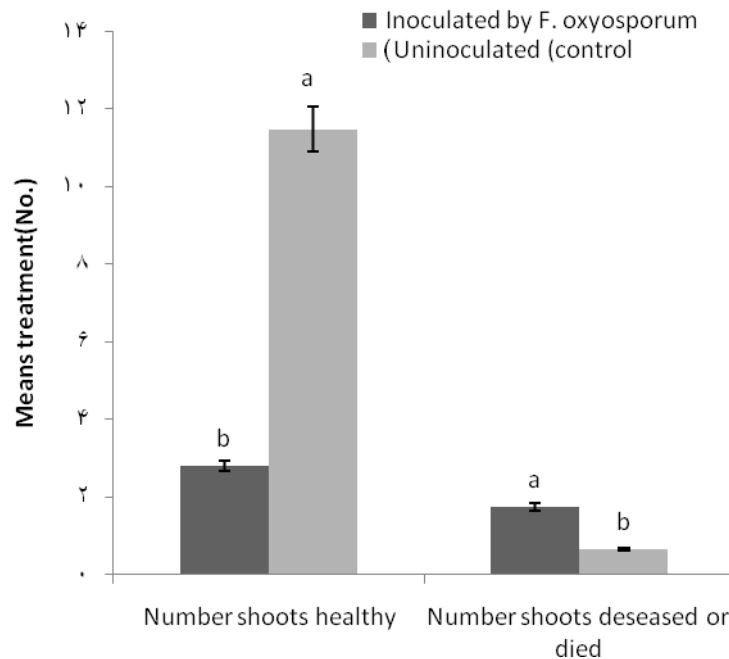


شکل ۲- اثر کاربرد سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* بر روی ارتفاع ساقه‌های انگل گل جالیز مصری. حروف مشابه بر روی ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ بر اساس آزمون t-test می‌باشد.

Figure 2- Effect suspension *F. oxysporum* on shoots heights *P. aegyptiaca*. Same letter on each column indicates not significant difference (t- test at  $P \leq 0.05$ )

ساقه‌های انگل گل جالیز مصری خارج شده از خاک نیز آلودگی به قارچ را نشان داده و در برخی موارد باعث مرگ و میر کامل آنها گردید. در این ارتباط محققین نیز نشان دادند که تراکم گل جالیز مصری در زمانی که از علف کش زیستی اروساید به طریق سم آبیاری استفاده شد، ۵۱ درصد نسبت به شاهد کاهش داشته است (Ghaznavietal., 2019). استفاده از سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum*، یا از اتصال بذر تندش یافته گل- جالیز به ریشه‌های گیاه میزبان جلوگیری نموده و یا پس از اتصال و در مراحل اولیه رشد گیاهچه‌های (زگیل‌ها) گل جالیز، از رشد آنها جلوگیری نموده و سبب انسداد آوندی، پژمردگی، آویختگی بوته و نهایتاً مرگ آنها شده و همین امر سبب کاهش تعداد ساقه‌های انگل و بوته‌های گل جالیز مصری شده است (شکل ۴).

از دیگر نتایج بدست آمده در این پژوهش می‌توان به اختلاف معنی‌داری در شاخص تعداد ساقه‌های انگل سالم، مرده یا آلوده گل جالیز مصری به قارچ *F. oxysporum* در دو تیمار تلقیح شده قارچی و عدم تلقیح اشاره کرد، به نحوی که در تیمار تلقیح شده قارچی تعداد ساقه‌های انگل سالم حدود ۴/۵ برابر و تعداد ساقه‌های انگل مرده یا آلوده به قارچ ۲/۶ برابر نسبت به تیمار شاهد بیشتر بوده است (شکل ۳). استفاده از سوسپانسیون قارچی در مراحل اولیه رشد گل جالیز و اتصال توپرکل-ها (Tubercles) خیلی مهم است، چرا که به دلیل جوان بودن و عدم استقرار کامل، حساسیت بالایی به قارچ داشته و زودتر آلوده می‌شوند. در فاصله زمانی بین ۲۰ تا ۲۵ روز از کاشت بذور گیاه اصلی که اتصال گیاه انگلی به ریشه گیاه میزبان در حال رخ دادن است، آلودگی به قارچ و تلقیح قارچی بهترین زمان برای جلوگیری از این اتصال می‌باشد.



شکل ۳- اثر کاربرد سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* در آلودگی و بیماریزایی ساقه های انگل گل جالیز مصری. حروف مشابه بر روی ستون ها بیانگر عدم معنی داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون t- test می باشد. خطوط عمودی روی ستون-ها بیانگر خطای استاندارد می باشد.

Figure 3- Effect suspension *F. oxysporum* on contaminated and diseased shoots *P. aegyptiaca*. Same letter on each column indicates not significant difference (t- test at  $P \leq 0.05$ ). Bars on columns represents standard error.

پلاستیکی استفاده شود، می تواند تا ۷۰ درصد گیاهچه های گل جالیز مصری را از بین ببرد. و یا در آزمایشات گلدانی دیگری که توسط قائم و همکاران (Ghannamet *al.*, 2007) انجام گرفت، مشخص شد که ایزوله های قارچی *F. oxysporum* عموماً از *F. solani* در کنترل گل جالیز موثرتر هستند. جدایه های *F. oxysporum* با غلظت  $10^8$  اسپور در میلی لیتر باعث مرگ و میر ساقه های گل دهنده گل جالیز را از ۱۶/۲ تا ۷۲ درصد در مقایسه با شاهد شد در حالی که جدایه های *F. solani* توانست ۵۶/۹ درصد ساقه های گل دهنده را از بین ببرد.

نتایج آزمایشات گلخانه ای و سیستم پاکت پلاستیکی (Poly bag) که توسط محققان دیگری انجام شده نشان داده است که گونه های فوزاریوم بیشترین غالبیت را در ایجاد بیماری در گل جالیز دارند و از بین آنها گونه *F. oxysporum* گونه غالب تری می باشد (NematAllaet *al.*, 2008). علاوه بر این *F. verticillioides* نیز توسط دور و هرشن هورن (Dor and Hershshorn, 2009) بر روی گونه های مختلف گل جالیز در سیستم پاکت پلاستیکی آزمایش شد و نشان داده شد که اگر سوسپانسیون قارچی از این گونه با غلظت  $10^5$  اسپور در میلی لیتر به میزان ۱۵ میلی لیتر به ازای هر بسته پاکت



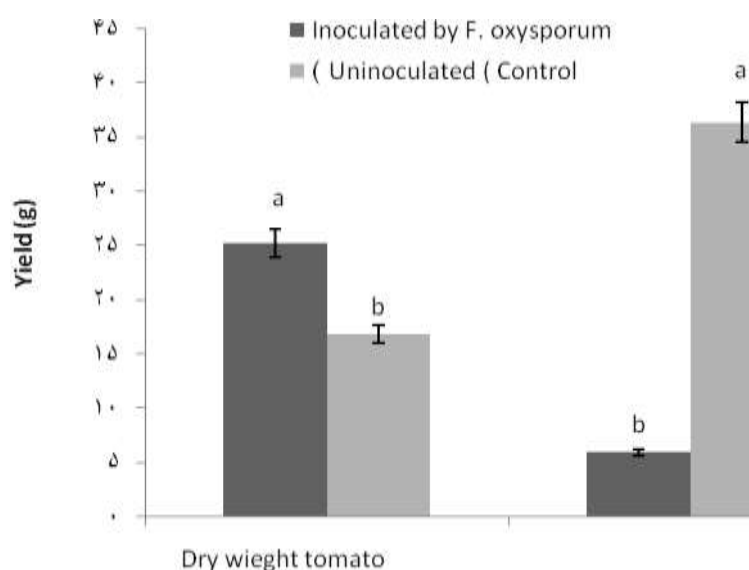
شکل ۴- آلودگی ساقه‌های گل‌جالیز مصری با قارچ *F. oxysporum* در آزمایش بیماری‌زایی. A - قهوه‌ای شدن و نکروتیک ساقه گل‌جالیز در اثر انسداد آوندی (فلش‌ها) - B پژمردگی و آویختگی ساقه‌های گل‌دهنده گل‌جالیز در اثر بیماری (فلش)

Figure 4- Diseased shoots of *P. aegyptiaca* by *F. oxysporum* in pathogenesis trial. A- Wilt and epinasty shoots *P. aegyptiaca* in consequence of effect fungi (finger postarrows), B- Browned and necrotic *P. aegyptiaca* stem as result of vascular occlusion (finger postarrows).

تیمار شاهد ۲/۸ برابر بیشتر از میانگین وزن خشک تیمار تلقیح شده با سوسپانسیون قارچی بوده است (۱۶/۸۴ گرم در مقابل ۶ گرم)، به عبارت دیگر میزان کاهش وزن خشک ساقه‌های انگل گل‌جالیز مصری در تیمار تلقیح شده قارچی در مقایسه با شاهد، ۲/۸ برابر بوده است. اختلاف میانگین وزن خشک گوجه‌فرنگی در دو تیمار تلقیح شده قارچی و عدم تلقیح (شاهد) نیز کاملاً مشهود بود به نحوی که میزان افزایش وزن خشک یا عملکرد زیستی گیاه گوجه‌فرنگی در تیمار تلقیح شده با قارچ *F. oxysporum* نسبت به شاهد ۴۴/۲۷ درصد (۲۵/۲۵ گرم در برابر ۱۶/۸۴ گرم) بوده- است (شکل ۵).

بسیاری از بررسی‌های صورت گرفته در ارتباط با کنترل زیستی گل‌جالیز، نشان داد که قارچ *F. oxysporum* و نسبت به گل‌جالیز مصری و بیماری‌زای بوده و احتمالاً با تخلیه نشاسته از گل‌جالیز مصری، موجب ضعف و از بین رفتن آنها شوند (Amsellemet *al.*, 2001a; Amsellemet *al.*, 2001; Cohen *et al.*, 2002).

از لحاظ عملکردی نیز، عملکرد زیستی گل‌جالیز مصری در دو تیمار تلقیح شده با سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* و عدم تلقیح (شاهد)، اختلاف میانگین صفات معنی‌دار بود به طوری که میانگین وزن خشک ساقه‌های انگل گل‌جالیز مصری در



شکل ۵- اثر کاربرد سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* بر وزن خشک گل جالیز مصری و گیاه گوجه فرنگی. حروف مشابه بر روی ستون ها بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون t- test می باشد. خطوط عمودی روی ستون ها نشان دهنده خطای استاندارد می باشد.

Figure 5- Effect of *F. oxysporum* suspension application on dry weight *P. aegyptiaca* and tomato plant. Same letter on each column indicates not significant difference (t- test at  $P \leq 0.05$ ). Bars on columns represents standard error.

با شاهد را ۵۸ درصد کاهش و عملکرد گوجه فرنگی را ۲۴/۷ درصد افزایش داده است (Ghaznaviet *al.*, 2019). نوع و بافت خاک مورد استفاده در این گونه پژوهش ها، فاکتور مهم دیگری است که در این پژوهش خاک مورد استفاده دارای بافت لومی - شنی با ۱/۵ درصد مواد آلی و pH خاک اطراف ریشه حدود ۷/۳ بود که موجب کاهش فعالیت قارچی شده اما از طرفی به دلیل کاهش تراکم و فشردگی خاک آزمایش و افزایش فضاهای خالی و هوا منجر به فعالیت بیشتر قارچ شده است. در آزمایشات گلدانی سایر محققین، قارچ ها در سوبستراهای با درصد مواد آلی بیشتر نسبت به خاک لومی - شنی در کاهش وزن خشک و تعداد ساقه های انگل گل جالیز موثرتر بودند. یکی از دلایل این امر، افزایش pH در خاک های لومی - شنی می باشد که

از نتایج بدست آمده سایر پژوهش های انجام گرفته در این خصوص، می توان به کاهش ۶۵ درصدی وزن تر و ۶۴ درصدی وزن خشک گل جالیز در تلقیح با قارچ *F. oxysporum* اشاره نمود (Boari and Vurro, 2004) و یا می توان به نتایج تحقیقی دیگری که توسط قائم و همکاران (Ghannamet *al.*, 2007) انجام گرفت اشاره نمود که بر اساس آن میزان افزایش وزن تر گوجه فرنگی در کاربرد سوسپانسیون قارچ *F. oxysporum* با غلظت  $10^8$  اسپور در میلی لیتر در کنترل گل جالیز مصری، از ۴۹ درصد تا ۲۳۷ درصد متغیر بوده است. مطالعات و بررسی های دیگری در این زمینه توسط محققین دیگری نیز انجام شده است که در یکی از این پژوهش ها مشخص شد که استفاده از علف-کش زیستی اروساید، بیومس گل جالیز مصری در مقایسه

## جداسازی و ارزیابی میزان کارایی قارچ ....

توسط قارچ فوزاریوم نیز باید در نظر گرفته شود و همان گونه که نتایج پژوهش اوتن و همکاران (Ottene *et al.*, 2001) نیز نشان داده است، با افزایش حجم تراکم خاک از سرعت بیماری‌زایی قارچ کاسته می‌شود که احتمالاً به دلیل اجتناب قارچ‌ها از مناطق متراکم خاک به دلیل کمبود هوا است.

سبب کاهش فعالیت قارچ‌ها می‌گردد. از طرف دیگر افزایش مواد غذایی در سوبسترای مواد آلی که موجب کاهش رقابت بین قارچ عامل کنترل زیستی و دیگر میکروارگانیسم‌ها در جذب مواد غذایی می‌شود (Muller- Stover *et al.*, 2008). ویژگی‌های فیزیکی خاک در میزان و سرعت بیماری‌زایی گل‌جالیز

جدول ۲- مقایسه میانگین وزن خشک گیاهان زراعی کاندید در آزمون دامنه میزبانی

Table 2- Mean comparisons of dry weight of candidate crop in host range test

گیاه زراعی کاندید Candidate crop	وزن خشک (گرم) Dry weight (g)		معنی داری Significant
	تلقیح شده Inoculated by <i>F. oxysporum</i>	عدم تلقیح (شاهد) Uninoculated (control)	
خربزہ Melon	4.00	4.55	ns
خیار Cucumber	4.58	5.35	ns
کدو Squash	3.76	3.85	ns
آفتابگردان Sunflower	3.41	3.60	ns
بادمجان Eggplant	3.29	3.40	ns
لوبیا چشم بلبلی Cowpea	0.90	1.01	ns
هویج Carrot	0.19	0.24	ns
گندم Wheat	0.35	0.38	ns
فلفل دلمه Sweet pepper	3.83	3.53	ns
گوجه‌فرنگی Tomato	3.56	2.83	ns

ns عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون t- test می‌باشد.

Ns not significant difference (t- test at  $P \leq 0.05$ ).

## - آزمون دامنه میزبانی

کاهش معنی داری داشته ولی تعداد ساقه انگل آلوده یا مرده گل جالیز مصری افزایش داشت (۲/۶ برابر). همچنین وزن خشک بوته های گوجه فرنگی در کاربرد زادمایه قارچ فوزاریوم ۴۴/۲۷ درصد در مقایسه با شاهد نیز (۲۵/۲۵ گرم در برابر ۱۶/۸۴ گرم) افزایش داشته است. از این رو استفاده از قارچ فوزاریوم در کنترل زیستی گل جالیز مصری، می تواند راه کار مناسبی جهت کنترل این گیاه انگلی باشد اما نیازمند کاربرد تکنولوژی و روش های جدید در نحوه کاربرد و فرموله کردن این عامل کنترل زیستی می باشد. استفاده از این روش در سطح گلخانه و در سطوح محدود به خوبی امکان پذیر است اما در سطح مزرعه و سطح وسیع نیازمند پژوهش و تحقیقات بیشتر می باشد.

مقایسات میانگین وزن خشک ده گیاه آزمایش شده در آزمون تست دامنه میزبانی با دو تیمار تلقیح شده با قارچ *F. oxysporum* و تیمار عدم تلقیح (شاهد)، اختلاف معنی داری را نشان ندادند (جدول ۲).

اما از لحاظ حساسیت به قارچ *F. oxysporum* در گیاهان تست دامنه میزبانی، فلفل دلمه ای و بادمجان از تیره سیب زمینی؛ خیار و خربزه از گیاهان خانواده کدوئیان و همچنین لوبیا از خانواده بقولات علائم بسیار خفیفی از آلودگی به قارچ مانند کلروز برگگی و پژمردگی را نشان دادند که به مرور و در طی دوره آزمایش این علائم برطرف شده و آثار آن نیز از بین رفت. میزان بیماریزایی قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم بر روی گیاهان میزبان نیز عامل مهم دیگری در کنترل زیستی است، از این رو بر اساس آن چه که در آزمایش تست دامنه میزبانی بدست آمد و مطالعاتی که توسط سایر محققین انجام شده است، به نظر می رسد که گیاهان خانواده سیب زمینی و گیاهان نزدیک به این خانواده، حساسیت بیشتری نسبت به *Fusarium oxysporum* زمانی که در مطالعات دامنه میزبانی استفاده شدند، داشته باشند (Zarafiet al., 2015).

## نتیجه گیری کلی

در این پژوهش با کاربرد زادمایه قارچ فوزاریوم با غلظت  $10^7 \times 5$  اسپور در میلی لیتر، تعداد کل ساقه های انگل (۳ برابر)، تعداد ساقه انگل خارج شده (۴ برابر)، تعداد ساقه انگل گل داده (۴ برابر)، تعداد ساقه انگل سالم (۴/۵ برابر)، همچنین ارتفاع (۱۲/۱۰ در برابر ۲۸/۶۰ سانتی متر) و تعداد ساقه های انگل نیز به ازای بوته گوجه فرنگی (۲/۲۲ در برابر ۶/۰۷ سانتی متر) و وزن خشک گل جالیز مصری نسبت به شاهد (۱۶/۸۴ گرم در مقابل ۶ گرم)

References

فهرست منابع

- Abdel- Kador M. M. and N. El- Mougy. 2009.** Prospect of mycoherbicides for control of broomrapes (*Orobanche* spp.) in Egypt. Journal of plant protection research, 49 (1).
- Amsellem Z., S. Barghouthi, B. Cohen, Y. Goldwasser, J. Gressel, L. Hornok, Z. Kerényi, Y. Kleifeld, O. Klein, J. Kroschel, J. Sauerborn, D. Muller- Stover, H. Thomas, M. Vurro and M. C. Zonno. 2001a.** Recent advances in the biocontrol of *Orobanche* (broomrape) species. Biocontrol 46: 211- 228.
- Amsellem Z., Y. Kleifeld., Z. Kerényi., L. Hornok., Y. Goldwasser and J. Gressel. 2001.** Isolation, identification and activity of mycoherbicidal pathogens from juvenile broomrape plants. Biological control, 21: 291- 296.
- Boari A. and M. Vurro. 2004.** Evaluation spp. And other fungi as biological control agents of broomrape (*Orobanche ramose*). Elsevier Biological Control. Bari Italy, 30: 212- 219.
- Booth C. 1971.** The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Cohen A. B., Z. Amsellem., R. Maor., A. Sharon and J. Gressel. 2002.** Transgenically enhanced expression of indole-3- acetic acid confers hypervirulence to plant pathogens. Phytopathology, 92: 590-596.
- Das T. K., S. Ghosh., K. Gupta., S. Sen., B. Behera and R. Raj. 2019.** The weed *Orobanche*: Species distribution, diversity, biology and management. Journal of Research in Weed Science, 3 (2), pp 162-180.
- Eizenberg H. and Y. Goldwasser. 2018.** Control of Egyptian broomrape in processing tomato: A summary of 20 years of research and successful implementation. Plant Disease, 102: 1477- 1488.
- Elmurodovna U. U. 2021.** Bioecological properties of broomrape (*Orobanche*) and its damage to crops. Middle European Scientific Bulletin, 12: 556- 560.
- Evgenia D., J. Hershenhorn., A. Andolfi., A. Cimmino and A. Evidente. 2009.** *Fusarium verticillioides* as a new pathogen of the parasitic weed *Orobanche* spp. Phytoparasitica, 37: 361-370.
- Evgenia D. and J. Hershenhorn. 2009.** Evaluation of the pathogenicity of microorganisms isolated from Egyptian broomrape (*Orobancheaegyptiaca*) in Israel. Weed Biology and Management, 9: 200-208.
- Fernandes- Aparicio M., P. H. Delavault and M. P. Timco. 2020.** Management of infection by parasitic weeds: A review. Plants 9, 1184.
- Ghannam I., R. Barakat and M. Al- Masri. 2007.** Biological control of Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*) using *Fusarium* spp. Phytopathol. Mediterr, 46: 177- 184.
- Ghaznavi M., S. A. Kazemeini and R. Naderi. 2019.** Effects of N fertilizer and a bioherbicide on egyptian broomrape in a tomato field. Iran Agricultural Research, 38(1): 9- 13.
- Gordon T. R. and R. D. Martyn. 1997.** The evolutionary biology of *Fusariumoxysporum*. Annual Review of Phytopathology, 35: 111-128.



- Habimana S., A. Nduwumuremyi and R. J. D. Chinana. 2014.** Management of Orobanchein field crops – A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*,14: 43–62.
- Joel D., J. Hershenhorn., H. Eizenberg and Aly et al. 2007.** Biology and Management of Weedy Root Parasites. In: *Horticultural Reviews*, 33: 267- 349. John and Sons, New York, USA.
- Michielse C. B. and M. Rep. 2009.** Pathogen profile update: *Fusariumoxysporum*. *Mol. Plant Pathology*,10: 311–324.
- Minbashi Moeini M. 2003.** Orobanche: Botany, Biology, Ecology and Control Methods. Agricultural Research and Education Organization Plant Pests and Diseases Institute. Weed Research Department. Tehran, Iran. 33 pp (In Persian).
- Mozaffarian V. 1996.** Names of Iranian plants. Moaserfarhang pres, 671 pp (In Persian).
- Muller- Stover D., E. Kohlschmid., J. Sauerborn. 2008.** A novel strain of *Fusariumoxysporum* from Germany and its potential for biocontrol of *Orobancheramosa*. *Journal Compilation 2009 European Weed Research Society Weed Research*, 49: 175- 182.
- NematAlla M., Y. Shabana., M. Serag., N. Hassan and M. El- Hawary. 2008.** Granular formulation of *Fusariumoxysporum* for biological control of faba bean and tomato Orobanche. *Pest Management Science*, 64: 1237- 1249.
- Otten W., D. Hall and Harris et al. 2001.** Soil physics, fungal epidemiology and the spread of *Rhizoctoniasolani*. *New Phytologist*, 151: 459- 468.
- Rathore S. S., K. Shekhawat., O. P. Premi., B. K. Kandpal and J. S. Chauhan. 2014.** Biology and management of the fast emerging threat of broomrape in rapeseed- mustard. *Weed Biology Management*, 14(3): 145- 158.
- Sauerborn J. 1991.** The economic importance of the phytoparasites Orobanche and Striga. In: *Proceeding, 5<sup>th</sup> International Symposium in Parasitic Weeds*, pp.137- 143.
- Sauerborn J., D. Muller- Stover and J. Hershenhorn. 2007.** The role of biological control in managing parasitic weeds. *Crop Protection*, 26: 246- 254.
- Snyder W. C. and H. N. Hance. 1954.** Variation and speciation in the genus *Fusarium*. *Annals of the New Yourk Academy of Science*, 60: 16- 23.
- Zarafi A. B., A. Elzein., D. I. Abdulkadir., F. Beed and O. M. Akinola. 2015.** Host range studies of *Fusariumoxysporum*f. sp. *Strigae* meant for the biological control of *Strigahermonthica* on maize and sorghum. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48 (1): 1-9.

**Isolation and evaluation of the efficacy of *Fusarium oxysporum* Schlecht. for biological control of Egyptian broomrape (*Phelipancheaegyptiaca* (Pers) Pomel.) in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**

**M. Taghipour<sup>1</sup>, G. Asadi<sup>2</sup>, M. Rastgoo<sup>2</sup>, M. R. Karimi Shahri<sup>3</sup>\***

Received date: 5 December 2021

Accepted date: 12 August 2022

**Abstract**

The use of soil fungi such as *Fusarium* is one of the strategies for controlling and managing parasitic plants. Accordingly, in order to evaluate the pathogenic potential, *Fusariumoxysporum* was isolated from the stems of infected plants of *Phelipancheaegyptiaca* and after identification, it was tested in a greenhouse using two treatments inoculated with fungal suspension. *F. oxysporum* and control treatment (no inoculation) were performed. In the inoculated treatment, fungal suspension with a concentration of  $10^7 \times 5$  spores per ml, at a rate of 50 ml per pot and in the control treatment, tap water was used. Studied traits were including total number of parasite stems, number of parasite stems removed, number of diseased and dead parasite stems, number of healthy parasite stems, and number of flowering stems, number of parasite stems per plant, stem height of the parasite and the dry weight of Egyptian broomrape and tomato plants. The results of comparing the mean of the two treatments with t-test showed a significant difference in the dry weight of broomrape and tomato so that the mean dry weight of broomrape in the treatment inoculated with *F. oxysporum* (6 g), compared to the control treatment (16.84 g), was 2.8 times lower. Also, the highest dry weight of tomato (36.43 g) was observed in the inoculated treatment with *F. oxysporum*, which increased by 44.27% compared to the control with 25.25 g. In the host range test, none of the tested plants showed signs of persistent infection, including permanent wilting and necrosis. In general, the use of this fungus in the biological control of Egyptian broomrape could have an effect on all studied traits, reduce the dry weight of Egyptian broomrape and increase the dry matter of tomato.

**Keywords:** Biocontrol, Broomrape management, Host range, Parasiticplant, Soil fungi.

---

<sup>1</sup> - Agrotechnology Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

<sup>2</sup> - Agrotechnology Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

<sup>3</sup> - Plant Protection Department, Agriculture and Natural Resources Research Center, Razavi Khorasan Province.

\* Corresponding Author: asadi@um.ac.ir