گزارش علمی کوتاه

وقوع و بیماری‌زایی برخی گونه‌های قارچی روی گل جالیز

ربابه قلی‌زاده[۱] و رقیه همتی[۲*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲)

گونه‌های گل‌جالیز (*Orobanche* spp.)، انگل اجباری و از عوامل محدود کننده کشت تعدادی ازمحصولات مهم کشاورزی بوده و باعث ایجاد آسیب و خسارت محصول در گیاهان دولپه‌ای از قبیل گوجه‌فرنگی، توتون، آفتابگردان، بادمجان، سیب-زمینی و هویج می‌شوند (Barker *et al.*, 1996). گرچه روش‌های متعدد سنتی برای کنترل گل جالیز در محصولات مختلف به کار رفته است اما هیچیک از آنها موثر نبوده‌اند (Amsellem *et al.*, 2001). از طرف دیگر روشهای موثر همچون ضدعفونی خاک، گران بوده و با خطرات زیست‌محیطی همراه هستند (Foy *et al.*, 1989). کنترل بیولوژیک روش کنترل جایگزینی می‌باشد و تعدادی از جدایه‌های موفق قارچی در سراسر جهان گزارش شده اند که قادر به کنترل رضایت‌بخش این بیمارگرها می‌باشند (Boari and Vurro, 2003). در ایران قارچ‌های *Fusarium oxysporum*، *F. solani*، *Rhizoctonia solani* و *Urocystis orobanches* از روی گل جالیز گزارش شده‌اند (Ershad, 2009). رستمی و همکاران سه گونه *F. proliferatum*، *F. torulosum* و *F. circinatum* را از گل جالیز در ایران جداسازی نمودند (Rostami *et al.*, 2015). *F. chlamydosporum*، *F. solani*، *F. semitectum*، *F. oxysporum*، *F. reticulatum*، *F. pallindoroseum*، *F. virguliform* و *F. diversisporum* توسط درویش‌نیا و همکاران (2013) از گل جالیز مصری (*O. aegyptiaca*) در ایران گزارش شده‌اند. به منظور بررسی قارچ‌های همراه با گل جالیز، نمونه‌هایی از این گیاه (*O. ramosa*) با علائم پژمردگی یا پوسیدگی در ساقه و طوقه از مزارع گوجه-فرنگی روستاهای فیروزآباد و قره‌قشلاق شهرستان کوثر،استان اردبیل، جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها بعد از شستشو، با هیپوکلریت‌سدیم یک درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی سطحی گردیدند و روی محیط کشت PDA کشت شده در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته و به صورت روزانه بازدید شدند و جدایه‌های قارچی خالص‌سازی و نگه‌داری شدند. در نهایت تعداد ۹۰ جدایه به دست آمد و از بین آنها ۴۶ جدایه بر اساس ویژگی‌های میکروسکوپی و مرفولوژیکی آنها روی محیط کشت PDA و CLA (برای گونه‌های فوزاریوم) شناسایی شدند (Leslie and Summerell, 2006). همچنین DNA ژنومی یک جدایه نماینده از هر گونه شناسایی شده مرفولوژیکی، استخراج شد (Liu *et al.*, 2000) و توالی منطقه ITS ژن ریبوزومی آنها (ITS1 + 5.8S + ITS2) با استفاده از جفت آغازگر ITS1 و ITS4

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rhemati@znu.ac.ir

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان.

۲. دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان.

جدول ۱- گونه‌های قارچی جداشده از گل جالیز و نتایج آزمون بیماری‌زایی روی گرهک‌های گل جالیز

Table 1. Fungal species isolated from broomrape and the results of their pathogenicity test on broomrape tubercles

Fungal species	No. of fungal isolates	No. of Infected tubercles	Sum of pathogenicity scores on tubercles	Reported in the world	Reported in Iran
Fusarium fujikuroi	4	5	9	-	-
F.chlamydosporum	5	2	3	+	+
F.proliferatum	5	10	17	+	+
F.acuminatum	3	5	12	+	-
F.equiseti	2	3	4	+	-
Macrophomina phaseolina	25	5	7	+	-
Aspergillus ochraceus	2	*	*	-	-

*: Pathogenicity experiment was not carried out; (-): There is no previous report of the fungal species on broomrape; (+): The fungal species has been reported on broomrape.

* : آزمون بیماری‌زایی انجام نشد؛ (-): گزارش قبلی از وقوع این گونه روی گل جالیز وجود ندارد؛ (+): گونه قارچی قبلا روی گل جالیز گزارش شده است.

تکثیر شد (White *et al.*, 1990). محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تخلیص و توالی‌یابی شدند (شرکت ماکروژن، کره جنوبی). سپس توالی‌های به دست آمده با توالی‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI مقایسه شدند. جدایه‌های قارچی متعلق به جنس‌های غالب در شرایط آزمایشگاهی برروی گرهک‌های گل جالیز در داخل کیسه‌های پلاستیکی شفاف حاوی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی، به روش بواری و ورو (۲۰۰۳) مایه‌زنی شدند و علائم ایجاد شده روی گرهک‌ها، سه هفته پس از مایه‌زنی بر اساس شاخص‌های زیر نمره‌دهی شدند (نمره صفر: غیر بیماریزایی؛ نمره ۱: علائم جزئی مانند قهوه‌ای شدن و کاهش سرعت رشد؛ نمره ۲: ممانعت از رشد گل جالیز و قهوه‌ای شدن و نکروز گرهک‌ها؛ نمره ۳: نکروز کامل و سریع و از بین رفتن ثبات و سفتی گرهک‌ها). برای هر گونه سه تکرار در نظر گرفته شد. بر اساس ویژگی‌های مرفولوژیکی و مولکولی ۴۶ جدایه، جدایه‌های شناسایی شده، به سه جنس Fusarium (فراوانی: ۴۱/۳ درصد)، Macrophomina (فراوانی: ۵۴/۴ درصد) و Aspergillus (فراوانی: ۴/۳ درصد) متعلق بودند. در این تحقیق گونه‌های *F. fujikuroi* و *Aspergillus ochraceus* برای اولین بار از روی گل جالیز در جهان گزارش می‌شوند. همچنین *Macrophomina phaseolina*، *F.acuminatum* و *F.equiseti* اولین بار از گل جالیز در ایران گزارش می‌گردند. بر اساس نتایج آزمون بیماری‌زایی، تمام گونه‌های فوزاریوم و ماکروفومینا برروی گل جالیز ایجاد بیماری نمودند. بیشترین میزان آلودگی گرهک‌ها مربوط به گونه‌های *F. proliferatum*، *F. acuminatum* و *F. fujikuroi* بود.

کلیدواژه‌ها: فوزاریوم، کنترل بیولوژیک، گل‌جالیز، گوجه‌فرنگی.

Occurrence and pathogenicity of some fungal species on broomrape

R. Gholizadeh[1] and R. Hemmati[2]

(Received: 28.10.2018; Accepted: 15.1.2019)

Broomrape species (*Orobanche* spp.), obligate parasitic plants, are considered as the limiting factors for cultivation of several important agricultural crops which cause damage and crop lost in dicotyledons such as tobacco, tomato, eggplant, potato, sunflower and carrot (Barker et al., 1996; Sauerborn, 1991). Although several traditional methods have been used to control broomrapes on different crops, none has proved to be effective (Amsellem et al., 2001). On the other hand effective methods such as soil fumigation are expensive and also have environmental risks (Foy et al., 1989). Biological control is an alternative control method and a number of promising fungal isolates have been reported all over the world with satisfying level of control on these pathogens (Boari and Vurro, 2003). *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani* and *Urocystis orobanches* have been reported from broomrape in Iran (Ershad, 2009). Rostami and co-workers (2015) isolated *F. proliferatum*, *F. torulosum* and *F. circinatum*. Also *F. chlamydosporum*, *F. solani*, *F. semitectum*, *F. oxysporum*, *F. reticulatum*, *F. pallindoroseum*, *F. diversisporum* and *F. virguliform* were reported from Egyptian broomrape, *O. aegyptiaca* (Darvishnia *et al*., 2013). In order to study fungi associated with broomrape, samples of *O.ramosa* with wilt and/or rot symptoms in their stem and crown were collected from tomato fields in Firoozabad and ghareghesheshlagh villages in Kosar city, Ardabil province. Pieces of stems were first washed with running tap water, sterilized in 1% sodium hypochlorite for 2 min, and rinsed with sterile distilled water. The fragments were placed on potato dextrose agar and incubated at 25 °C and observed daily for fungal growth. The fungal isolates were purified and stored. Finally a number of 90 isolates were obtained of which 46 isolates were identified based on their morphological and microscopic characteristics on PDA and CLA (for Fusarium species) (Leslie and Summerell, 2006). Also genomic DNA of a representative isolate for each morphologically identified species was extracted (Liu *et al*., 2000) and their internal transcribed spacers of ribosomal gene (ITS1 + 5.8S + ITS2) was amplified using the primers ITS1 and ITS4 (White et al. 1990). PCR products were sent to Macrogen Inc. (South Korea) for purifying and sequencing. The sequence of amplicons was compared with sequences from NCBI using BLAST. Isolates belonging to the species of dominant genera were inoculated on broomrape tubercles in transparent plastic bags containing tomato seedlings. After three weeks the symptoms were assessed based on a visual score as follow: 0: nonpathogenic; 1:slight symptoms on tubercles, such as browning and slackening of growth rate; 2: inhibition of growth and tubercle browning and necrosis; 3: quick and complete necrosis of tubercles, loss of consistency. Three replicates were used for each species. Based on the morphological and molecular characteristics of 46 isolates, the isolates belonged to three genera Fusarium (frequency: 3/41%), Macrophomina (frequency: 4/54%) and Aspergillus (frequency: 3.4%). This is the first report of the occurrence of *Aspergillus ochraceus* and *F. fujikuroi* on broomrape in the world. Also before this research there is no report on the occurrence of *Macrophomina phaseolina*, *F.acuminatum* and *F.equiseti* on broomrape in Iran. Based on the results of pathogenicity experiment, all tested *Fusarium* species and *M. phaseolina* caused disease symptoms on broomrape tubercles. Among the species, *F. acuminatum*, *F. fujikuroi* and *F.proliferatum* caused the most disease severity on tubercles.

Keywords: Biocontrol, Broomrape, Fusarium, Tomato

* Corresponding author's email: rhemati@znu.ac.ir
1. Former MSc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
2. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

منابع

Amsellem, Z. Barghouthi, S., Cohen, B., Goldwasser, Y., Gressel, J., Hornok, L., Kerenyi, Z., Kleifeld, Y., Klein, O., Kroschel, J., Sauerborn, J., Muller-Stover, D., Thomas, H., Vurro, M. and Zonno, M. C. 2001. Recent advances in the biocontrol of Orobanche (broomrape) species. Biocontrol 46: 175–196.

Barker, E. R., Press M. C., Schools, J. D. and Quick, W. P. 1996. Interaction between parasitic angiosperm or *orobanche aegyptiaca* and its tomato host: growth and biomass allocation. New Phytologist 133: 637-642.

Boari, A. and Vurro, M. 2003. Evaluation of *Fusarium spp.* and other fungi as biologicalcontrol agents of broomrape(*Orobanche ramosa*). Biological Control 8: 214-216.

Darvishnia, M., Baharvand, L., Aghabeigi, F. and Hoseini, M. 2013. Biological control of broom rape using antagonistic fungi in Lorestan Province. Proceedings of the 6th Conference of Research Findings in Agriculture, Kordestan, Iran.

Foy, C. L., Jain, R. and Jacobsohn, R. 1989. Recent approaches for chemical control of broomrape (*Orobanche* spp.). Review of Weed Science 4: 123-152.

Ershad, J. 2009. Fungi of Iran (3rd edition). Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran.

Leslie J. F. and Summerell. B. A. 2006. Fusarium laboratory manual. Blackwell Publishing, Iowa, USA. doi:10.1002/9780470278376

Liu D., Coloe S., Barid R. and Pedersen J. 2000. Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. Journal of Clinical Microbiology 38:471

Rostami, A., Saremi, H. and Atghia, O. 2015. First report of three new *Fusarium* Species associated with broom rape from Iran. Proceedings of the 2nd Iranian Mycology Congress, Karaj, Iran.

White T. J., Bruns T. D., Lee S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. editors. PCR protocols: a guide to methods and applications. New York, N.Y:Academic Press, Inc. pp 315–322.