

## تأثیر رژیم‌های غذایی بر اسپورزایی، جوانه‌زنی و تحمل به خشکی اسپورهای *Fusarium oxysporum* ایزوله ۵۰۷، عامل کنترل میکروبی گل جالیز مصری *Orobanche aegyptiaca*

ایوب فصاحت<sup>۱</sup>، منصور منتظری<sup>۲</sup> و رضا قربانی<sup>۱</sup>

۱- داشتجویی کارشناسی ارشد و عضو هیئت علمی دانشگاه فردوسی مشهد.

۲- موسسه تحقیقات گیاهی‌زیکی کشور، بخش تحقیقات علوفه‌ای هرز

### چکیده

در سال ۱۳۸۵، در یک مزرعه گوجملزگی در گلپایگان، یک ایزوله بیماری‌زا از *Fusarium oxysporum* به شماره ۵۰۷ جاذبیت ارزانی شده و اسپورزایی آن در یک محیط مایع نیمه تعریف شده با نسبت‌های کریون به نیتروژن ۱:۵، ۱:۱۵، ۱:۳۰ و ۱:۵ ارزیابی گردید. همچنین تأثیر شستشوی اسپورهای این قارچ با آب مقطر، گلوکن، ساکاروز، سوربیتول و تری‌هالوز روی میزان جوانه‌زنی، رشد لوله تندشی و تحمل به خشکی آنها بررسی شد. نتایج نشان داد که این ایزوله در محیط نیمه تعریف شده با نسبت کریون به نیتروژن ۱:۵ بطور معنی‌داری بیش از سایر نسبت‌ها آنها تولید اسپور نمود. شستشوی اسپورها با قندهای یاد شده در قیاس با آب مقطر، بیش از خشکی و در مقاطع زمانی دوره‌های خشکی ۲ تا ۴ هفت‌مای، تأثیر مثبتی روی میزان جوانه‌زنی و رشد طولی لوله تندشی این قارچ نداشت.

### مقدمه

در حال حاضر استفاده از پاتوژن‌های خاک‌کزی که بتوانند بذر و یا گیاهچه انگل گل جالیز را پیش از وارد نمودن خسارت از بین برند در جهان مطرح است. از میان میکروآورگانیزم‌های گوناگون، ایزوله‌های فوزاریوم که تولید توکسین‌های گوناگونی می‌کنند (Vurro, 2002)، بیش از سایر پاتوژن‌ها مورد پژوهش قرار گرفته‌اند. در کشورهای گوناگون مانند ایتالیا (Chrysai-Tokousbalides, 2002; Boari & Abouzeid, 2002; Abouzeid et al., 2004) آلمان (Gressel et al., 2002) (Muller-Stover & Sauerborn, 2002)، مجارستان (Amsellem et al., 2001) و اسرائیل (Muller-Stover & Sauerborn, 2002) پژوهش‌های نسبتاً گسترده‌ای برای دستیابی به ایزوله‌های کارآمد در کنترل گل جالیز انجام می‌شود. رژیم‌های غذایی در اثنای اسپورزایی روی ویژگی‌های یک عامل کنترل میکروبی تأثیر دارد. گزارش منتظری و گریوز (Montazeri & Greaves, 2002a) روی ایزوله‌هایی از *Alternaria alternata* و *Colletotrichum truncatum* که به ترتیب عامل ییساریزی سببانیا و تاج‌خرس وحشی هستند، رژیم‌های غذایی تأثیر چشمگیری روی اسپورزایی، مرغولوژی، میزان جوانه‌زنی اسپورها،

تحمل آنها به خشکی و همچنین بیماری زایی روی میزانهای آنها داشت. در این تحقیق، نقش نسبت‌های کربن به نیتروژن و شستشوی اسپورهای فوزاریوم ایزوله ۵۰۷ روی اسپورزایی، جوانه‌زنی و تحمل به خشکی آنها مورد مطالعه قرار گرفت.

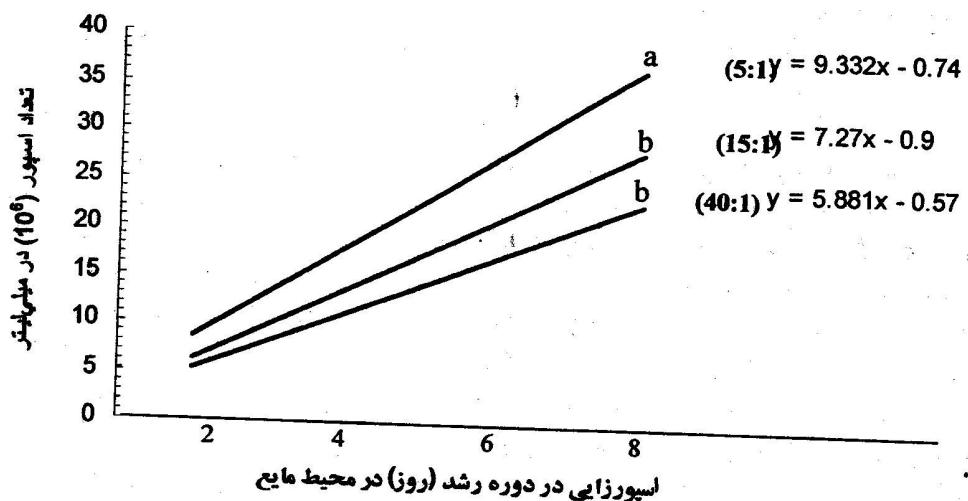
### مواد و روش‌ها

مطابق روش جکسون و شلر (۱۹۹۲) محیط کشت مایع نیمه تعریف شده با نسبت کربن به نیتروژن ۱۵:۱، ۵:۱ و ۱:۴۰ با پهاش‌های ۶/۵ تهیه شد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر از هر یک از محیط‌ها در فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری رخته و در هر یک از آنها یک قطره از کشت *Fusarium oxysporum* ایزوله ۵۰۷ رشد یافته و روی PDA در ابعاد ۳×۳ اندخته شد. آنگاه فلاسک‌ها روی شیکر گردان در دمای ۲۱±۲ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از ۲، ۴، ۶ و ۸ روز، با استفاده از هموسایتومنتر تعداد اسپورهای تولید شده در محیط‌ها شمارش شدند. این آزمایش بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. برای بررسی تاثیر قندها اسپورهای رشد یافته در محیط مایع نیمه تعریف شده با نسبت کربن به نیتروژن ۱۵:۱ از میلی‌لیتر عبور داده شد. سپس سوسپانسیون اسپورها برای ۵ دقیقه سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور در دقیقه) شد. رسوب بدست آنده در هر لوله در آب مقطر استریل، گلوگز ۱۰٪ ساکارز ۱۰٪، سوربیتول ۱٪ یا تری‌هالوژ ۱٪ حل شده و مجدداً سانتریفیوژ گردید. رسوب نهایی در محلول مربوطه حل شد. غلظت اسپورهای استفاده از هموسایتومنتر به ۱۰۶ اسپور در میلی‌لیتر تنظیم گردید. آنگاه مقدار ۳ میلی‌لیتر از هر سوسپانسیون روی دیسک‌های ویسکنیگر ریخته شد. پس از ۲۰ دقیقه، دیسک‌ها در لوله‌های با رطوبت نسبی ۱۵٪ در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. در چهار مقطع زمانی از ۱ تا ۲۱ روز، ۵ دیسک (تکرار) برای ۸ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد روی محیط PDA قرار داده شد. آنگاه در زیر میکروسکوپ نوری درصد جوانه‌زنی و طول لوله تداشی تعیین گردید. این آزمایش نیز بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد.

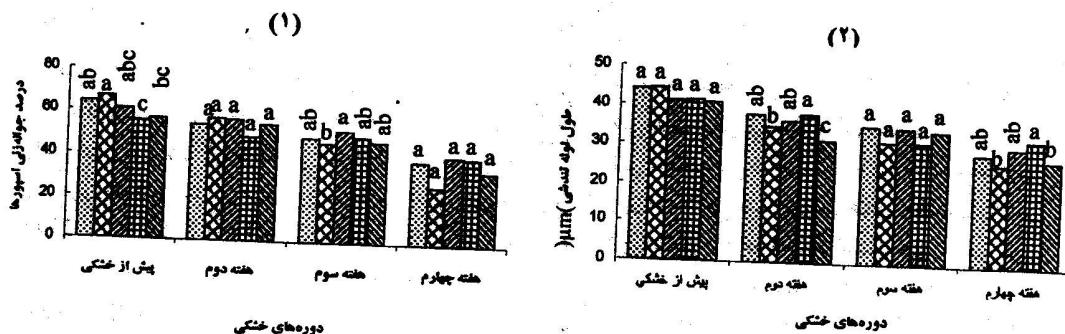
### نتایج و بحث

کشت *F. oxysporum* ایزوله ۵۰۷ در دمای ۲۱±۲ درجه سانتی گراد در یک محیط مایع نیمه تعریف شده با نسبت‌های مختلف کربن به نیتروژن نشان داد که نسبت کربن به نیتروژن ۵:۱ بطور معنی داری بیش از نسبت‌های ۱۵:۱ و ۱:۴۰ موجب افزایش اسپورزایی آن گردید (شکل ۱). از این نظر، ۸ روز پس از مایه زنی محیط، بین نسبت‌های ۱۵:۱ و ۱:۴۰ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در هر سه رژیم غذایی، اسپورزایی این ایزوله از روز دوم شروع شد. بررسی‌های جکسون و شلر (Jackson & Schisler, 1992) نیز نشان داد که میزان کربن و نسبت کربن به نیتروژن در محیط کشت بطور معنی داری روی اسپورزایی، مرغولوزی، میزان جوانه‌زنی اسپورها، توان بیماری‌زایی قارچ *Colletotrichum truncatum* تاثیر معنی داری داشت.

شستشوی اسپورهای این ایزوله با قندهای گلوگز ۱۰٪، ساکاروز ۱۰٪، سوربیتول ۱٪ و تری‌هالوژ ۱٪، در قیاس با آب مقطر، تاثیر مثبتی در افزایش جوانه‌زنی و رشد لوله تداشی نداشت (شکل ۲). بطوری که پس از گذراشدن دوره‌های خشکی ۱، ۱۴، ۷، و ۲۱ روز، وقتی اسپورها در هر یک از این مقاطع زمانی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد برای ۸ ساعت روی محیط PDA قرار داده شدند، درصد جوانه‌زنی و طوله لوله تداشی اسپورهای شستشو شده با این قندها افزایش معنی داری نسبت به آب مقطر نشان نداد. واکنش قارچ‌ها نسبت به شستشوی اسپور آنها با قندها متفاوت می‌باشد. مثلاً در یکی از بررسی‌های انجام شده، شستشوی اسپورهای قارچ *C. truncatum* با ساکارز، در مقایسه با آب مقطر، بطور معنی داری موجب افزایش جوانه‌زنی و رشد لوله تداشی شد در حالی که سوربیتول آن را کاهش داد (Montazeri & Greaves, 2002 b). با همیانی به یک رژیم غذایی مناسب برای این ایزوله قارچی که موجب افزایش اسپورزایی، سرعت جوانه‌زنی و تحمل آن به تکی شود ممکن است بتوان از این ایزوله به عنوان یک میکوهریسايد برای کنترل بیولوژیکی گل جالیز استفاده نمود.



شکل ۱. شمای خطی اسپورزایی *Fusarium oxysporum* لیزوله ۵۰۷ در محیط کشت مایع نیمه تعریف شده با نسبت‌های کربن به نیتروژن ۱۵:۱ و ۳۰:۱. خطوط دارای حرف لاتین مشترک تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ( $P=0.05$ ).



شکل ۲. تاثیر شستشوی اسپورهای *Fusarium oxysporum* با آب مقطر (■)، ساقارز (▨)، سوربیتول (▨)، کلروز (▨) و تری‌هالوز (▨) روی جوانه‌زنی (۱) و طول لوله تندشی (۲) پس از دوره خشکی و فرار آدن آنها روی محیط برای ۸ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد. در هر مقطع اثر دوره‌های خشکی، ستون‌های دارای حرف لاتین مشترک تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ( $P=0.05$ ).

## منابع

1. Amsellem, Z., Kleinfeld, Y., Kerenyi, Z., Hornok, L., Goldwasser, Y. & Gressel, J. (2001) Isolation, identification, and activity of mycoherbicidal pathogens from juvenile broomrape plants. *Biological Control* 21, 274-284.
2. Abouzeid, M.A., Boari, A., Zonno, M.C., Vurro, M., Evidente, A. (2004) Toxicity profiles of potential biocontrol agents of *Orobanche ramosa*. *BioOne* 52, 326-332.
3. Boari, A. & Abouzeid, M. (2002) Progress in biological control of *Orobanche* in Italy. In proceedings of the meeting 'Integrated control of broomrape', Obermarchtal, Germany, 25-27 July 2002.
4. Chrysayi-Tokousbalides, M. (2002) Fungal pathogens from naturally infected Orobanche found in Greece. In proceedings of the meeting 'Integrated control of broomrape' , Obermarchtal, Germany, 25-27 July 2002.
5. Gressel, J., Amsellem, Z. & Cohen, B.A. (2002) Enhancement of mycoherbicide effectiveness by genetics. In proceedings of the meeting 'Integrated control of broomrape' , Obermarchtal, Germany, 25-27 July 2002.
6. Jackson, M.A. & Schisler, D.A. (1992) The composition and attributes of *Colletotrichum truncatum* spores are altered by the nutritional environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 2260-2265.
7. MONTAZERI, M. & GREAVES, M.P. (2002 a) Effects of nutrition on desiccation tolerance and virulence of *Colletotrichum truncatum* and *Alternaria alternata* conidia. *Biocontr. Sci. & Technol.* 12, 173-181.
8. MONTAZERI, M. & GREAVES, M.P. (2002 b) Effects of culture age, washing and storage conditions on desiccation tolerance of *Colletotrichum truncatum* conidia. *Biocontr. Sci. & Technol.* 12, 95-105.
9. Muller-Stover, D. & Sauerborn, D. (2002) Formulation and application of a potential mycoherbicide agent *Orobanche cumana*. In proceedings of the meeting 'Integrated control of broomrape' , Obermarchtal, Germany, 25-27 July 2002.
10. Vurro, M. (2002) Integration of fungal toxins with pathogens. In proceedings of the meeting 'Integrated control of broomrape', Obermarchtal, Germany, 25-27 July 2002.