

## شناسایی گونه‌های فوزاریوم بیماری‌زا جدا شده از غده‌های سیب‌زمینی در استان کردستان

### Identification of Pathogenic *Fusarium* Species Isolated from Potato Tubers in Kurdistan Province

خسرو چهری<sup>۱\*</sup> و مژگان حبیبی<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۲/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۹/۱۴

#### چکیده

گونه‌های فوزاریوم از جمله قارچ‌های بیماری‌زا در دنیا و ایران هستند که بر روی سیب‌زمینی ایجاد پوسیدگی خشک می‌کنند. بنابراین هدف از انجام این تحقیق شناسایی گونه‌های بیماری‌زای فوزاریوم بر روی سیب‌زمینی در سطح مغازه‌های تره‌بار فروشی موجود در شهرهای مختلف استان کردستان بود. در این تحقیق ۵۵ جدایه قارچ فوزاریوم جدا شده از غده‌های آلوده سیب‌زمینی مورد بررسی قرار گرفت که بر اساس بررسی‌های ریخت‌شناسی متعلق به گونه‌های *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *Fusarium incarnatum*, *F. solani* و *graminearum* بودند. آزمون بیماری‌زایی همه جدایه‌ها بر روی غده‌های سیب‌زمینی سالم (رقم مارفونا) ارزیابی شد. از میان جدایه‌هایی که بیماری‌زا بودند، ده جدایه برای مطالعات مولکولی انتخاب شدند. بررسی‌های مولکولی براساس مقایسه توالی ژن *TEF-1α* انجام گردید. بر این اساس همه ده جدایه در پنج گروه فیلوژنتیکی قرار گرفتند. در این تحقیق گونه *F. incarnatum* برای اولین بار از ایران گزارش و بیماری‌زایی گونه *F. graminearum* بر روی سیب‌زمینی برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

واژه‌های کلیدی: میکوفلور، سیب‌زمینی، پوسیدگی خشک، فوزاریوم، کردستان

۱. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه  
۲. دانشجوی کارشناسی‌ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تحقیقات کردستان، سنندج  
\*: نویسنده مسوول  
Email: khchehri@gmail.com

## مقدمه

سیب‌زمینی یکی از محصولات غذایی پر کالری و دارای مقدار زیادی کربوهیدرات عمدتاً نشاسته و مقادیر متوسطی از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و املاح معدنی است. همچنین سیب‌زمینی در صنعت الکل‌سازی و تهیه محیط کشت میکروارگانسیم‌ها کاربرد دارد جیامپیترو و همکاران؛ سینگ؛ /زکان و همکاران ( Ozkan et al., 1992; Singh, 2000; Giampietro et al., 2004). در حال حاضر هر ساله حدود ۳۳۰ میلیون تن سیب‌زمینی در سراسر جهان و در سطحی حدود ۱۹/۱ میلیون هکتار تولید می‌شود. تولید سیب‌زمینی پس از گندم، برنج، ذرت، در رتبه چهارم جهانی قرار دارد فائو ( FAO, 2004). سازگاری این گیاه با شرایط آب و هوایی مناطق مختلف به گونه‌ای است که هم اکنون در ۱۴۰ کشور جهان تولید می‌شود با این حال به دلیل اثرات محدودکننده و تنش‌های مختلف نظیر کم‌آبی و خشکی و حرارت بالا بیشترین میزان تولید و عملکرد این گیاه در کشورهای مناطق معتدله حاصل می‌شود فابریو و همکاران (Fabeiro et al., 2001). جنس فوزاریوم یک جنس هیفومیست خاکزی است که اهمیت اقتصادی زیادی دارد و بسیاری از گونه‌های بیماری‌زای گیاهی را شامل می‌شود که دامنه وسیعی از گیاهان میزبان مانند گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، بقولات و خانواده گندمیان از جمله گندم، جو، یولاف، ذرت، نیشکر، میخک و بسیاری از سبزیجات و سایر گیاهان را آلوده می‌کند. این قارچ عامل پژمردگی آوندی، پوسیدگی ریشه و بوته‌میری در گونه‌های گیاهی مختلف است لزی و سامورل (Leslie and Summerell, 2006). پوسیدگی خشک یکی از مهم‌ترین بیماری‌های انباری و نیز در سطح مزارع سیب‌زمینی به‌شمار می‌رود و به‌وسیله گونه‌های مختلف فوزاریوم ایجاد می‌شود وارتون و کیرک ( Wharton and Kirk, 2007). خسارت ناشی از این بیماری در آمریکا سالانه مبلغی بالغ بر یک صد میلیون دلار برآورد شده است (فائو، 2004) در لهستان خسارت ناشی از این بیماری ۲۵ درصد گزارش شده است چکوسکی (Chelkowski, 1985). اما در ایران هنوز اطلاع دقیقی در مورد خسارت ناشی از این بیماری گزارش نشده است. همچنین گونه‌های فوزاریوم علاوه‌بر ایجاد بیماری و کاهش تولید محصولات کشاورزی، در گیاهان مختلف مایکوتوکسین تولید می‌کنند که برای سلامتی انسان و حیوانات مضر است بوتیگنی (Boutigny et al., 2011). نصرافهانی (Nasr Esfahani, 2005) حساسیت ۴۳ رقم تجاری سیب‌زمینی نسبت به عامل پوسیدگی خشک ایجاد شده توسط گونه‌های مختلف فوزاریوم مورد بررسی قرار داد و رقم ستورا (Saturna) را

به‌عنوان رقم نسبتاً مقاومی نسبت به این بیماری معرفی کرد درحالی‌که سایر رقم‌ها در درجات مختلفی حساس به این بیماری گزارش شدند. در این تحقیق گونه‌های *F. solani*، *F. oxysporum* و *F. sulphureum* به‌عنوان گونه‌های بیماری‌زا معرفی شدند. سطح زیر کشت سیب‌زمینی در ایران سالانه بین ۱۵۰ تا ۱۸۰ هزار هکتار است که استان‌های اردبیل، اصفهان، همدان، آذربایجان شرقی، خراسان، گلستان، جیرفت، کهنوج، فارس، تهران و کردستان مهم‌ترین تولیدکنندگان سیب‌زمینی در کشور به‌شمار می‌روند/آنونیموس (Anonymous, 2011). این محصول یکی از زراعت‌های مهم استان کردستان واقع در غرب کشور که حدود ۱۷ هزار هکتار از اراضی این استان به کشت این گیاه اختصاص پیدا کرده (آنونیموس، 2011) و با توجه به اینکه در طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ مقدار زیادی از این محصول در مغازه‌های تره‌بار فروشی به بیماری پوسیدگی خشک آلوده بودند و بسیاری از مردم از این موضوع ناراضی بودند بنابراین هدف از اجرای این تحقیق بررسی و شناسایی گونه‌های فوزاریوم مرتبط با پوسیدگی‌های خشک در انبارها و مغازه‌های تره‌بار فروشی موجود در شهرهای مختلف استان کردستان با استفاده از روش‌های مولکولی و مورفولوژی است. از طرفی اولین گام در جهت کنترل بیماری‌های مختلف شناسایی دقیق آن عوامل بیماری‌زا است/سکور و گودمستاد (Secor and Gudmestad, 1999).

## مواد و روش‌ها

## جداسازی و شناسایی گونه‌های فوزاریوم براساس

## ویژگی‌های ریخت‌شناسی

جمع‌آوری نمونه‌ها از مغازه‌ها و تره‌بار فروشی در شهرستان‌های مختلف استان کردستان انجام گردید. در این تحقیق از ۵۵ مغازه تره‌بار فروشی نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌ها از غده‌های سیب‌زمینی که دارای پوسیدگی خشک و تا حدی نرم بودند انتخاب شد. غده‌هایی سیب‌زمینی در پاکت‌های یک‌بار مصرف ریخته و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس عمل جداسازی جدایه‌های قارچی به‌روش کشت مستقیم انجام گرفت. ابتدا غده‌هایی سیب‌زمینی که دارای علائم پوسیدگی خشک و تا حدی پوسیدگی نرم بودند با استفاده از جریان ملایم شیر آب شستشو گردیدند و سپس ضدعفونی سطحی شدند. ضدعفونی سطحی با استفاده از هیپوکلریت سدیم (NaClO) یک درصد انجام شد بدین صورت که به‌مدت یک دقیقه غده‌هایی سیب‌زمینی در این محلول غوطه‌ور شد و سه بار با آب مقطر استریل شستشو گردیدند. سپس با استفاده از

به مدت ۵۵ ثانیه و گسترش رشته جدید در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت مرحله گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه.

ژن تکثیر یافته *TEF-1α* را با استفاده از کیت خالص سازی (Quiagen)، مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط شرکت سازنده (Quiagen) خالص سازی شد. محصول به دست آمده به منظور تعیین توالی DNA، به شرکت First Base در سنگاپور فرستاده شد. اطلاعات توالی به دست آمده با استفاده از نرم افزار BioEdit ویرایش شدند. توالی های به دست آمده با توالی های موجود در GenBank و پایگاه اطلاعاتی Fusarium-ID (http://isolate.fusariumdb.org) با استفاده از ابزار BLAST مقایسه شدند و در نهایت نتایج به دست آمده از شناسایی های ریخت شناسی و مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

### آزمون بیماری زایی

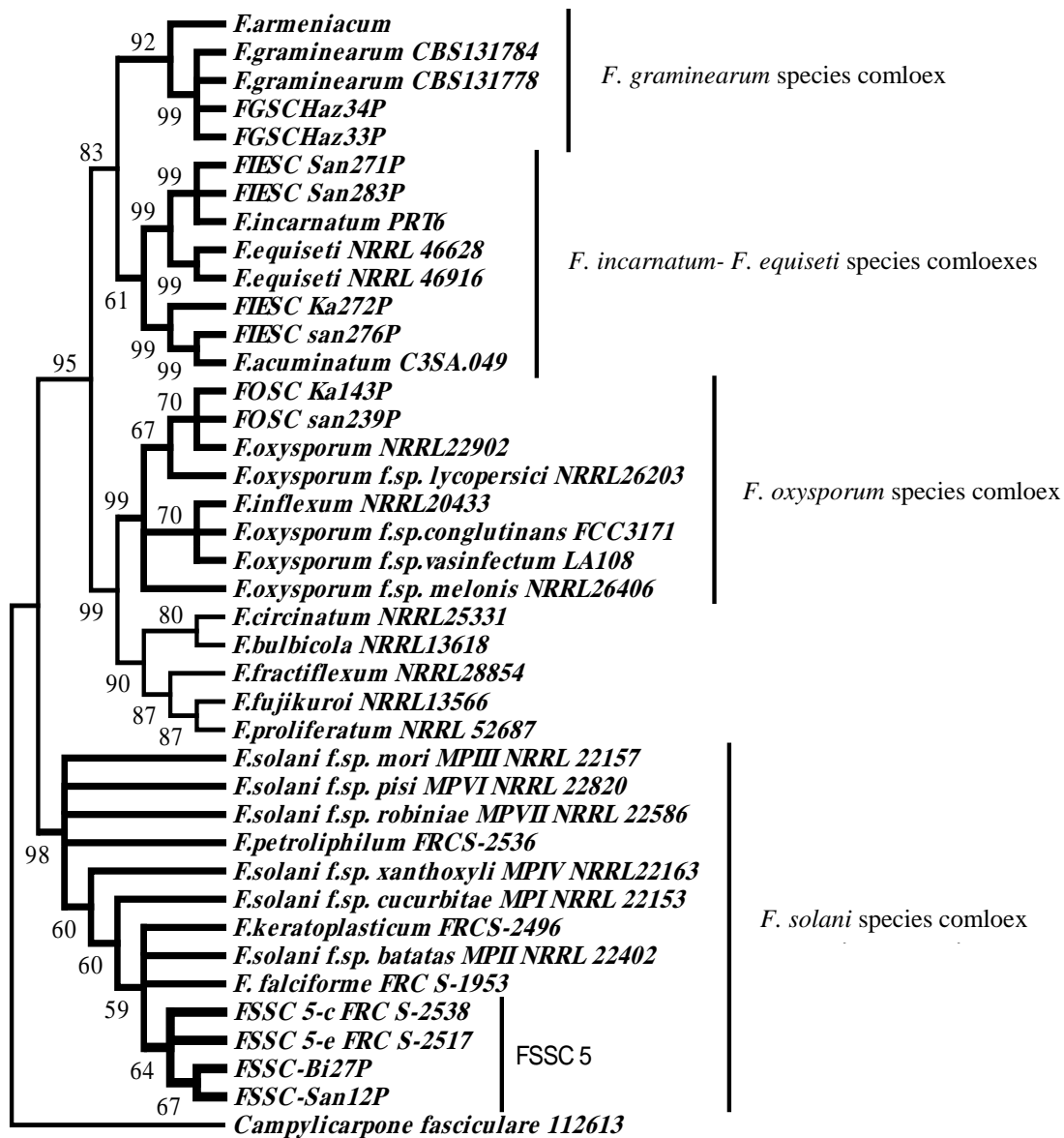
جهت انجام آزمون بیماری زایی جدایه های قارچی از غده های سیب زمینی سالم (رقم مارفونا) که از نظر شکل و اندازه تقریباً یکسان بودند استفاده شد. غده های سیب زمینی با آب معمولی شسته شدند و با استفاده از الکل اتانول ۷۰٪ ضد عفونی سطحی شدند. سپس با استفاده از پنبه سوراخ کن، حفره ای به قطر ۰/۵ سانتی متر و عمق ۱ سانتی متر بر روی آنها ایجاد شد. سپس قطعه ای به همین اندازه از محیط کشت حاوی قارچ رشد کرده (محیط کشت ۷ روزه) بر روی این قسمت گذاشته شد و سپس توسط پارافیلیم پوشانده شد و در درون جعبه استریل گذاشته شد و سپس روی جعبه با نایلون سلفون پوشانده شد و در دمای آزمایشگاه به مدت ۳ هفته نگهداری شد چهری و همکاران (Chehri *et al.*, 2014). جهت کنترل منفی از محیط کشت PDA استفاده شد و جهت کنترل مثبت از جدایه های بیماری زای موجود در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه رازی استفاده شد. این آزمایش در ۳ تکرار انجام شد. برای ارزیابی شدت بیماری، غده ها از وسط و در امتداد حفره ایجاد شده تقسیم شدند و شدت بیماری زایی طبق الگوی چهری و همکاران (2014) نمره دهی شد و بدین ترتیب ۵ درجه تخمین زده شد. (a) غده سالم بوده و علائمی از بیماری زایی دیده نشد. (b) ۵ تا ۱۰ میلی متر پوسیدگی دیده شد. (c) ۱۱ تا ۲۰ میلی متر پوسیدگی دیده شد. (d) ۲۱ تا ۳۰ میلی متر پوسیدگی دیده شد. (e) بیش از ۳۰ میلی متر پوسیدگی دیده شد.

اسکالپل غده ها به قطعاتی تقسیم شد و از فاصله بین بافت سالم و بافت آلوده قسمت هایی را جدا کرده و بر روی تشتک پتری حاوی محیط کشت انتخابی پپتون - پنتاکلرونیتروبنزن - آگار (PPA) ناش و اسنایدر (Nash and Snyder, 1962) گذاشته و سپس در انکوباتور نگهداری شد. همه تشتک های پتری برای ۴۸ ساعت در انکوباتور و در دمای ۲۵°C قرار داده شد. پرگنه های رشد کرده تک اسپور گردیده و برای نگهداری کوتاه مدت و مشاهده مشخصات پرگنه نظیر میزان رشد و رنگ، به محیط کشت معمولی سیب زمینی - دکستروز - آگار (PDA) انتقال داده شدند. جهت تحریک جدایه ها به تولید ماکروکنیدیوم از محیط های کشت برگ میخک - آگار (CLA) دو درصد فیشر و همکاران (Fisher *et al.*, 1982) استفاده شد. سرانجام گونه ها به کمک کلید *لزلی و سامورل* (Leslie, and Summerell, 2006) شناسایی شدند.

### استخراج DNA، واکنش زنجیره ای پلی مرز و توالی یابی

#### ژن *TEF-1α*

برای این منظور جدایه های مورد نظر روی محیط کشت برات (PDB) کشت شدند و به مدت ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و DNA جدایه ها مطابق روش اصلاح شده موری و تامپسون (Murray and Thompson, 1980) استخراج شد. تکثیر و توالی ژن *TEF-1α* Factor با استفاده از آغازگرهای (5' - EF1 (ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3' و (5' - EF2 (GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3' / دونول و همکاران (O'Donnell *et al.*, 1998) انجام شد. واکنش زنجیره ای پلی مرز بهینه شده در این مطالعه، در حجم ۵۰ میکرولیتر شامل ۰/۴ میکرولیتر DNA الگو، ۱۶/۳۵ میکرولیتر ddH<sub>2</sub>O، ۸ میکرولیتر از هر آغازگر، ۱ میکرولیتر دی اکسی نوکلئوتید تری فسفات (dNTPs)، ۰/۲۵ میکرولیتر واحد آنزیم DNA پلی مرز (Promega)، ۸ میکرولیتر بافر واکنش ۵X و ۸ میکرولیتر کلرید منیزیم (MgCl<sub>2</sub>) انجام گرفت. واکنش مزبور در دستگاه ترموسایکلر (PTC-100®, MJ Research, Inc., USA) انجام شد. چرخه های دمایی به کار رفته برای تکثیر ژن شامل ۳۵ چرخه به شرح زیر بود: واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت سازی DNA ژنومی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها به رشته الگو در دمای ۵۹ درجه سلسیوس



شکل ۱: درخت فیلوژنی براساس ترتیب توالی ژن *TEF-1α* و با استفاده از روش ماکزیمم پارسیمونی اجرا شده با نرم‌افزار مگا ۴ برای گونه‌های فوزاریوم جدا شده از سیب‌زمینی

Fig. 1: A maximum parsimony phylogeny for 40 taxa of the *Fusarium* spp. isolated from potato inferred from combined *tefl* sequences. Bootstrap tests were performed with 1000 replications. *Campylicarpone fasciculare* (NRRL112613) obtained from GenBank was treated as the outgroup

## نتایج و بحث

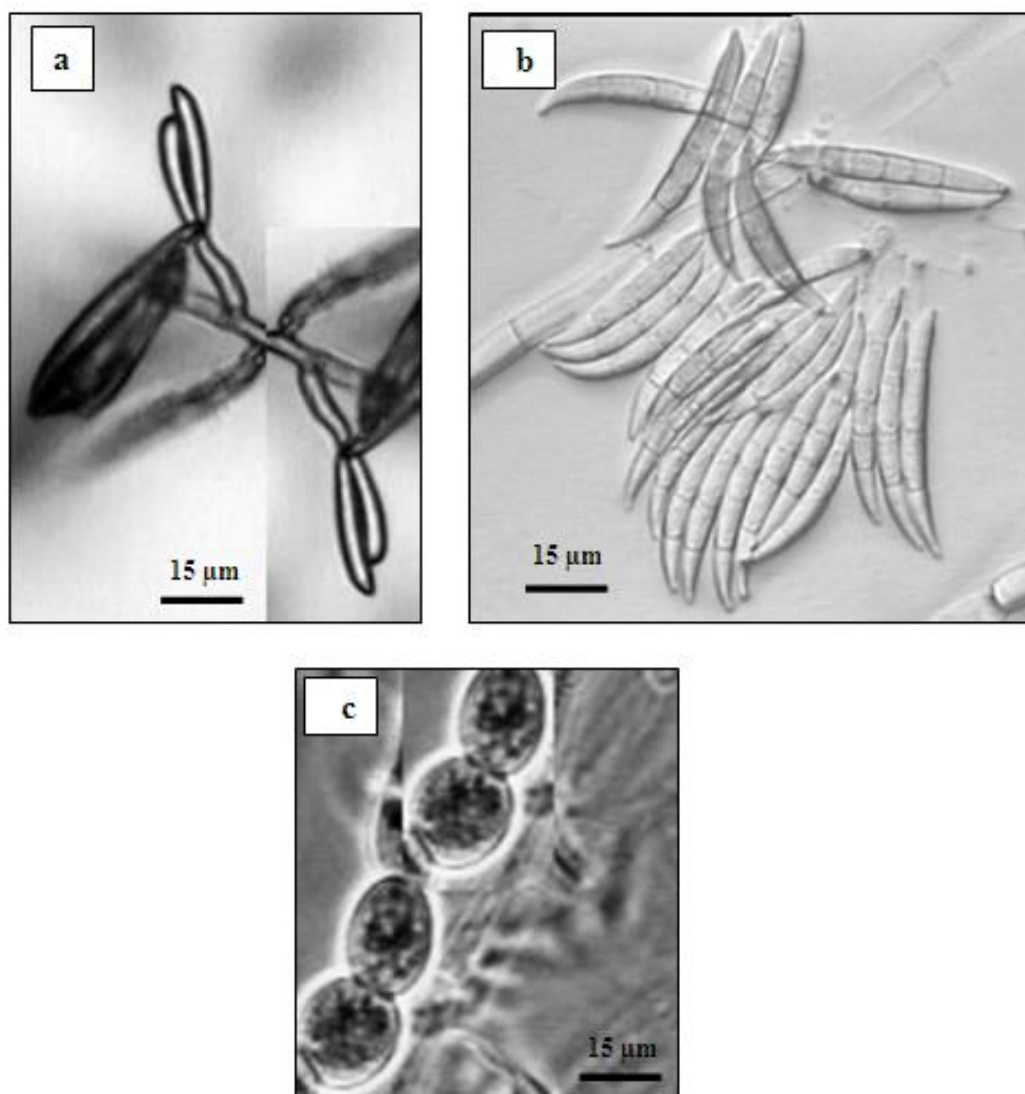
۱، از بین ۵۵ جدایه‌ی فوزاریوم جدا شده از سیب‌زمینی در استان کردستان، ۲۲ جدایه در آزمون بیماری‌زایی، قادر به ایجاد پوسیدگی خشک و تا حدودی پوسیدگی نرم بودند. در بین جدایه‌های بیماری‌زا درجه‌ی پرآزاری متغیر بود. در آزمون اثبات بیماری‌زایی و ارزیابی پرآزاری جدایه‌های *F. solani*، در مجموع ۲۰ جدایه مورد آزمون قرار گرفتند که از این تعداد، ۱۰ جدایه بیماری‌زا شناخته شدند. همچنین در بین جدایه‌های بیماری‌زا درجه‌ی پرآزاری متغیر بود (جدول ۱). بیماری‌زایی این گونه توسط سایر محققین ثابت شده است

برای انجام این تحقیق از ۵۵ مغازه تره‌بار فروشی نمونه‌برداری صورت گرفت. در این تحقیق ۵۵ جدایه قارچ فوزاریوم جدا شده از غده‌های آلوده سیب‌زمینی مورد بررسی قرار گرفت که براساس بررسی‌های ریخت‌شناسی متعلق به گونه‌های *F. acuminatum*، *F. oxysporum*، *Fusarium incarnatum* و *F. solani* بودند.

نتایج حاصل از آزمون اثبات بیماری‌زایی و ارزیابی پرآزاری جدایه‌های فوزاریوم در جدول ۱ ارائه شده است. مطابق جدول

آزمون اثبات بیماری‌زایی و ارزیابی پرازایی جدایه‌های *F. incarnatum*، در مجموع ۱۰ جدایه مورد آزمون قرار گرفتند که از این تعداد، ۴ جدایه بیماری‌زا شناخته شدند (جدول ۱). در بین جدایه‌های بیماری‌زا، جدایه‌های FIESCSan271P، FIESCSan283P، FIESCSan269P و FIESCSan268P دارای درجه‌ی پرازایی b بودند. این گونه برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

شریفی و همکاران؛ مرید و همکاران (Sharifi et al., 2008; Morid et al., 2009). در آزمون اثبات بیماری‌زایی و ارزیابی پرازایی جدایه‌های *F. oxysporum*، در مجموع ۱۲ جدایه مورد آزمون قرار گرفتند که از این تعداد، ۴ جدایه بیماری‌زا شناخته شدند. همچنین در بین جدایه‌های بیماری‌زا درجه‌ی پرازایی متغیر بود (جدول ۱). بیماری‌زایی این گونه توسط نصر اصفهانی (2005) و کریمی (Karimi, 1970) ثابت شده است. این گونه برخلاف سایر گونه‌ها پوسیدگی نرم ایجاد می‌کند. در



شکل ۲: *Fusarium incarnatum*: (a) آرایش کنیدیوفورها با یاخته‌های کنیدیوم‌زای پلی‌فیالیید، (b) ماکروکنیدیوم‌ها، (c) کلآمیدوسپورها (خط مقیاس برای اشکال برابر ۱۵ میکرومتر است)

Fig. 2: *Fusarium incarnatum*. a) polyphialide, b) macroconidia, c) chlamydospores (Bar= 15µm)

جدول ۱: گونه‌های فوزاریوم شناسایی شده و نتایج حاصل از آزمون بررسی شدت بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم بعد از ۲۱ روز

Table 1: The name of the pathogen identified and measurement of lesion expansion and rank of the tuber's condition 21 days after incubation from each sample

بیماری‌زایی Pathogenicity/ virulencea	اندازه‌ی قطر زخم ایجاد شده (میلی‌متر) Measurement the width of lesion's size (mm)	گونه شناسایی شده Species identified	نتیجه آزمون بیماری‌زایی Pathogenicity resultd	شماره جدایه Isolate number	ردیف No.	بیماری‌زایی Pathogenicity / virulencea	اندازه‌ی قطر زخم ایجاد شده (میلی‌متر) Measurement the width of lesion's size (mm)	گونه شناسایی شده Species identified	نتیجه آزمون بیماری‌زایی Pathogenicity resulted	شماره جدایه Isolate number	ردیف No.
a	0	<i>F. acuminatum</i>	-	FIESCSan03P	23	a	0	<i>F. solani</i>	*	FSSCSan01P	1
b	6	<i>F. acuminatum</i>	*	FIESCKa272P	24	d	22	<i>F. solani</i>	*	FSSCSan12P	2
b	8	<i>F. acuminatum</i>	*	FIESCKa272P	25	d	23	<i>F. solani</i>	*	FSSCBi27P	3
a	0	<i>F. acuminatum</i>	-	FIESCSan21P	26	b	6	<i>F. solani</i>	*	FSSCSan10P	4
a	0	<i>F. acuminatum</i>	-	FIESCSan22P	27	d	21	<i>F. solani</i>	*	FSSCBi23P	5
a	0	<i>F. acuminatum</i>	-	FIESCSan213P	28	d	24	<i>F. solani</i>	*	FSSCBi21P	6
b	8	<i>F. incarnatum</i>	*	FIESCSan283P	29	c	16	<i>F. solani</i>	*	FSSCBi22P	7
b	8	<i>F. incarnatum</i>	*	FIESCSan269P	30	c	14	<i>F. solani</i>	*	FSSCBi24P	8
b	6	<i>F. incarnatum</i>	*	FIESCSan268P	31	c	16	<i>F. solani</i>	*	FSSCBi25P	9
a	0	<i>F. incarnatum</i>	-	FIESCM260P	32	c	14	<i>F. solani</i>	*	FSSCSan02P	10
a	0	<i>F. incarnatum</i>	-	FIESCM261P	33	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCSan03P	11
a	0	<i>F. incarnatum</i>	-	FIESCM262P	34	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCSan04P	12
a	0	<i>F. incarnatum</i>	-	FIESCBi263P	35	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCSan05P	13
a	0	<i>F. incarnatum</i>	-	FIESCSan264P	36	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCSan06P	14
a	0	<i>F. incarnatum</i>	-	FIESCD265P	37	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCSan07P	15
b	6	<i>F. incarnatum</i>	*	FIESCSan271P	38	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCSan08P	16
a	0	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCKa108P	39	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCSan09P	17
b	6	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCKa109P	40	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCS01P	18
d	21	<i>F. oxysporum</i>	*	FOSCD143P	41	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCS02P	19
c	18	<i>F. oxysporum</i>	*	FOSCKa239P	42	a	0	<i>F. solani</i>	-	FSSCS03P	20
c	16	<i>F. oxysporum</i>	*	FOSCSan103P	43	a	0	<i>F. acuminatum</i>	-	FIESCSan01P	21
b	8	<i>F. oxysporum</i>	*	FOSCD104P	44	a	0	<i>F. acuminatum</i>	-	FIESCSan02P	22

ادامه جدول ۱: گونه‌های فوزاریوم شناسایی شده و نتایج حاصل از آزمون بررسی شدت بیماری‌زایی جدایه های فوزاریوم بعد از ۲۱ روز

Table 1 Continued: The name of the pathogen identified and measurement of lesion expansion and rank of the tuber's condition 21 days after incubation from each sample

بیماری‌زایی Pathogenicity/ virulencea	اندازه‌ی قطر زخم ایجاد شده (میلی‌متر) Measurement the width of lesion's size (mm)	گونه شناسایی شده Species identified	نتیجه آزمون بیماری‌زایی Pathogenicity resultd	شماره جدایه Isolate number	ردیف No.	بیماری‌زایی Pathogenicity / virulencea	اندازه‌ی قطر زخم ایجاد شده (میلی‌متر) Measurement the width of lesion's size (mm)	گونه شناسایی شده Species identified	نتیجه آزمون بیماری‌زایی Pathogenicity resulted	شماره جدایه Isolate number	ردیف No.
a	0	<i>F. graminearum</i>	-	FGSCSan35P	52	a	0	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCKa105P	45
a	0	<i>F. graminearum</i>	-	FGSCSan36P	53	a	0	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCKa107P	46
b	8	<i>F. graminearum</i>	*	FGSCHaz34P	54	b	8	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCKa106P	47
b	6	<i>F. graminearum</i>	*	FGSCHaz33P	55	a	0	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCKa110P	48
						a	0	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCBa111P	49
						a	0	<i>F. oxysporum</i>	-	FOSCBa112P	50
						a	0	<i>F. graminearum</i>	-	FGSCSan34P	51

در آزمون اثبات بیماری‌زایی و ارزیابی پرازایی جدایه‌های *F. acuminatum* در مجموع ۸ جدایه مورد آزمون قرار گرفتند که از این تعداد، ۲ جدایه بیماری‌زا شناخته شدند (جدول ۱). جدایه‌های FIESCSan276P و FIESCKa272P دارای درجه‌ی پرازایی b بودند. بیماری‌زایی این گونه توسط شریفی و همکاران (2008) ثابت شده است. در آزمون اثبات بیماری‌زایی و ارزیابی پرازایی جدایه‌های *F. graminearum*، در مجموع ۵ جدایه مورد آزمون قرار گرفتند که از این تعداد، ۲ جدایه بیماری‌زا شناخته شدند (جدول ۱). در بین جدایه‌های بیماری‌زا، جدایه‌های FGSCHaz33P و FGSCHaz34P دارای درجه‌ی پرازایی b بودند. این گونه قبلاً توسط زارع و ارشاد (Zare and Ershad, 1997) از غلات جدا شده است. بیماری‌زایی این گونه بر روی سیب‌زمینی توسط سایر محققین در سایر کشورها به اثبات رسیده است علی و همکاران؛/سترادا/ و همکاران (Ali et al., 2005; Estrada et al., 2010). بیماری‌زایی این گونه بر روی سیب‌زمینی برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

۱۰ جدایه از همه گونه‌ها به ترتیب زیر مورد مطالعه‌ی مولکولی قرار گرفتند. درخت فیلوژنی براساس توالی نوکلوتیدی‌های ژن *TEF-1α* ثابت کرد جدایه‌های FGSCHaz33P و FGSCHaz34P که براساس مطالعات ریخت‌شناسی به‌عنوان *F. graminearum* تشخیص داده شدند با ارزش Bootstrap بالایی (۹۲ درصد) در کنار جدایه‌های *F. graminearum* (CBS131784, CBS131778) به‌دست آمده از بانک ژنی قرار گرفتند (شکل ۱). همچنین درخت فیلوژنی

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه ۲۴-۲۵ متن انگلیسی مراجعه شود.

نشان داد جدایه‌های FIESCSan283P, FIESCSan271P Bootstrap FIЕСSCKa272P, FIESCSan276P — ارزش Bootstrap متوسط (۶۱ درصد) در کمپلکس گونه‌ای *F. incarnatum*- *F. equiseti* species complexes (FIESC) در این کمپلکس جدایه‌های FIESCSan283P, FIESCSan271P که براساس مطالعات ریخت‌شناسی به‌عنوان *F. incarnatum* تشخیص داده شده بودند (شکل ۲) با ارزش Bootstrap بالایی (۹۹ درصد) در کنار جدایه‌های *F. incarnatum* (PRT6) به-دست آمده از بانک ژنی قرار گرفتند و جدایه‌های FIESCSan276P و FIESCKa272P نیز با ارزش Bootstrap بالایی (۹۹ درصد) در کنار جدایه‌های *F. acuminatum* (C3SA.049) به‌دست آمده از بانک ژنی قرار گرفتند و بدین-ترتیب با مطالعات به‌دست آمده از داده‌های ریخت‌شناسی مطابقت داشت (شکل ۲).

تک نیایی جدایه‌های FOSCSan239P, FOSCKa143P و *F. oxysporum* (NRRL22902) به‌دست آمده از بانک ژنی براساس توالی نوکلوتیدی‌های ژن *TEF-1α* نشان داده شد (شکل ۱). همچنین درخت فیلوژنی نشان داد جدایه‌های FSSCSan12P و FSSCBi27P با ارزش Bootstrap بالایی (۹۸ درصد) در کمپلکس گونه‌ای *F. solani* species complexe (FSSC) قرار گرفتند. نتیجه به‌دست آمده نشان داد این جدایه‌ها با ۶۴ درصد Bootstrap در کنار گونه فیلوژنتیک FSSC5 قرار گرفتند که با مطالعات چهری و همکاران (2014) مطابقت داشت.