



Isolation, Identification, and Pathogenicity Assessment of *Fusarium* Species Associated with Root and Stem Rot from Rapeseed Fields in Some Regions of Golestan Province

Mohammadreza Rezaei¹, Fatemeh Dehghan Nayeri², Ahmad Abbasi Moghadam³, Hassan Rasouli⁴

1. Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University (IKIU), Qazvin, Iran. E-mail: mohammadreza.rezaei@gmail.com
2. Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University (IKIU), Qazvin, Iran. Email: nayeri@eng.ikiu.ac.ir
3. Corresponding Author, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO) Karaj, Iran. E-mail: abasimoghadam@spii.ir
4. Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: h3n.rasouli@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Rapeseed (<i>Brassica napus</i> L.) is a widely cultivated oilseed crop in Iran and worldwide, valued for its role in producing edible oil, supporting energy production, and contributing to food security. Studies have shown that <i>Fusarium</i> species causing crown and root rot diseases are among the major threats to canola production in Golestan Province and other regions of Iran. These fungal pathogens are responsible for reduced canola yield. In this study, 103 contaminated rapeseed samples exhibiting crown and root rot symptoms were collected from canola-growing fields of Golestan Province. Among these samples, 79 <i>Fusarium</i> isolates were obtained, and the pathogenicity of 59 isolates was confirmed using pathogenicity assays. To identify the collected isolates at the species level, we used a combination of morphological characteristics and molecular/bioinformatics analyses using sequencing of the ITS and <i>TEF1-α</i> genes. Accordingly, the identified isolates were <i>Fusarium acuminatum</i>, <i>Fusarium proliferatum</i>, and <i>Fusarium culmorum</i>. Interestingly, <i>Fusarium culmorum</i> and <i>Fusarium proliferatum</i> accounted for 47 and 42% of the identified isolates among the collected samples. For the first time, this study reports the pathogenicity of these three <i>Fusarium</i> isolates collected from the studied regions. The results highlight the importance of accurate identification and the integrated management of pathogenic <i>Fusarium</i> isolates to reduce economic losses and maintain healthy rapeseed production.
Article history: Received: 3 August 2025 Revised: 26 October 2025 Accepted: 1 November 2025 Published online: Autumn and Winter 2024	
Keywords: <i>Canola wilting</i> , <i>F. acuminatum</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. culmorum</i> , Root and crown rot.	
Cite this article: Rezaei, M., Dehghan Nayeri, F., Abbasi Moghadam, A. & Rasouli, H. (2024). Isolation, Identification, and Pathogenicity Assessment of <i>Fusarium</i> Species Associated with Root and Stem Rot from Rapeseed Fields in Some Regions of Golestan Province. <i>Iranian Journal of Plant Protection Science</i> , 55 (2), 383–410. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.400011.1007088	
© The Author(s). DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.400011.1007088	Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Rapeseed (*Brassica napus* L.) is one of the most important cultivated oilseed crops worldwide and in Iran, playing a critical role in edible oil production. In addition to its economic roles, this plant enhances soil health by improving soil biochemical features. Studies have shown that fungal pathogens, particularly *Fusarium* spp, causing crown and root rot, are among the most damaging threats to canola yield. These catastrophic diseases cause considerable yield reductions and economic losses in regions such as Golestan Province, where rapeseed cultivation has been promoted in recent years. Therefore, integrated management of canola fields by accurate identification of pathogenic *Fusarium* isolates can guarantee the sustainable production of canola in this part of Iran.

Objectives

Due to the economic damage of rapeseed root and crown rot disease occurrence in canola fields of Golestan Province, this investigation aims to isolate, identify, and evaluate the pathogenicity of *Fusarium* species isolated from different parts of this region.

Materials and Methods

During the 2021 to 2023 growing seasons, a total of 103 rapeseed samples with symptoms of crown and root rot were collected from 11 regions of Golestan Province, Iran. Totally, 79 fungal isolates of the genus *Fusarium* were isolated and purified. Afterwards, these isolates were assessed for pathogenicity by inoculation of 28-day-old rapeseed (cult. RGS003) seedlings under controlled greenhouse conditions.

Species-level characterization of the isolates was conducted using morphological methods and identifications keys available for specific identification of fungal species coupled with macroscopic characteristics (color and growth rate of the colony on PDA medium) and microscopic features (shape, size, and production mode of microconidia and macroconidia, presence and formation of chlamydospores, and presence of twisted hyphae on PCA medium), as well as molecular/bioinformatics techniques by amplification, sequencing and evolutionary relationship of the ITS and *TEF-1α* genes.

Results

The outcomes exhibit that 59 isolates were pathogenic and caused disease symptoms on the rapeseed seedlings. The identified isolates were classified as *F. acuminatum*, *F. proliferatum*, and *F. culmorum*. The results indicated that *F. culmorum* and *F. proliferatum* isolates were considerably prevalent among the collected samples from the studied regions. Accordingly, *F. culmorum* isolates possessed 47% of all evaluated isolates, while 11% of the identified isolates were *F. acuminatum*. Additionally, *F. proliferatum* isolates accounted for 42% of the identified isolates. The morphological/molecular characterization of the studied isolates was aligned with previously reported results, and confirmed our results.

Additional greenhouse experiments exhibited that the evaluated isolates showed a differential pathogenicity toward rapeseed seedlings by causing moderate to severe disease symptoms in the crown and root tissues of the treated seedlings. The identified isolates also differentially affected root length, fresh root weight, seedling height, and fresh aerial biomass compared to the control group. Although *F. acuminatum* was less prevalent among the identified isolates, it showed the highest disease severity in canola seedlings. The pathogenicity levels of *F. culmorum* and *F. proliferatum* were comparable to each other, yet both were lower than that of *F. acuminatum*.

Conclusion

The outcomes demonstrated that the studied isolates differentially affected the growth and development of rapeseed seedlings. This observation may indicate the presence of possible synergistic interactions among *Fusarium* isolates in the onset of crown and root rot diseases in canola. Further large-scale molecular and field experiments are recommended to identify new pathogenic isolates of this fungal genus that may pose a threat to canola yield and oil production in the studied regions of Golestan province, Iran. Taken together, the integrated management of canola fields by regular monitoring of these fields for identification of novel pathogenic *Fusarium* isolates might improve the productivity of this crop by applying effective and practical control strategies against fungal pathogens in canola-growing regions.

Author Contributions

FDN and AAM conceived the main idea of this research; AAM conducted morphological identification and pathogenicity tests; HR conducted phylogenetic and statistical analyses; MRR conducted the experimental assays, collected samples, and raw data. All authors contributed equally to the writing of the original and

subsequent drafts. The authors have approved the current version of the paper and have agreed to publish the final draft in this journal.

Data Availability Statement

All data discussed in this report were included.

Acknowledgements

The authors specially thank the scientific support of the Seed and Plant Improvement Institute, the Agricultural Research, Education, and Extension Organization of Iran, and the Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University for providing the necessary support and facilities to conduct this research. The authors also express their sincere gratitude to Dr. Simin Taheri-Ardestani for her kind and scientific support during conducting experimental steps of this study. This paper was extracted from the PhD dissertation of the first author of this study.

Ethical considerations

The authors confirmed that data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct did not occur during the preparation and analyses of data reported in this paper.

جداسازی، شناسایی و ارزیابی بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم مرتبط با علائم پوسیدگی ریشه و طوقه در مزارع کلزا برخی مناطق استان گلستان

محمد رضا رضایی^۱ | فاطمه دهقان نیری^۲ | احمد عباسی مقدم^۳ | حسن رسولی^۴

۱. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، قزوین، ایران. رایانامه: mohamadreza.rezaii@gmail.com
۲. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، قزوین، ایران. رایانامه: nayeri@eng.ikiu.ac.ir
۳. نویسنده مسئول، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. رایانامه: abasimoghadam@spii.ir
۴. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران. رایانامه: h3n.rasouli@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	کلزا (<i>Brassica napus</i>) یکی از مهم‌ترین دانه‌های روغنی ایران و جهان است که نقش حیاتی در تأمین روغن خوراکی، تولید انرژی و امنیت غذایی ایفاء می‌کند. بیماری‌های پوسیدگی طوقه و ریشه که توسط گونه‌های مختلف جنس <i>Fusarium</i> ایجاد می‌شوند، از عوامل محدودکننده تولید این محصول در استان گلستان و سایر مناطق ایران به شمار می‌روند. این عوامل بیمارگر قارچی سبب خسارت‌های اقتصادی و کاهش عملکرد کلزا می‌شوند. در این پژوهش، تعداد ۱۰۳ نمونه گیاه کلزا با علائم پوسیدگی طوقه و ریشه از یازده مزرعه منتخب واقع در شهرستان‌های کردکوی، علی‌آباد، گرگان و بندرگز از استان گلستان جمع‌آوری شدند و از این تعداد، ۷۹ جدایه متعلق به جنس <i>Fusarium</i> جداسازی شد. آزمون بیماری‌زایی نشان دادند که از بین آنها تعداد ۵۹ جدایه بیماری‌زا هستند. جدایه‌های بیماری‌زا بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و تجزیه و تحلیل‌های مولکولی، شامل استفاده از نشانگرهای اختصاصی، توالی‌یابی نوای ژنومی ITS و <i>TEF1-α</i> ، به عنوان سه گونه <i>Fusarium acuminatum</i> ، <i>Fusarium proliferatum</i> و <i>Fusarium culmorum</i> شناسایی شدند. بر اساس نتایج به دست آمده، دو گونه <i>Fusarium culmorum</i> و <i>Fusarium proliferatum</i> در نمونه‌های جمع‌آوری شده، به ترتیب شامل ۴۷ و ۴۲ درصد جدایه‌های شناسایی شده بودند. با توجه به اطلاعات موجود، این مطالعه نخستین گزارش از بیماری‌زایی سه گونه <i>Fusarium culmorum</i> ، <i>Fusarium proliferatum</i> و <i>Fusarium acuminatum</i> در مزارع کلزای استان گلستان محسوب می‌شود. نتایج به دست آمده در این پژوهش بر اهمیت شناسایی دقیق و مدیریت هدفمند این عوامل بیماری‌زا برای کاهش خسارت‌های اقتصادی و حفظ سلامت محصول کلزا تأکید دارد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۲ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۸/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۰ تاریخ انتشار: پاییز و زمستان ۱۴۰۴	
کلیدواژه‌ها: پوسیدگی طوقه و ریشه، پرمردگی کلزا، <i>F. acuminatum</i> ، <i>F. proliferatum</i> ، <i>F. culmorum</i>	

استاد: رضایی، محمد رضا؛ دهقان نیری، فاطمه؛ عباسی مقدم، احمد و رسولی، حسن (۱۴۰۴). جداسازی، شناسایی و ارزیابی بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم مرتبط با علائم پوسیدگی ریشه و طوقه در مزارع کلزا برخی مناطق استان گلستان. نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، ۵۵ (۲)، ۳۸۳-۴۱۰. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.400011.1007088>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.400011.1007088>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

امروزه بیماری‌های گیاهی خاک‌زاد یکی از مهم‌ترین چالش‌های کشاورزی پایدار محسوب می‌شوند. این بیماری‌ها در اثر طیف متنوعی از عوامل بیماری‌زای گیاهی ایجاد می‌شوند که به دلیل حضور مستمر در خاک و قابلیت زنده ماندن طولانی مدت، کنترل آن‌ها بسیار دشوار است (Agrios, 2024). کلزا (*Brassica napus* L.) به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی جهان و منبع مهم تأمین امنیت غذایی و درآمد کشاورزان، به شدت تحت تأثیر بیماری‌های خاک‌زاد از جمله پوسیدگی ریشه قرار دارد (Yu et al., 2023). پژمردگی آوندی و پوسیدگی ریشه یکی از اصلی‌ترین محدودیت‌های تولید کلزا در جهان است که سالانه خسارت‌های اقتصادی قابل توجهی به همراه دارد. اگرچه در ایران آمار دقیقی از خسارت‌های ناشی از این بیماری در سطح ملی منتشر نشده است، اما شواهد میدانی و مطالعات منطقه‌ای حاکی از تأثیر مخرب آن در کاهش عملکرد کلزا در مناطق مختلف کشور است (Mirderikvand et al., 2021; Nemati Mondani Pour & Farrokhinejad, 2021). این بیماری با ایجاد انسداد در سیستم آوندی گیاه، جریان آب و مواد مغذی را مختل کرده و منجر به کاهش کمی و کیفی محصول می‌گردد. علائم بیماری شامل مرگ گیاهچه، کاهش رشد و کلروز برگ‌های پایین است که با پیشرفت بیماری به بخش‌های فوقانی گسترش می‌یابد. همچنین، پژمردگی موقت و در موارد شدید، پژمردگی کامل گیاه نیز به عنوان علائم بیماری مشاهده می‌شود. تحقیقات نشان داده است که پوسیدگی بافت‌های ریشه و طوقه، تغییر رنگ بافت آوندی به قهوه‌ای، کوتولگی، ریزش دانه‌ها و نکروز و خشک شدن نهایی گیاه نیز در این بیماری رخ می‌دهد (Yu et al., 2023; Yu et al., 2024).

گونه‌های متنوع از جنس *Fusarium*، در ایجاد پژمردگی آوندی و پوسیدگی ریشه کلزا نقش عمده ایفاء می‌کنند. این قارچ‌ها با توانایی بقای طولانی مدت در خاک و گسترش وسیع، خسارت‌های اقتصادی قابل توجهی به محصول کلزا وارد می‌نمایند و با تولید انواع مختلفی از متابولیت‌های ثانویه سمی مانند مایکوتوکسین‌ها سلامت انسان، دام و طیور را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Chen et al., 2014; Mirderikvand et al., 2021; Shabeer et al., 2021). شناسایی دقیق گونه‌های فوزاریوم دخیل در بروز بیماری‌های پوسیدگی طوقه و ریشه و پژمردگی آوندی کلزا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اطلاع از بیماری‌زایی، میزان پرآزاری، الگوهای انتشار بیماری و پاسخ به روش‌های مدیریت بیماری، مستلزم شناخت دقیق و هدفمند گونه عامل بیماری است و به کشاورزان و پژوهشگران این امکان را می‌دهد تا راهکارهای مبارزه مؤثرتر و اختصاصی‌تر را به کار گیرند و از گسترش بیماری و خسارت‌های اقتصادی جلوگیری کنند (Yu et al., 2024; Nemati Mondani Pour et al., 2021).

بنابراین، هدف این پژوهش، شناسایی دقیق گونه‌های غالب جنس فوزاریوم مرتبط با پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در برخی مناطق استان گلستان و بررسی بیماری‌زایی گونه‌های غالب در این منطقه بود. با توجه به اهمیت این گونه‌ها به عنوان عوامل پوسیدگی ریشه و پژمردگی آوندی کلزا و تنوع بالای آن‌ها در مناطق مختلف، شناسایی دقیق و تعیین شدت بیماری‌زایی هر گونه، زمینه‌ساز طراحی راهکارهای مدیریتی هدفمند و مؤثر برای کنترل بیماری و کاهش خسارت‌های اقتصادی این بیماری در مدیریت مزارع کلزا خواهد بود.

پیشینه پژوهش

گونه‌های مختلف جنس *Fusarium* به عنوان عوامل اصلی پوسیدگی طوقه و ریشه کلزا در مناطق مختلف جهان گزارش شده‌اند. برای مثال، گونه‌های *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh و *F. semitectum* (Desm.) Sacc به عنوان رایج‌ترین عوامل بیماری‌های پوسیدگی طوقه و ریشه در مرحله گیاهچه و گیاه کامل، از استرالیا گزارش شده‌اند (Li et al., 2007). در ایالت متحده آمریکا، بیماری‌زایی گونه‌های *F. oxysporum*، *F. acuminatum* و *F. solani* و *sporotrichioides* ارقام متعددی از کلزا مشاهده شده است (Okello et al., 2018). همچنین، گونه‌های *F.*

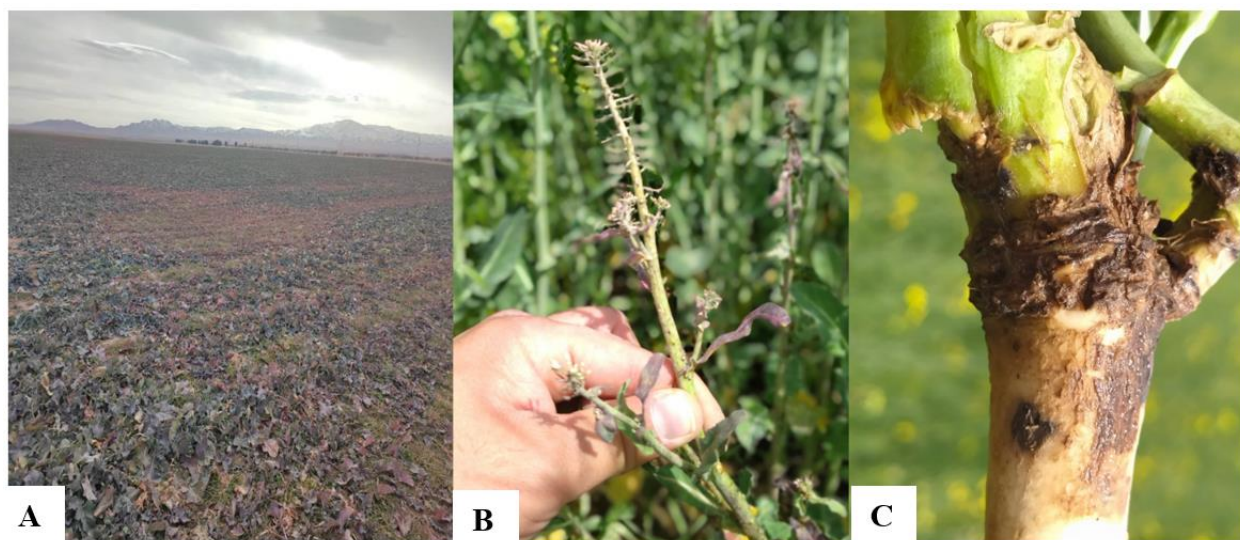
oxysporum F. و *F. culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. به عنوان عوامل پوسیدگی طوقه در مرحله گیاهچه از لهستان گزارش شده‌اند (Starzycki et al., 2007). در کانادا نیز تنوع بالایی از گونه‌های بیماری‌زای فوزاریوم روی کلزا شامل *F. avenaceum* (Fr.) Sacc.، *F. sporotrichioides* F.، *F. solani* F.، *F. redolens* Wollenw. و *F. commune* K. Skovgaard, O'Donnell and Nirenberg گزارش شده است (Yu et al., 2024). در ایران از مزارع کلزای اصفهان گونه‌های *F. lateritium* Nees & T. Nees، *F. heterosporum* Nees و *F. solani* F. گزارش شده‌اند (Nasrisfahani et al., 2009). از مزارع عمده کلزای استان خوزستان گونه‌های *F. solani* F.، *F. equiseti* F.، *F. chlamidosporum* Wollenw.، *F. nygamai* LW Burgess & Trimboli، *F. heterosporum* (Corda) Sacc.، *F. incarnatum* (Roberge ex Desmazières) Sacc.، *F. oxysporum* F. و *F. verticillioides* Sacc. & Reinking (Sacc.) Nirenberg جداسازی و شناسایی شده که از این بین، بیماری‌زایی گونه‌های *F. solani* F. و *F. equiseti* F. تایید شده است (Larki & Farokhinejad 2015).

در گزارش نعمتی مندنی پور و همکاران گونه‌های قارچی *F. gracilipes* F.، *F. flocciferum* F.، *F. acuminatum* F. و *F. incarnatum* F. به عنوان عوامل مرتبط با زردی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه کلزا از مزارع کلزای خوزستان جداسازی و گزارش شده است (Nemati Mondanipour et al., 2021).

روش‌شناسی پژوهش

جمع‌آوری نمونه

طی سال‌های زراعی ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۲ و پس از بازدیدهای میدانی از یازده مزرعه منتخب کلزا در شهرستان‌های کردکوی، بندر گز، علی‌آباد و گرگان واقع در استان گلستان تعداد ۱۰۳ گیاه کلزا مشکوک به بیماری با علائمی نظیر زردی، کاهش رشد، عدم تشکیل غلاف، همراه با پوسیدگی و تغییر رنگ طوقه (شکل ۱) از مزارع انتخاب و به آرامی همراه با ریشه از خاک خارج شدند. سپس نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی قرار داده شدند و به آزمایشگاه سلامت بذر و قرنطینه بانک ژن گیاهی ملی ایران در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انتقال یافتند.



شکل ۱. علائم بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه در مزارع کلزا، A: عدم رشد بوته و کچلی‌های نامنظم در سطح مزرعه کلزا آلوده، B: عدم تشکیل غلاف در گیاهان آلوده، C: پوسیدگی و تغییر رنگ قهوه‌ای تا سیاه در قسمت طوقه گیاه آلوده.

جداسازی، خالص‌سازی و بررسی ریخت‌شناختی جدایه‌های *Fusarium*

در آزمایشگاه، ابتدا بخش‌های طوقه و ریشه نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه با استفاده از آب مقطر شستشو داده شد. سپس قطعاتی به اندازه سه تا هفت میلی‌متر از نواحی حد فاصل بافت‌های آلوده و سالم هر نمونه تهیه شد. قطعات به دست آمده در زیر هود میکروبی و در شرایط استریل به مدت یک دقیقه با محلول ضدعفونی کننده حاوی هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی شدند. برای حذف کامل محلول ضدعفونی‌کننده، قطعات جدا شده از نمونه‌ها سه مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند. قطعات استریل تا زمان خشک شدن کامل روی کاغذ صافی استریل زیر هود میکروبی قرار گرفتند. سپس قطعات به دست آمده از هر نمونه به‌طور جداگانه روی محیط کشت عمومی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) در تشتک پتری کشت شدند و به مدت یک هفته در اتاقک رشد با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و چرخه نوری هشت ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی قرار گرفتند. در طول دوره نگهداری، از هر جدایه قارچی که در اطراف ریزنمونه‌ها رشد کرده بود، یک حلقه میسیلیومی به قطر ۰/۵ سانتی‌متر از قسمت انتهایی میسیلیوم برداشته و بطور جداگانه روی محیط کشت PDA منتقل شد. این جدایه‌ها مجدداً به مدت یک هفته تحت شرایط مشابه قبلی (دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و چرخه نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی) نگهداری شدند. سپس خالص‌سازی جدایه‌ها با استفاده از روش تک اسپور در محیط کشت آب-آگار انجام شد (Kachuei et al. 2009).

به منظور حفظ و نگهداری طولانی مدت جدایه‌های قارچی به دست آمده، از حاشیه فعال پرگنه‌های هر جدایه خالص یک حلقه میسیلیومی به قطر ۰/۵ سانتی‌متر برداشته شد و به صورت جداگانه به تیوب‌های حاوی مخلوط اتوکلاو شده پرلیت، رس، ماسه و کاه به نسبت ۱:۱:۱:۱ منتقل گردید. تیوب‌ها در دمای چهار درجه سلسیوس (درون یخچال) نگهداری شدند. سپس شناسایی اولیه جدایه‌ها با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی ماکروسکوپی (شامل میزان رشد پرگنه، رنگ پرگنه، وجود و رنگ منتشر شده در آگار روی محیط کشت PDA) و همچنین، خصوصیات میکروسکوپی شامل اسپرو دوکیوم‌ها (وجود یا عدم وجود و رنگ آن‌ها)، ماکروکنیدیوم‌ها (وجود یا عدم وجود، اندازه، شکل، نوع سلول انتهایی و ابتدایی، نحوه تولید و تعداد بندهای عرضی)، میکروکنیدیوم‌ها (وجود یا عدم وجود، اندازه، شکل، نحوه تولید، نوع آرایش شامل منفرد، سر دروغین و زنجیره، تعداد بندهای عرضی در صورت وجود و نوع فیالید مونو یا پلی‌فیالید) و کلامیدوسپورها (وجود یا عدم وجود، محل تولید، نوع دیواره، نحوه آرایش شامل منفرد، دسته‌ای، دوتایی و زنجیره، وجود یا عدم وجود سلول‌های متورم در ریشه‌ها) روی محیط کشت برگ میخک آگار^۲ (CLA) بررسی و اندازه‌گیری شد. این اندازه‌گیری‌ها با استفاده از میکروسکوپ Olympus مدل BH12 با بزرگنمایی $100 \times$ و $400 \times$ انجام شد و برای هر نمونه ۵۰ اندازه‌گیری صورت گرفت که میانگین آنها به عنوان مقدار نهایی در نظر گرفته شد. سپس شناسایی گونه‌های *Fusarium* با بهره‌گیری از کلیدهای شناسایی Leslie and Summerell (2006) و Nelson et al. (1983) انجام گردید.

شناسایی مولکولی

پس از انجام بررسی‌های ریخت‌شناختی ۵۹ جدایه بیماری‌زای فوزاریوم، به منظور تأیید صحت شناسایی گونه، از هر گونه سه جدایه برای انجام مطالعات مولکولی انتخاب شدند. در این مطالعات، توالی‌یابی ژن‌های اختصاصی مانند ITS (Transcribed Spacer) و *TEF1-α* (Translation Elongation Factor 1-alpha) و همچنین استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه برای شناسایی سریع و دقیق گونه‌های قارچ به کار گرفته شد.

1. Potato Dextrose Agar

2. Carnation Leaf Agar

استخراج DNA

حلقه‌های میسلیومی به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه فعال پرگنه‌های سه روزه جدایه‌های قارچی برداشته و در لوله‌های آزمایشگاهی حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع سیب‌زمینی-دکستروز بروث (PDB) کشت داده شد. لوله‌ها به مدت یک هفته در شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و در دمای اتاق نگهداری شدند و سپس توده‌های میسلیومی تکثیر یافته به کمک کاغذ صافی در زیر هود استریل جمع‌آوری شدند. پس از شستشوی میسلیوم‌ها با آب مقطر استریل و خشک شدن آنها، ۵۰۰ میلی‌گرم میسلیوم از هر جدایه در هاون چینی با نیتروژن مایع پودر شد. DNA ژنومی کل با استفاده از روش ستیل تری متیل آمونیوم بروماید^۲ (CTAB) استخراج گردید (Lee et al., 1990). پس از انجام مراحل ذکر شده در دستورالعمل استخراج DNA از میسلیوم‌های قارچی، برای حذف رطوبت اضافی، DNA رسوب یافته در دمای اتاق برای حذف باقی‌مانده اتانول مورد استفاده در مرحله استخراج قرار داده شد و سپس در ۳۰ میکرولیتر آب دیونیزه حل گردید و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. کمیت و کیفیت DNA ژنومی استخراج شده به ترتیب به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ و ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

به منظور تأیید دقیق جدایه‌های *F. culmorum* از روش مولکولی PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی بهره گرفته شد. آغازگرهای اختصاصی به کار رفته برای این گونه به ترتیب (5'-ATGGTGAACCTCGTCGTGGC-3') Fc01F و (5'-CCCTTCTTACGCAATCTCG-3') Fc01R بودند (Nicholson et al., 1998). برای تأیید شناسایی سایر گونه‌ها توالی‌یابی نواحی ژنومی ITS و *TEF1-α* انجام شد. آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ناحیه *TEF1-α* شامل (5'-EF-2 و (5'-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3') و (5'-GTAAGGAGGASAAGACTCACC-3') EF-3 و (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ITS4 و (5'-ITS5 و (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') بودند (White et al., 1990).

واکنش‌های PCR در حجم کل ۲۰ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر DNA الگو با غلظت ۲۰ نانوگرم بر میکرولیتر، یک میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت ۱۰ میکرومولار، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس (HotStar Taq Master Mix (Qiagen) و هفت میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز انجام گردید (Yu et al., 2024).

برنامه حرارتی دستگاه ترموسایکلر شامل فعال‌سازی اولیه آنزیم در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشتگی در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگر در ۵۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، بسط در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و در نهایت مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (Yu et al., 2024). محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شده و تحت تابش نور UV با دستگاه Gel Document Vilber 20Lourmat TCP-M مشاهده و تصویربرداری گردیدند. طول قطعه تکثیر شده برای *F. culmorum* برابر با ۵۷۰ جفت باز بود (Nicholson et al., 1998) و طول نواحی ITS و *TEF1-α* تکثیر یافته برای دو گونه *F. proliferatum* و *F. acuminatum* به ترتیب ۵۵۰ و ۶۸۰ جفت باز بود (O'Donnell et al., 1998; White et al., 1990). توالی‌های تکثیر یافته جهت توالی‌یابی به شرکت زیست‌فناوری پیشگام ارسال شدند.

از توالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده برای شناسایی مولکولی نزدیک‌ترین گونه‌های *Fusarium* به جدایه‌های بررسی شده در این پژوهش استفاده شد. برای این منظور ابتدا انتهای ۳' و ۵' توالی‌های نوکلئوتیدی بدست آمده از توالی‌یابی با استفاده از ابزار ChromasPro پیرایش گردید و خوانش‌های نوکلئوتیدی بی‌کیفیت از توالی‌های مورد بررسی حذف شد. سپس، برای هر

1. Potato Dextrose Broth

2. Cetyltrimethylammonium Bromide

توالی به صورت جداگانه مقایسه همدیفی نوکلئوتیدی با استفاده از پایگاه داده NCBI و استفاده از پارامترهای پیشفرض ابزار BlastN انجام گردید و توالی‌های مشابه با هر کدام از توالی‌های جستجو شده در NCBI در فرمت *fasta* دانلود و ذخیره گردید.

تجزیه و تحلیل تبارزایی

به منظور تایید شناسایی ریخت شناختی، دو گونه *F. acuminatum* و *F. proliferatum*، از هر گونه یک جدایه به عنوان نماینده برای شناسایی مولکولی بر اساس تجزیه و تحلیل تبارزایی انتخاب شد. بررسی روابط تبارشناسی، تجزیه و تحلیل‌های تبارزایی به صورت جداگانه بر اساس توالی‌های ناحیه ITS و ژن *TEF-1α* برای دو جدایه نماینده انجام شد. برای توالی‌های بدست آمده از مقایسه همدیفی نوکلئوتیدی توالی‌های ITS و *TEF1-α* توالی‌یابی شده از جدایه‌های مورد بررسی در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار MEGA v.12 (Kumar et al., 2018) تبارنمای فیلوژنتیکی به روش Maximum Likelihood و اعمال تنظیمات Adaptive bootstrap با در نظر گرفتن آستانه پنج و استفاده از مدل General Time Reversible Model و شاخص Gamma برابر با پنج ترسیم گردید. به منظور تفکیک بهتر واحدهای تاکسونومیک تبارنمای فیلوژنتیکی و بررسی ارتباط فیلوژنتیکی توالی‌های مورد بررسی از توالی ITS و *TEF1-α* قارچ *Alternaria solani* به عنوان گروه خارجی در هنگام ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی استفاده گردید. در نهایت، توالی‌های مربوط به دو گونه *F. acuminatum* و *F. proliferatum* جداسازی شده در این مطالعه، به همراه توالی‌های ITS و *TEF-1α* سایر گونه‌های بیماری‌زای مرتبط با پوسیدگی ریشه کلزا که از پایگاه داده NCBI استخراج و در مطالعات پیشین گزارش شده بودند، پس از ویرایش و همدیفی برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی و تفسیر روابط فیلوژنتیکی بین گونه‌های مورد بررسی استفاده گردید. به منظور تایید نتایج بدست آمده برای تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده به روش Adaptive bootstrap، مجدد درخت‌های فیلوژنتیکی با استفاده از روش ذکر شده در بالا و از طریق آزمون اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار بازسازی گردیدند و تغییری در گروه‌بندی واحدهای تاکسونومیک مشاهده شده بر روی درخت‌های فیلوژنتیکی مشاهده نگردید (Felsenstein, 1985).

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های خام بدست آمده از ارزیابی‌های گلخانه‌ای از نرم‌افزار R نسخه 4.5.1 و بسته‌های *ggpubr*، *ggplot2*، *tidyverse* و *rstatix* استفاده گردید.

ارزیابی بیماری‌زایی و مقایسه شدت بیماری‌زایی جدایه ها

در شرایط کنترل شده گلخانه‌ای اثرات بیماری‌زایی هر جدایه به صورت کنترل شده مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، از گیاهچه‌های ۲۸ روزه گیاه کلزا (رقم RGS003) استفاده شد. بذور در سینی‌های کشت حاوی مخلوط استریل شده پرلیت و کوکوپیت به نسبت ۱:۱ کشت شد. پیش از مایه زنی، گیاهچه‌ها با دقت از محیط کشت خارج شده و پس از حذف مکانیکی بقایای چسبیده به ریشه، سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. برای تهیه زادمایه جدایه‌ها، از حاشیه فعال کشت پنج روزه هر یک از ۷۹ جدایه فوزاریوم به دست آمده، یک حلقه میسیلیومی به قطر پنج میلی‌متر برداشته و در لوله‌های آزمایش حاوی محیط مایع PDB کشت داده شد. لوله‌ها به مدت پنج روز بر روی صفحه دورانی با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس محتویات هر لوله از کاغذ صافی استریل عبور داده شد و پس از حذف میسیلیوم قارچ، غلظت سوسپانسیون کینیدیوم با استفاده از لام هموسیتومتر به غلظت استاندارد 1×10^6 کینیدیوم در میلی‌لیتر تنظیم گردید.

عمل مایه‌زنی در محیط گلخانه انجام شد و برای هر تیمار قارچی، نه عدد گیاهچه به صورت تصادفی انتخاب شدند. گیاهچه‌های مربوط به هر تیمار به مدت ۱۰ دقیقه در سوسپانسیون کینیدیوم مربوطه قرار گرفتند. سپس، در لیوان‌های یک بار مصرف حاوی خاک کشاورزی بکر سترون کشت شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، آبیاری اولیه انجام گرفت. گیاهچه‌های

مایه‌زنی شده به مدت سه هفته در محیط گلخانه با دمای بین ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری و هر دو روز یک بار آبیاری شدند. جهت تیمار شاهد آب مقطر استریل استفاده شد. در پایان گیاهچه‌ها به صورت کیفی از نظر بروز علائم پوسیدگی در ناحیه طوقه و ریشه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

به منظور مقایسه شدت بیماری‌زایی گونه‌های بیماری‌زا، از هر گونه به طور تصادفی سه جدایه به عنوان نماینده انتخاب شدند و شدت بیماری‌زایی هر یک در آزمون‌های مجزا ارزیابی گردید. در نهایت، میانگین شدت بیماری‌زایی جدایه‌های هر گونه و تأثیر آن‌ها بر شاخص‌های رشدی گیاه با یکدیگر مقایسه شد. در این مرحله پس از پایان دوره آزمایش و خروج گیاهچه‌ها از گلدان، علاوه بر ارزیابی‌های کیفی علائم بیماری، تأثیر هر جدایه بر شاخص‌های رشد گیاه (شامل وضعیت سلامت گیاه از لحاظ شدت بیماری، طول ریشه، وزن تر ریشه، ارتفاع و وزن تر گیاهان) مورد سنجش قرار گرفتند. ارزیابی شدت بیماری، با سیستم امتیازدهی صفر تا چهار و براساس میزان ظهور علائم بیماری بر پایه سیستم امتیازدهی ارائه شده مک‌گریک و همکاران (McCreight et al. 2005) انجام گردید.

به منظور رعایت اصول کخ و اطمینان از توانایی ایجاد بیماری جدایه‌ها در گیاهچه‌های دارای علائم بیماری، پس از ثبت نهایی داده‌ها، نمونه‌هایی به طول نیم سانتی‌متر از بخش‌های طوقه و ریشه گیاهان بیمار تهیه شد. این نمونه‌ها پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت دو دقیقه و آبکشی با آب مقطر استریل، در تشتک‌های حاوی محیط کشت PDA کشت شدند. سپس به مدت یک هفته در اتاقک رشد با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و چرخه نوری هشت ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی نگهداری شدند. سپس، یک حلقه میسیلیومی به قطر نیم سانتی‌متر از قارچ رشد یافته از هر تشتک پتری برداشته و در محیط کشت CLA واکشت و تحت همان شرایط نوری و دمایی نگهداری شد. پس از گذشت دو هفته، بار دیگر با استفاده از کلیدهای شناسایی (Leslie, Summerell and Smith (2006 و همچنین Nelson, Toussoun and Marasas (1983) شناسایی انجام شد (Koch, et al. 1991).

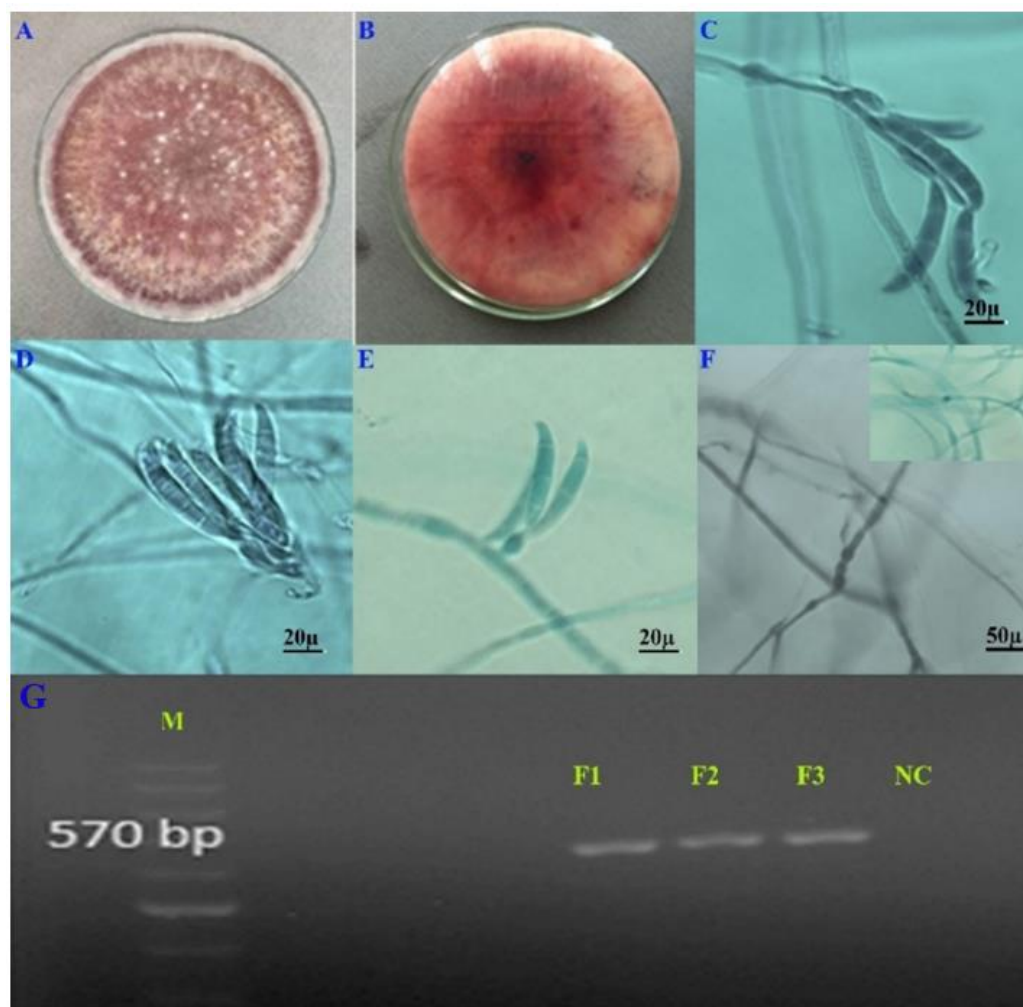
یافته‌های پژوهش

شناسایی جدایه‌های فوزاریومی بیمارگر

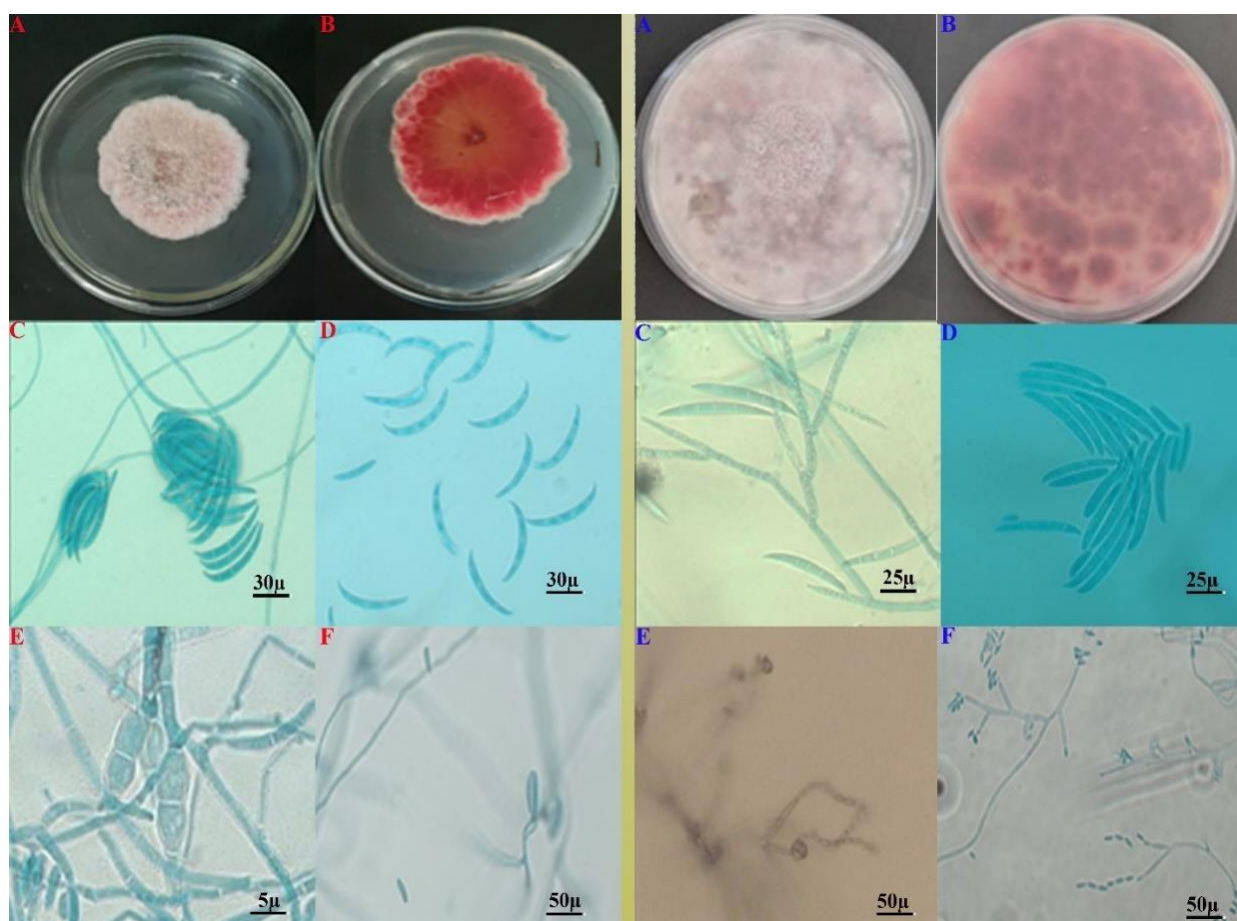
در این پژوهش، تعداد ۷۹ جدایه فوزاریوم از نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان گلستان جداسازی گردید. براساس نتایج آزمون بیماری‌زایی، از این میان ۵۹ جدایه به عنوان جدایه‌های بیماری‌زا شناسایی شدند. از این تعداد، ۲۸ جدایه (معادل ۴۷ درصد از جدایه‌ها) به عنوان گونه *F. culmorum* شناسایی شدند. این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA و در دمای بهینه (۲۵ درجه سلسیوس) از سرعت رشد بسیار بالایی برخوردار بودند. اسپورودوخیوم‌های تولید شده ابتدا نارنجی رنگ بوده و به تدریج به رنگ قهوه‌ای تیره تغییر رنگ دادند. در قسمت پشت تشتک پتری رنگ قرمز به خوبی مشاهده گردید. هیف‌ها روی محیط کشت PDA به صورت پفکی و سفید رنگ بودند و سمت پشت تشتک‌ها رنگ قرمز متمایل به بنفش داشتند. همچنین، روی محیط کشت CLA اسپورودوخیوم‌های فراوانی تولید کردند. ماکروکنیدیوم‌های این جدایه‌ها روی محیط کشت CLA از لحاظ شکل و اندازه یکنواخت و نسبتاً کوتاه ($5/5 - 7 \times 2.5 - 4.0$ میکرومتر) بودند و بطور معمول سه تا پنج دیواره داشتند. قسمت‌های میانی ماکروکنیدیوم‌ها عریض‌تر از هر دو انتهای آنها بود. سمت پشتی کمی منحنی و سمت شکمی تخت بود. سلول انتهایی گرد و گاه کمی خمیده مشاهده شد، درحالی که سلول پایه فاقد شکل پا توسعه یافته بود. همچنین، میکروکنیدیوم نیز مشاهده نشد. کلامیدوسپورها پس از دو هفته کشت در محیط رشد، به صورت بین‌هیفی و در سه فرم اصلی انفرادی، زنجیره‌ای و مجتمع ظاهر شدند (شکل ۲).

از میان جدایه‌های مورد بررسی، ۲۵ جدایه (معادل ۴۲ درصد از جدایه‌ها) به عنوان *F. proliferatum* شناسایی شدند. این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA و در دمای بهینه (۲۵ درجه سلسیوس) از سرعت رشد خوبی برخوردار بودند. پس از گذشت پنج روز سطح تشتک پتری نه سانتی‌متری را پوشش دادند. در قسمت روی پرگنه رنگ میسیلیوم در این جدایه‌ها در

ابتدا سفید بود و با افزایش سن به رنگ بنفش-ارغوانی تغییر کرد. در پشت پرگنه رنگ ارغوانی مشاهده شد. ماکروکنیدیوم‌ها باریک با کمی خمیدگی، دارای دیواره‌های نازک با اندازه (۵-۳ × ۵۰-۳۵) میکرومتر بودند. ماکروکنیدیوم‌ها اغلب دارای سه دیواره ولی تا پنج دیواره هم مشاهده گردید. سلول پایه‌ای کف پایی توسعه نیافته که به صورت پاییل دیده شدند. سلول انتهایی کوتاه و خمیده مشاهده شدند. میکروکنیدیوم‌ها نیز کوچک، چماقی شکل و اغلب بدون دیواره بودند و به صورت مونو یا پلی فیالید و یا در زنجیره‌های کوتاه تشکیل شدند. کلامیدوسپور روی محیط کشت CLA پس از پنج هفته تشکیل نشد (شکل ۳).



شکل ۲. خصوصیات میکروسکوپی و ماکروسکوپی گونه *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo و A: نحوه رشد پرگنه روی محیط کشت PDA (به ترتیب رو و پشت تشتک پتری)، D و C: اسپروдохیوم و ماکروکنیدیوم‌ها، E: نحوه اتصال ماکروکنیدیوم به کنیدیوفور کوتاه، F: نحوه تشکیل کلامیدوسپور زنجیره و تکی درون هیف، روی محیط کشت CLA. G: تکثیر قطعه ۵۷۰ جفت بازی مربوط به ژن *Tri5* در *Fusarium culmorum* با استفاده از آغازگرهای Fc01F و Fc01R. M: نشانگر ۱ kb، NC: شاهد منفی، F1-F3: جدایه‌های بیمارگر قاچ مورد مطالعه برای تایید کارایی آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر اختصاصی ناحیه هدف.



شکل ۳. راست: خصوصیات میکروسکوپی و ماکروسکوپی گونه *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg و A و B: نحوه رشد پرگنه روی محیط کشت PDA (به ترتیب رو و پشت تشتک پتری)، C: اسپرودوخیوم و ماکروکنیدیومها، D: ماکروکنیدیومها به تعداد زیاد، E و F: نحوه تشکیل میکروکنیدیومها (زنجیره، مونو فیالید، میکروکنیدیومها به تعداد بسیار زیاد، روی محیط کشت CLA). چپ: خصوصیات میکروسکوپی و ماکروسکوپی گونه *Fusarium acuminatum* Ellis & Everhart و A و B: نحوه رشد پرگنه روی محیط کشت PDA (به ترتیب رو و پشت تشتک پتری)، C: اسپرودوخیوم و ماکروکنیدیومها، D: ماکروکنیدیومها به تعداد زیاد، E: کلامیدوسپور، F: میکروکنیدیومها به تعداد بسیار کم، روی محیط کشت CLA.

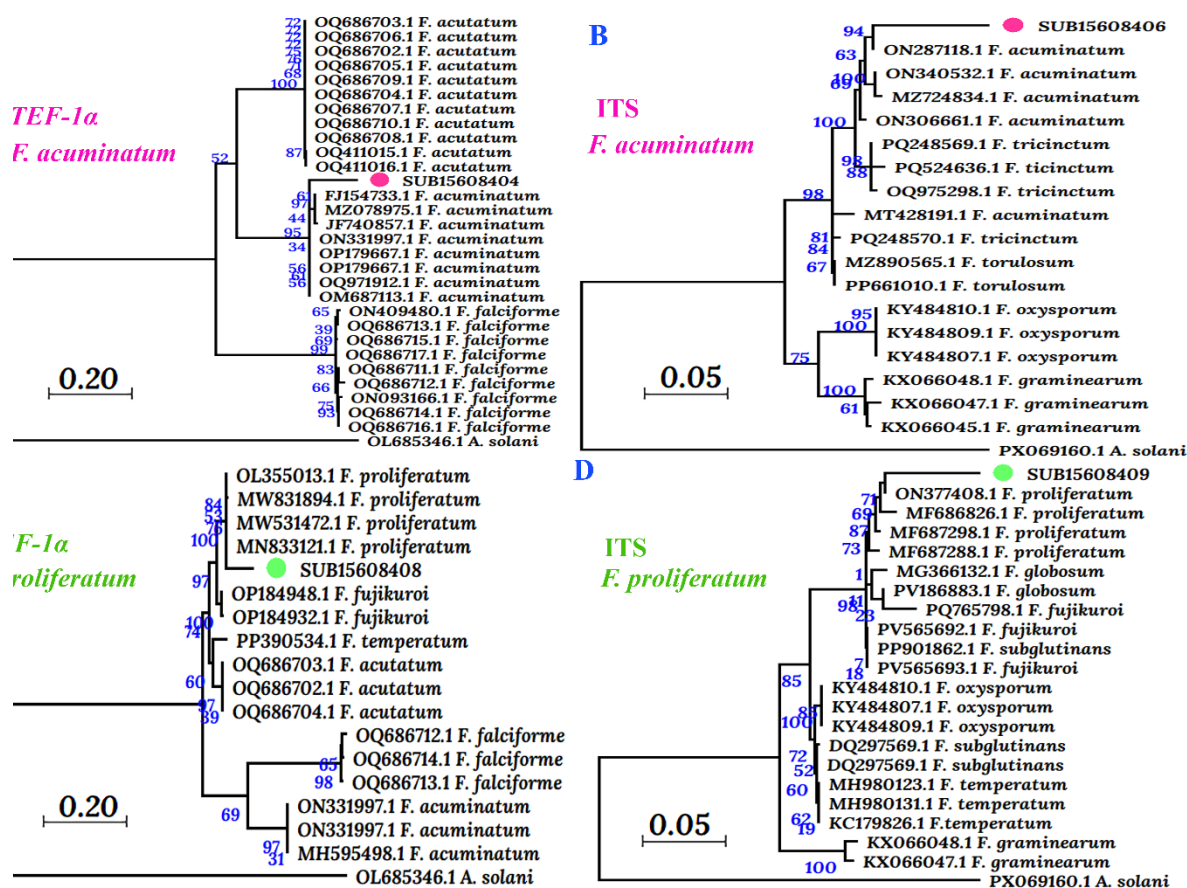
همچنین از میان شش جدایه باقی مانده (۱۱ درصد از جدایه‌ها) نیز به عنوان *F. acuminatum* شناسایی شدند. سرعت رشد جدایه‌ها روی محیط کشت PDA کند بود. پرگنه این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA دارای الگوی رشد پنبه‌ای بود و هیف‌های قارچ به رنگ سفید و قرمز مشاهده شد. رنگ قرمز در پشت محیط کشت دیده شد. روی محیط کشت CLA، ماکروکنیدیومها روی کنیدیوفورهای در اسپرودوخیا تشکیل شدند. اندازه ماکروکنیدیومها (۳-۵ × ۳-۵) میکرومتر و معمولاً دارای پنج دیواره گاه سه یا چهار دیواره بودند. این ماکروکنیدیومها قایقی خمیده شکل و دیواره ضخیم داشتند. سلول پایه در ماکروکنیدیومها کمی توسعه یافته و پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی مخروطی کشیده بود. تعداد میکروکنیدیومها کم بوده و در برخی که دیده شد استوانه‌ای تا کلیه‌ای شکل بودند. کلامیدوسپور روی محیط کشت CLA پس از پنج هفته تشکیل شد (شکل ۳).

داده‌های مولکولی حاصل از تکثیر قطعه (۵۷۰ جفت بازی) از ژن *Tri5* در *F. culmorum* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی Fc01R و Fc01F (شکل ۲) شناسایی این گونه را تایید کرد و به دلیل عدم وجود آغازگر اختصاصی قابل اطمینان از توالی‌یابی نواحی ITS و *TEF-1α* در دو گونه دیگر استفاده شد، که تاییدکننده شناسایی دقیق و صحیح گونه‌ها در مطالعه حاضر می‌باشد. درصد شباهت توالی‌های به دست آمده با استفاده از ابزار BlastN با نمونه‌های مرجع موجود در بانک ژن برای

هر دو ناحیه بیش از ۹۵ درصد بود که هویت گونه‌ها را به طور قطعی اثبات نمود. برای تعیین روابط فیلوژنتیکی و تأیید نهایی شناسایی گونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش، درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی‌های ITS و *TEF1-α* ترسیم گردید. نتایج حاصل از ارزیابی فیلوژنتیکی توالی‌های ITS و *TEF1-α* نشان داد که برای نواحی توالی‌یابی شده از هر دو جدایه مورد بررسی، بالاترین قرابت فیلوژنتیکی با توالی‌های مرجع دو جدایه *F. proliferatum* و *F. acuminatum* موجود در پایگاه داده NCBI وجود دارد. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، توالی ژن *TEF1-α* جدا شده از جدایه *F. acuminatum* (SUB15608404) در یک کلاسد مشترک با توالی‌های مربوط به ژن *TEF1-α* سایر جدایه‌های گزارش شده گونه *F. acuminatum* قرار گرفته است. همچنین برای توالی دیگر *TEF1-α* در این مطالعه (SUB15608408) بالاترین قرابت فیلوژنتیکی به توالی‌های متناظر مشابه گزارش شده از جدایه‌های *F. proliferatum* مشاهده می‌گردد. بر اساس نتایج بدست آمده برای ارزیابی فیلوژنتیکی توالی ژن *TEF1-α* برای گونه *F. acuminatum* می‌توان گفت، که توالی SUB15608404 دارای ارتباط نزدیکی با چندین توالی مرجع مربوط به گونه *F. acuminatum* در NCBI شامل MZ078975.1 (جدایه *F. acuminatum* 36HS)، FJ154733.1 (جدایه *F. acuminatum* R9382) و JF740857.1 (جدایه *F. acuminatum* NRRL 52789) است که همگی در یک کلاسد با پشتیبانی بالا (۹۷ درصد) قرار گرفته‌اند. شاخه متصل به توالی مورد بحث دارای طولی برابر با ۰/۰۸۵ است که نسبت به سایر کلادهای دیگر طولانی‌تر است و این مورد نشان دهنده‌ی میزان واگرایی بیشتر این توالی نسبت به نزدیک‌ترین خویشاوندانش در این درخت تبارزایی می‌باشد. از طرف دیگر، مقدار پشتیبانی بالای گره‌های مجاور نشان می‌دهد که جایگاه تکاملی این توالی در درون این کلاسد نسبتاً مطمئن است. در مقایسه با توالی‌های دیگر مانند OQ686703.1 تا OQ686709.1 (مربوط به جدایه‌های مختلف *F. acutatum*) که دارای شاخه‌های با طول صفر و شباهت بسیار زیاد هستند، توالی SUB15608404 تمایز ژنتیکی بیشتری با این توالی‌ها از خود نشان می‌دهد و میزان همگرایی آن با توالی‌هایی که مربوط به به گونه *F. acuminatum* به صورت چشمگیری بالاتر است، در نتیجه شناسایی قطعی این توالی به عنوان توالی ژن *TEF1-α* گونه *F. acuminatum* که پیشتر از طریق ویژگی‌های ریخت‌شناسی و کلیدهای اختصاصی شناسایی گردید را تأیید می‌کند.

همچنین، نتایج تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی برای توالی SUB15608408 نشان می‌دهد که این توالی در یک کلاسد مستقل اما نزدیک به گروهی از جدایه‌های *F. proliferatum* ثبت شده در GenBank مانند OL355013.1 (جدایه MCGF-2)، MW831894.1 (جدایه BMU 02072) و MN833121.1 (جدایه 4054) قرار دارد و از نظر تکاملی با آن‌ها ارتباط دارد. این کلاسد با مقدار اعتبارسنجی بالا (۱۰۰ درصد) پشتیبانی می‌شود که بیانگر اطمینان زیاد از صحت این کلاسد بندی است. همچنین، درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده نشان داد که توالی موردنظر از سایر گروه‌های متعلق به نمونه‌های OQ686702.1-OQ686704.1 (مربوط به جدایه‌های مختلف *F. acutatum*) و نیز کلاسد متشکل از OQ686712.1-OQ686714.1 (مربوط به جدایه‌های مرجع *F. falciforme*) فاصله ژنتیکی قابل توجهی دارد. در مجموع، این یافته‌ها جایگاه فیلوژنتیکی توالی SUB15608408 را در نزدیکی جدایه‌های نزدیک به آن مشخص کرده و در عین حال تفاوت‌های تکاملی آن با سایر گروه‌ها را برجسته می‌سازد. این نتایج نشان می‌دهد که شناسایی توالی SUB15608408 به عنوان ژن *TEF1-α* گونه *F. proliferatum* تقریباً اطمینان بخش است، اگرچه برای تأیید این نتایج استفاده از لوکوس‌های ژنی بیشتر برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی در شناسایی این گونه‌ها به منظور کاهش پلی‌تومی نرم مشاهده شده در دو تبارنمای فیلوژنتیکی برای ژن *TEF1-α* در میان جدایه‌های *F. acuminatum* و *F. proliferatum* و افزایش صحت تشخیص مولکولی و تفکیک این جدایه‌ها از سایر جدایه‌های این گونه ضروری است. تبارنماهای فیلوژنتیکی ترسیم شده برای دو توالی ITS جداسازی شده از جدایه‌های بیمارگر فوزاریومی که در روش ریخت‌شناسی گونه آنها تشخیص داده شد، نیز نشان دهنده‌ی ارتباط تنگاتنگ و نزدیک این دو توالی با جایگاه‌های ITS در ژنوم دو جدایه *F. acuminatum* و *F. proliferatum* براساس توالی‌های مرجع موجود در پایگاه

داده NCBI می‌باشد. درخت فیلوژنتیکی برای ارزیابی ناحیه ITS توالی‌یابی شده (SUB15608406) از جدایه *F. acuminatum* نشان داد که این توالی به صورت خواهری با توالی ON287118.1 (جدایه *F. acuminatum* HT-1) قرار گرفته است و این کلادبندی با حمایت بالا (اعتبارسنجی برابر با ۹۴ درصد) تأیید شده است. طول شاخه نسبتاً زیاد این توالی (۰/۰۸۵۷) حاکی از تمایز ژنتیکی قابل توجه آن در مقایسه با نزدیک‌ترین خویشاوند خود می‌باشد. در درخت تبارزایی ترسیم شده برای توالی ITS، کلاد مربوط به آن صورت یک کلاد خواهری با حمایت بالا (اعتبارسنجی برابر ۱۰۰ درصد) همراه با توالی‌های (F. *acuminatum* JX2-8) ON340532.1 و (F. *acuminatum* voucher HGUP190168) MZ724834.1 در این موقعیت SUB15608406 در درخت هم نشان‌دهنده‌ی اطمینان بالا از جایگاه آن و هم بیانگر وجود تفاوت ژنتیکی محسوس نسبت به سایر توالی‌های نزدیک به آن است، که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی تنوع درون‌گونه‌ای یا وجود یک جدایه متمایز از گونه *F. acuminatum* باشد. نتایج ترسیم درخت فیلوژنتیکی برای توالی SUB15608409 (از ناحیه ITS جدایه مورد مطالعه در این پژوهش) نشان داد گروه SUB15608409 در یک کلاد خواهری با جدایه ON377408.1 (جدایه *F. proliferatum* WX-2) قرار گرفته است و این گره با مقدار پشتیبانی متوسط (اعتبارسنجی برابر ۷۱ درصد) تأیید شده است. می‌توان گفت وجود چنین قرابت فیلوژنتیکی نمایانگر ارتباط تکاملی بین این دو توالی در درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده برای آن است. طول شاخه نسبتاً بلند (۰/۰۸۸۰) در گروه SUB15608409 نشان‌دهنده‌ی تمایز ژنتیکی قابل توجه این توالی از خویشاوندان نزدیک می‌باشد. توالی SUB15608409 از جدایه مورد مطالعه در این پژوهش با MF686826.1 (جدایه *F. proliferatum* GR-1) و MF687298.1 (جدایه *F. proliferatum* M12) به نوبه‌ی خود به صورت کلاد خواهری قرار گرفته‌اند که در درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده از حمایت نسبتاً خوبی (اعتبارسنجی برابر ۸۷-۶۹ درصد) برخوردار هستند، در حالی که برخی کلادهای دیگر مانند PV186883.1 (جدایه *F. globosum* L3) و PQ765798.1 (جدایه *F. fujikuroi* FF-121) فاصله ژنتیکی بیشتری با گروه SUB15608409 نشان می‌دهند و در گره‌های با حمایت پایین قرار گرفته‌اند. به طور کلی، جایگاه گروه SUB15608409 در درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده هم نشان‌دهنده‌ی اطمینان متوسط از موقعیت آن در کلادی است که در آن قرار دارد و هم بیانگر وجود تفاوت ژنتیکی محسوس نسبت به سایر خویشاوندان نزدیک است، که ممکن است منعکس‌کننده تنوع درون‌گونه‌ای یا وجود یک جدایه متمایز از این گونه باشد و نیاز به بررسی‌های تکمیلی با نشانگرهای مولکولی بیشتر یا داده‌های ژنومی برای تشخیص قاطع و با اطمینان بالای آن دارد. به هر حال، انتصاب جدایه‌های شناسایی شده بر اساس این مفروضات فیلوژنتیکی به گونه‌های مرجع، شناسایی مولکولی آنها را با اطمینان قابل قبولی اثبات می‌نماید، اگرچه همانطور که گفته شد برای تایید نتایج حاضر مطالعات تکمیلی دیگری با استفاده از نواحی ژنی دیگر در ژنوم این جدایه‌ها می‌تواند صورت گیرد تا شناسایی مولکولی آنها با قطعیت بالا اثبات گردد.



شکل ۴. قرابت فیلوژنتیکی با توالی‌های مرجع *Fusarium acuminatum* و *Fusarium proliferatum* موجود در پایگاه داده NCBI.

برای جدایه‌های *Fusarium acuminatum* A و B: توالی ژن *TEF1-α* و ناحیه ITS بدست آمده از جدایه‌های مورد مطالعه این پژوهش با علامت دایره‌های قرمز با اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار؛ C و D: توالی ژن *TEF1-α* و توالی ناحیه ITS توالی‌یابی شده از جدایه‌های این پژوهش با علامت دایره‌های سبز با اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار.

نتایج آزمون بیماری‌زایی

نتایج سطوح مشاهده شده شدت بیماری جدایه‌ها در شکل ۵ نشان داده شده است. در این شکل، نمره صفر به گیاهچه‌های فاقد علائم بیماری اختصاص داده شد. نمره یک برای گیاهچه‌های با زردی بسیار کم یا علائم پوسیدگی نسبتاً خفیف در نظر گرفته شد. نمره دو نشان دهنده گیاهچه‌های با زردی نسبی و پوسیدگی متوسط در قسمت طوقه گیاهچه است. نمره سه برای گیاهچه‌هایی که بطور کامل پژمرده شده بودند و پوسیدگی شدید طوقه داشتند اختصاص داده شد، و نمره چهار برای نشان دادن شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها برای از بین بردن کامل گیاهچه در نظر گرفته شد. همانطور که در این شکل نشان داده شده است، جدایه‌های بیمارگر شناسایی شده در این پژوهش سطوح مختلفی از بیماری‌زایی را در میان گیاهچه‌های کلزا مورد بررسی از خود نشان داده‌اند. این مورد بیانگر سطح متفاوت تقابل گیاهچه کلزا با عوامل بیمارگر مورد بررسی در این پژوهش می‌باشد.



شکل ۵. آزمون بیماری‌زایی. ارزیابی مشاهدات بر مبنای شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه در گیاهچه‌های کلزا، A: مقیاس ۰، گیاهان بدون علائم بیماری. B: مقیاس ۱، زردی بسیار کم یا پوسیدگی خفیف. C: مقیاس ۲، زردی نسبی و پوسیدگی متوسط در طوقه. D: مقیاس ۳، پژمردگی کامل و پوسیدگی شدید طوقه. E: مقیاس ۴، مرگ گیاه. F: زردی پیش‌رونده برگ‌ها و پژمرده شدن گیاهچه. G: سیاه شدن بخش‌هایی از طوقه و ریشه گیاهچه.

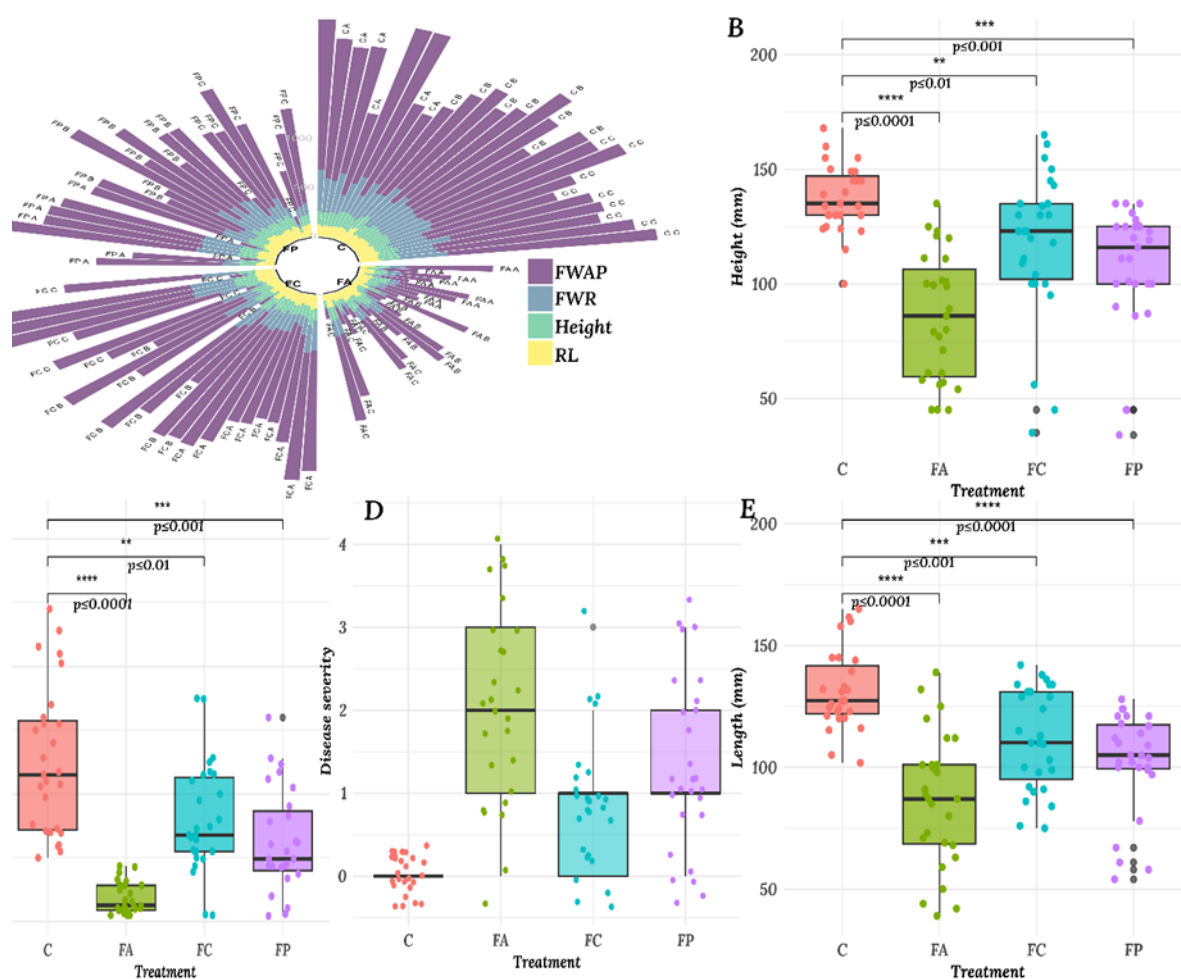
بر اساس نتایج به دست آمده، از بین ۷۹ جدایه مورد بررسی در این پژوهش، ۵۹ جدایه توانستند در حداقل دو گیاهچه علائم بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه را ایجاد کنند و به عنوان جدایه‌های بیماری‌زا شناخته شدند. بسته به قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی تعداد گیاهچه‌های بیمار در هر تیمار بین دو تا نه گیاهچه متغیر بود (جدول ۱). همچنین، تیمارهای شاهد (گیاهچه‌های تلقیح نشده یا تلقیح شده با آب مقطر استریل) هیچ علامت بیماری نشان ندادند، که این موضوع صحت و اعتبار آزمون بیماری‌زایی برای غربال جدایه‌های فوزاریوم بیمارگر از جدایه‌های غیر بیمارگر را تأیید می‌کند.

جدول ۱. نتایج آزمون بیماری‌زایی اولیه برای شناسایی جدایه‌های بیمارگر فوزاریوم از میان نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان گلستان.

کد جدایه	تعداد گیاهچه‌های تلقیح یافته	تعداد گیاهچه‌های دارای علائم بیماری	وضعیت بیماری‌زایی جدایه	کد جدایه	تعداد گیاهچه‌های تلقیح یافته	تعداد گیاهچه‌های دارای علائم بیماری	وضعیت بیماری‌زایی جدایه
کنترل (شاهد)	۹	۰	-	F6-01	۹	۵	+
F1-01	۹	۰	-	F6-02	۹	۴	+
F1-02	۹	۸	+	F6-03	۹	۰	-
F1-03	۹	۷	+	F6-04	۹	۵	+
F1-04	۹	۵	+	F6-05	۹	۳	+
F1-05	۹	۳	+	F6-06	۹	۹	+
F1-06	۹	۸	+	F6-07	۹	۲	+
F1-07	۹	۰	-	F7-01	۹	۷	+
F2-01	۹	۰	-	F7-02	۹	۲	+
F2-02	۹	۵	+	F7-03	۹	۰	-
F2-03	۹	۶	+	F8-01	۹	۸	+
F2-04	۹	۰	-	F8-02	۹	۸	+
F2-05	۹	۳	+	F8-03	۹	۰	-
F2-06	۹	۰	-	F8-04	۹	۷	+
F2-07	۹	۰	-	F8-05	۹	۴	+
F2-08	۹	۲	+	F9-01	۹	۶	+
F2-09	۹	۰	-	F9-02	۹	۰	-
F2-10	۹	۳	+	F9-03	۹	۳	+
F2-11	۹	۹	+	F9-04	۹	۳	+
F2-12	۹	۶	+	F9-05	۹	۵	+
F3-01	۹	۷	+	F9-06	۹	۹	+
F3-02	۹	۳	+	F9-07	۹	۰	-
F3-03	۹	۰	-	F9-08	۹	۰	-
F3-04	۹	۴	+	F10-01	۹	۳	+
F3-05	۹	۷	+	F10-02	۹	۲	+
F3-06	۹	۹	+	F10-03	۹	۵	+
F4-01	۹	۶	+	F10-04	۹	۴	+
F4-02	۹	۰	-	F10-05	۹	۳	+
F4-03	۹	۶	+	F10-06	۹	۹	+
F4-04	۹	۵	+	F11-01	۹	۲	+
F4-05	۹	۷	+	F11-02	۹	۰	-
F4-06	۹	۳	+	F11-03	۹	۲	+
F4-07	۹	۴	+	F11-04	۹	۶	+
F4-08	۹	۰	-	F11-05	۹	۳	+
F4-09	۹	۷	+	F11-06	۹	۹	+
F4-10	۹	۴	+	F11-07	۹	۳	+
F5-01	۹	۰	-	F11-08	۹	۹	+
F5-02	۹	۵	+	F11-09	۹	۵	+
F5-03	۹	۲	+	F11-10	۹	۰	-
F5-04	۹	۶	+	F11-11	۹	۰	-

بررسی تأثیر گونه‌های فوزاریوم بر برخی از شاخص‌های رشدی گیاه

نتایج این بررسی نشان داد که از روز هشتم پس از مایه‌زنی گیاهچه‌ها با جدایه‌های مختلف فوزاریوم ارزیابی شده در این پژوهش، نشانه‌های بیماری به وضوح در ناحیه طوقه برخی از گیاهچه‌های کلزا قابل تشخیص بود. پس از گذشت سه هفته این علائم در اکثر گیاهچه‌های مایه‌زنی شده مشاهده شدند. در این مرحله، علائم بیماری در نواحی طوقه و ریشه متمرکز بود. در تعداد معدودی گیاهچه در بخش‌های هوایی برگ‌ها و ساقه نشانه‌های بیماری مشاهده گردید. این تطابق نشان‌دهنده الگوی مشابه پیشرفت بیماری در گونه‌های مختلف گیاهی و نقش کلیدی ناحیه طوقه به عنوان نقطه آغاز آلودگی توسط قارچ فوزاریوم است (Yu et al., 2024) (شکل ۵). ارزیابی آماری نشان داد که پارامترهای دیگری مانند شدت بیماری، طول ریشه، وزن تر ریشه، ارتفاع گیاه و وزن تر بخش‌های هوایی بین نمونه‌های مایه‌زنی شده و شاهد متفاوت بود. همانطور که در شکل ۶ نشان داده شده است از میانه جدایه‌های مورد بررسی گونه جدایه *F. culmorum* کمترین شدت بیماری‌زایی را در مقایسه با *F. acuminatum* و *F. proliferatum* از خود نشان داده است. نتایج ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های مورد بررسی نشان داد که جدایه *F. acuminatum* با وجود کمترین فراوانی در بین جدایه‌های فوزاریوم جداسازی شده، بیشترین شدت بیماری را روی گیاهچه‌های کلزا ایجاد می‌کند و باعث بروز علائم بیماری در گیاهچه‌های کلزا شده و باعث مرگ گیاهچه‌ها می‌شود. در مقابل گونه‌های *F. culmorum* و *F. proliferatum* که از فراوانی بیشتری برخوردار بودند، توان بیماری‌زایی کمتری نسبت به *F. acuminatum* از خود نشان دادند. مقایسه توانایی ایجاد بیماری در گیاهچه‌های کلزا توسط جدایه‌های بیمارگر نشان داد که جدایه *F. culmorum* با وجود توانایی در بروز علائم بیماری در میان گیاهچه‌های مورد بررسی در مقایسه با دو جدایه دیگر از توانایی بیمارگری کمتری برخوردار است. به هر حال توجه به این نکته ضروری است که عوامل مختلفی مانند تعاملات هم‌افزا^۱ بین گونه‌های فوزاریومی در ایجاد بیماری (Yu et al., 2023)، شرایط محیطی مزارع گیاهان روغنی (Wu et al., 2024) و حساسیت ارقام کلزا به بیماری‌های فوزاریومی (Yu et al., 2023) از عوامل موثر بروز میزان خسارت در مزارع کلزا می‌باشند، در نتیجه شناسایی و غربالگری جدایه‌های بیمارگر برای ارزیابی ژنوتیپ‌های کلزا در برنامه‌های به‌نژادی نقش بسزایی دارد.



شکل ۶ مقایسه آماری داده‌های بدست آمده از تاثیر تیمار قارچ‌های بیمارگر روی گیاهچه‌های کلزا. A: مقایسه کلی اثرات قارچ‌های مورد مطالعه بر روی شاخص‌های طول ریشه (RL)، ارتفاع گیاهچه (Height)، وزن تر ریشه (FWR) و وزن تر اندام هوایی گیاهچه (FWAP) در تیمارهای شاهد و جدایه‌های مورد بررسی. B: اثر جدایه‌های مورد بررسی بر ارتفاع گیاهچه. C: اثر جدایه‌های مورد بررسی بر روی وزن تر اندام‌های هوایی. D: مقایسه شدت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی مورد بررسی. E: اثر جدایه‌های مورد بررسی بر روی طول ریشه گیاهچه‌های کلزا. FP: جدایه بیمارگر *Fusarium proliferatum*. FC: جدایه بیمارگر *Fusarium culmorum*. FA: جدایه بیمارگر *Fusarium acuminatum*. C: گروه شاهد.

با وجود آنکه هر سه تیمار قارچی مورد بررسی در این پژوهش، به طور معنی‌داری موجب کاهش وزن تر گیاهچه‌های کلزا نسبت به تیمار شاهد گردیدند، با این حال، جدایه *F. acuminatum* به طور چشمگیری موجب کاهش ارتفاع گیاه و طول ریشه در مقایسه با تیمار شاهد و سایر جدایه‌ها گردید. همچنین، نتایج آماری نشان داد که جدایه *F. acuminatum* در مقایسه با دو جدایه دیگر و همچنین تیمار شاهد به صورت موثری قادر به کاهش وزن تر ریشه در گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با این جدایه‌ها می‌باشد. براساس آنالیزهای انجام شده در این پژوهش به نظر می‌رسد که دو جدایه *F. acuminatum* و *F. proliferatum* در مقایسه با *F. culmorum* از توانایی بالاتری برای کاهش تولید زیست‌توده در گیاهچه‌های تیمار شده برخوردارند، چرا که این دو جدایه شاخص‌های مورد بررسی در این پژوهش شامل ارتفاع گیاهچه، وزن تر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی و طول ریشه را به میزان بالاتری در مقایسه با جدایه دیگر کاهش داده بودند.

بنابراین هنگامی که فراوانی این دو جدایه بیمارگر در مزارع کلزا بیشتر از جدایه‌های غیربیمارگر فوزاریومی باشد به دلیل تعاملات هم‌افزا که می‌توانند با سایر عوامل بیمارگر فوزاریومی از خود نشان دهند، باعث ایجاد خسارت‌های اقتصادی بالاتر در مزارع کلزا شوند. در تایید این فرضیه تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد هنگامی که گیاهان کلزا با جدایه‌های *F. oxysporum*

و *F. proliferatum* به صورت همزمان مایه‌زنی می‌شوند شدت پوسیدگی ریشه و طوقه در این تیمارها در مقایسه با حالتی که هر کدام از جدایه‌ها به صورت منفرد برای مایه‌زنی مورد استفاده قرار گرفتند به دلیل اثرات بیمارگری هم‌افزار به صورت چشمگیری افزایش می‌یابد (Yu et al., 2023). بنابراین توجه به اثرات بین گونه‌ای در جنس فوزاریوم برای مدیریت این بیماری در مزارع کلزا می‌تواند اثر بخش باشد (Yu et al., 2023).

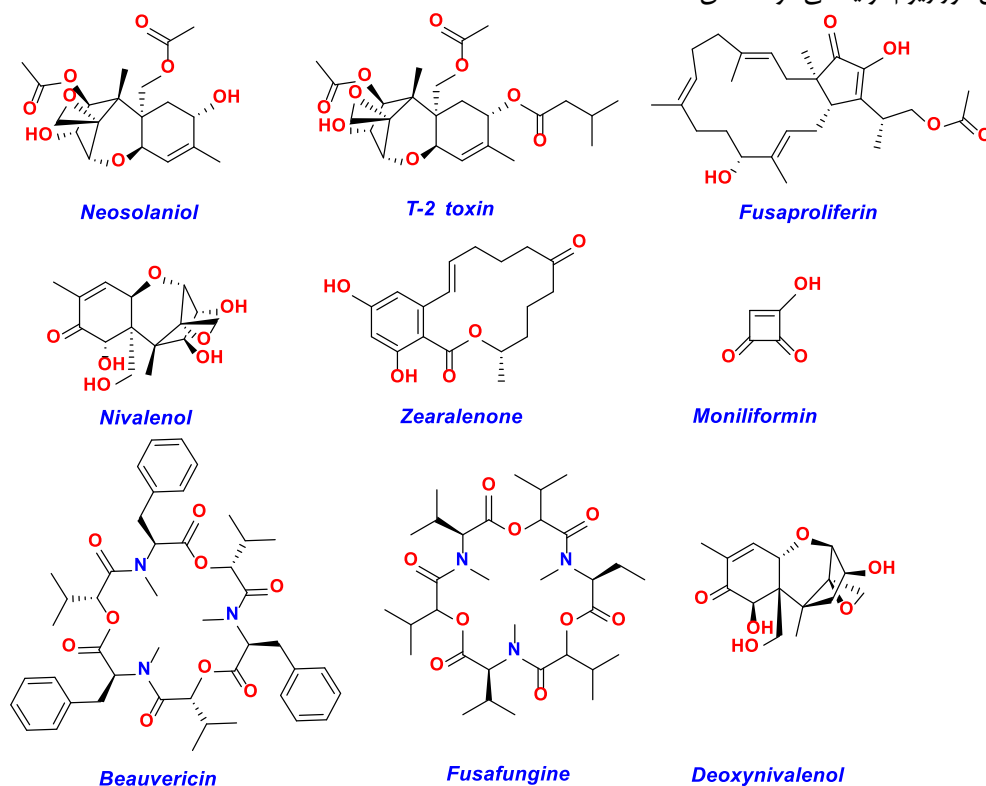
بحث

تحقیقات نشان داده است که مدیریت بیماری‌های طوقه و ریشه در مزارع کلزا از راهکارهای کلیدی کاهش خسارت اقتصادی این عوامل بیمارگر و افزایش عملکرد محصول این گیاه روغنی است (Yu et al., 2024). از طرف دیگر، جدایه‌های جنس فوزاریوم یکی از عوامل تولید کننده مایکوتوکسین‌های بیماری‌زا مانند تری کوتسین‌ها، فومونیزین‌ها^۲ و زئارالون^۳ هستند که در سراسر جهان مشاهده شده‌اند (Rasouli, et al., 2022; Ferrigo et al., 2016). جدایه‌ی *F. proliferatum* به عنوان عامل بیمارگر مولد مایکوتوکسین‌های مخرب نوظهور شناخته شده است که توانایی تولید نوع خاصی از توکسین‌های قارچی نوظهور به نام فوزاپرولیفرین^۴ را دارد (Ferrigo et al., 2016). مستندات علمی همچنین نشان داده است که جدایه‌ی *F. culmorum* همراه با گونه *F. graminearum* قادر است مایکوتوکسین‌های نوع B تری کوتسین را تولید کند. نوع B تری کوتسین‌ها (مانند نیوالنول^۵ و تری کوتسین) از لحاظ ساختار شیمیایی با نوع A تری کوتسین‌ها (مانند توکسین T-2 و نئوسولانیول^۶) که توسط جدایه‌های *F. langsethiae*، *F. equiseti*، *F. poae* و *F. sporotrichoides* تولید می‌شود، متفاوت هستند و سمیت کمتری از خود نشان داده‌اند (Ferrigo et al., 2016; Bakan et al., 2002). با توجه به تغییرات اقلیمی در حال وقوع این مایکوتوکسین‌ها را نیز بایستی به عنوان عوامل سمی تهدید کننده سلامت انسان و دام در نظر گرفت، چرا که در غلظت‌های بالاتر از آستانه مجاز حضور این مایکوتوکسین‌ها در خوراک دام و مواد غذایی احتمال مشاهده اثرات التهابی، مسمومیت و سایر عوارض بالینی وجود دارد (Döll and Dänicke, 2011; Durant et al., 2025; Ferrigo et al., 2016; McCormick et al., 2011; Oldenburg et al., 2017; Rasouli, et al., 2022; Wu, 2007). از آنجا که قارچ‌های جنس فوزاریوم با ایجاد بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه به عنوان یکی از عوامل مخرب و تاثیرگذار کاهش عملکرد کلزا در مناطق مختلف جهان، از جمله ایران، محسوب می‌شود (Mirderikvand et al., 2021; Yu et al., 2024)، شناسایی هدفمند و دقیق این گونه‌ها می‌تواند در مدیریت آینده‌نگر و نوآورانه این عوامل بیمارگر در مزارع کلزا کمک شایانی نماید.

با توجه به گزارش‌های متعددی که از احتمال آلودگی دانه‌های روغنی با توکسین‌های فوزاریومی در سال‌های اخیر منتشر شده است (Durant et al., 2025; Pavichich, et al., 2025; Mankeviciene, et al., 2011)، شناسایی گونه‌های مولد این توکسین‌ها می‌تواند زمینه‌ساز کنترل بهتر این جدایه‌های در مزارع زیر کشت کلزا حساس به این عوامل بیمارگر قارچی باشد. اهمیت موضوع در این است که علاوه بر مایکوتوکسین‌های شناخته شده، توکسین‌های قارچی نوظهور مانند فوزاپرولیفرین و انیاتین‌ها^۷ که به تازگی شناخته شده‌اند و اطلاعات کافی در رابطه با سمیت غذایی و آستانه مجاز آنها در محصولات غذایی و خوراک دام و طیور وجود ندارد، به عنوان یکی از عوامل تهدید کننده امنیت غذایی در جهان به شمار می‌روند (Ekwomadu

1. Trichothecenes
2. Fumonisin
3. Zearalenone
4. Fusaproliferin
5. Nivalenol
6. Neosolaniol
7. Enniatins

et al., 2021). در شکل ۷ ساختار شیمیایی برخی از مایکوتوکسین‌های مخرب شناخته شده و نوظهور که توسط جدایه‌های مختلف جنس فوزاریوم تولید می‌شوند نشان داده شده است.



شکل ۷. مثال‌هایی از مایکوتوکسین‌های شناخته شده و نوظهور تولید شده توسط جدایه‌های جنس فوزاریوم. این ترکیبات برای انسان و دام به شدت سمی هستند و در صورتی که در طولانی مدت وارد بدن شوند باعث سرکوب سیستم ایمنی، آسیب به دستگاه گوارش و سرطان‌زایی و جهش‌زایی ژنتیکی می‌گردند (ساختار شیمیایی ترکیبات نشان داده شده در این شکل براساس اطلاعات شیمیایی موجود در سایت PubChem ترسیم گردیده است).

اتخاذ رویکردهای تلفیقی مبتنی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی دقت و صحت تشخیص این جدایه‌ها را به صورت چشمگیری افزایش می‌دهد، که می‌تواند برای مدیریت کاربردی استفاده از قارچ‌کش‌ها و کاهش باقیمانده شیمیایی عوامل قارچ‌کش در محصولات زراعی میزبان نقش کلیدی داشته باشد (Naqvi et al., 2025; de Chaves et al., 2022). سه جدایه بیمارگر شناسایی شده در این پژوهش شامل *F. culmorum*، *F. proliferatum* و *F. acuminatum* با سطوح متفاوت بیماری‌زایی، از برخی مزارع کلزا استان گلستان، نشان دهنده‌ی دامنه پراکندگی گسترده این عوامل بیمارگر قارچی است که پتانسیل تولید مایکوتوکسین‌های شناخته شده و نوظهور را دارند. شناسایی جدایه‌های قارچی بر پایه ویژگی‌های ریخت‌شناختی و تأیید مولکولی با استفاده از توالی‌یابی ناحیه‌های ژنی ITS و *TEF-1α* صورت پذیرفت. این رویکرد ترکیبی، دقت و قابلیت اطمینان تشخیص گونه‌ها را به میزان قابل توجهی افزایش داد. نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که سه گونه *F. acuminatum*، *F. proliferatum* و *F. culmorum* با سطوح متفاوت بیماری‌زایی، از عوامل اصلی پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در مناطق نمونه برداری شده استان گلستان در این مطالعه هستند. تطابق ویژگی‌های ریخت‌شناختی (از جمله ساختار ماکروکنیدیوم‌ها و کلامیدوسپورها) با کلیدهای معتبر (Leslie & Summerell, 2006) و تأیید مولکولی، صحت تشخیص را در این مطالعه تقویت نمود. مقایسه نتایج این مطالعه با سایر یافته‌های پژوهشی در جهان نشان داد که این یافته‌ها با گزارش‌های بین‌المللی در خصوص پرازایی بالاتر برخی گونه‌های با فراوانی کمتر هم‌خوانی دارد (Yu et al., 2024; Ferrigo et al., 2016).

همسو با نتایج این پژوهش، یافته‌های بین‌المللی نشان می‌دهد که گونه *F. acuminatum* به عنوان یکی از عوامل اصلی پوسیدگی ریشه کلزا در استرالیا شناسایی شده است و اثرات بیماری‌گری آن در مزارع کلزا در این کشور گزارش گردیده است (Li et al., 2007). همچنین، در ایالات متحده آمریکا، این گونه همراه با چندین گونه دیگر از جمله *F. oxysporum* Schlecht. و *B. carinata* Snyder & Hansen (2007) و *F. sporotrichioides* Sherb. emend. Sacc و *F. solani* (Mart.) Sacc از گیاهچه‌های آلوده جداسازی و بیماری‌زایی آن‌ها روی چندین رقم کلزا گزارش شده است (Okello et al., 2018).

گونه *F. culmorum* که پیشتر به عنوان عامل اصلی پوسیدگی ریشه کلزا در استان لرستان گزارش شده بود (Mirderikvand et al., 2021)، در این مطالعه نیز با شدت کمتر باعث ایجاد علائم بیماری در گیاهچه‌های مورد مطالعه کلزا گردید. توانایی این گونه در ایجاد بیماری در طیف وسیعی از میزبان‌ها مانند گندم و جو (Wagacha & Muthomi, 2008)، گویای پتانسیل سازگاری بالا و توانایی ایجاد بیماری در شرایط محیطی متنوع است (Cuzick et al., 2009). همچنین، گونه *F. proliferatum* نیز که از جمله گونه‌های با دامنه میزبانی بسیار وسیع محسوب می‌شود، در این مطالعه مورد شناسایی قرار گرفت. این قارچ از میزبان‌های متعددی از جمله ذرت، برنج، پیاز و گیاهان تزئینی مانند میخک در ایران و جهان گزارش شده است (Alizadeh et al., 2010; Basallote-Ureba et al., 2016; Yan et al., 2020). گزارش‌ها حاکی از آن است که آلودگی همزمان *F. oxysporum* و *F. proliferatum* می‌تواند منجر به تشدید علائم بیماری به صورت هم‌افزایی شده و خسارت قابل توجهی را موجب گردد (Yu et al., 2023).

در پژوهشی در دانشگاه آلبرتا توان بیماری‌زایی *F. proliferatum* در گیاهان مختلف شامل گندم، جو، باقلا، نخود، عدس، کلزا و سویا بررسی شده است و یافته‌ها نشان داده است که اگرچه همه محصولات مورد بررسی تا حدودی نسبت به عامل بیمارگر حساس بودند، اما گیاهان کلزا و سویا بیشترین حساسیت را به این قارچ بیمارگر از خود نشان دادند و شاخص‌های رشدی آن‌ها به طور قابل توجهی تحت تأثیر حمله این قارچ بیمارگر قرار گرفت (Yu et al., 2024). این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر همسو است، زیرا در هر دو مطالعه، شاخص‌های رشدی گیاهان تا حد زیادی تحت تأثیر *F. proliferatum* قرار گرفته‌اند. به طور کلی، گونه‌های شناسایی شده در این پژوهش، از جمله رایج‌ترین عوامل پوسیدگی ریشه کلزا در ایران و جهان هستند و با نتایج حاصل از پژوهش‌ها بر روی پوسیدگی ریشه کلزا در کانادا، اسپانیا و ایران همخوانی دارد (Chen et al. 2014; Mirderikvand et al. 2021; Li et al., 2007; Nemat Mondanipour et al., 2021).

با این حال، باید خاطرنشان کرد که ترکیب جمعیتی عوامل بیماری‌زای *Fusarium* می‌تواند تحت تأثیر شرایط اقلیمی، رقم کشت‌شده و تنوع ژنتیکی بیمارگر، در مناطق مختلف متفاوت باشد. به عنوان مثال، در مطالعه اخیر در لرستان (Mirderikvand et al. 2021)، علاوه بر گونه‌های فوق، گونه‌های دیگری از جمله *F. sambucinum*، *F. oxysporum* و *F. diversisporum* و *F. solani* نیز به عنوان عوامل بیماری‌زای مرتبط با پوسیدگی ریشه کلزا گزارش شده‌اند. این تنوع، لزوم شناسایی دقیق عوامل بیماری‌زای غالب در هر منطقه را به عنوان پیش‌نیازی ضروری برای تدوین راهکارهای مدیریتی هدفمند و موفق در سیستم‌های کشاورزی پایدار را برجسته می‌سازد (Yu et al. 2024). نتایج این پژوهش نه تنها درک بهتری از ویژگی‌های بوم‌شناختی و ترکیب جمعیتی بیمارگرهای فوزاریومی در برخی مناطق اختصاص یافته به کشت کلزا در استان گلستان را ارائه می‌دهد، بلکه بر اهمیت مدیریت اختصاصی و منطقه‌ای این بیماری‌ها با رویکرد شناسایی جدایه‌های بیمارگر فوزاریوم برای مدیریت بیماری‌های پوسیدگی طوقه و ریشه کلزا تأکید می‌ورزد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، تعداد ۵۹ جدایه بیماری‌زای جنس *Fusarium* از مزارع کلزای برخی مناطق استان گلستان شناسایی شدند که متعلق به سه گونه *F. culmorum*، *F. proliferatum* و *F. acuminatum* به ترتیب با فراوانی ۴۷، ۴۲ و ۱۱ درصد بودند. با

توجه به اطلاعات در دسترس پژوهشگران تحقیق حاضر نخستین گزارش بیماری‌زایی این سه گونه *Fusarium* در مزارع کلزای استان گلستان است. این جدایه‌ها توانایی ایجاد علائم پوسیدگی ریشه و طوقه در گیاهچه‌های کلزا را داشتند، اما شدت بیماری‌زایی آن‌ها متفاوت بود.

در این پژوهش جدایه *F. acuminatum* با وجود کمترین فراوانی، بیشترین شدت بیماری و تأثیر منفی بر رشد گیاه را موجب شد، در حالی که *F. culmorum* و *F. proliferatum* شدت بیماری‌زایی کمتری داشتند. این یافته‌ها اهمیت توجه به گونه‌های دارای فراوانی محدود اما با پتانسیل بیماری‌زایی بالا را در مدیریت بیماری‌های قارچی مزارع کلزا برجسته می‌سازد. افزون بر این، نقش کلیدی ناحیه طوقه به عنوان نقطه آغاز عفونت و تأثیر معنادار بر شاخص‌های رشدی گیاه، پیامدهای اقتصادی و زیستی قابل توجهی را برای تولید کلزا یادآور می‌شود. پیشرفت بیماری و تأثیرات آن بر رشد و توسعه گیاه در این مطالعه با یافته‌های پژوهش‌های مشابه جهانی همسو بوده و نشان‌دهنده ضرورت اتخاذ رویکردهای تلفیقی در کنترل این بیماری‌ها است. انجام مطالعات گسترده مولکولی و مزرعه‌ای برای شناسایی جدایه‌های بیمارگر دیگر جنس فوزاریوم در مزارع کلزا به منظور مدیریت هدفمند این مزارع برای افزایش عملکرد و پیش‌بینی تعاملات هم‌افزا بین جدایه‌های بیمارگر در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی و دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی برای فراهم کردن زمینه انجام تحقیق کمال تشکر را به عمل می‌آورند. همچنین، از سرکار خانم دکتر سیمین طاهری اردستانی بابت پشتیبانی و همکاری در انجام مراحل آزمایشگاهی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود. پژوهش حاضر بخشی از یافته‌های تحقیقاتی رساله دکتری نویسنده اول این مقاله است.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع برای انتشار این مقاله بین نویسندگان وجود ندارد.

منابع

- شهناوی، علی. (۱۴۰۰). بررسی کارایی تولید کلزا در ایران. *پژوهش‌های کاربردی زراعی*، ۳۴ (۲)، ۵۵ - ۷۴.
- لرکی، زهرا و فرخ‌نژاد، رضا. (۱۳۹۴). شناسایی گونه‌های *Fusarium* همراه با علائم پوسیدگی ریشه و طوقه کلزا در استان خوزستان. *مجله دنیای میکروب‌ها*، ۱ (۲)، ۱۶۸ - ۱۷۲.
- میر دریگوند، مریم و درویش‌نیا، مصطفی و پاکباز، سمیرا. (۱۴۰۰). معرفی گونه‌های *Fusarium* همراه با پوسیدگی طوقه و ریشه کلزا در استان لرستان. *علوم بیماری‌های گیاهی*، ۱۰ (۱)، ۶۴ - ۷۵.
- نصر اصفهانی، مهدی،، صنعی‌راد، آزاده و نصرالهی، نرگس. (۱۳۸۸). شناسایی برخی عوامل بیماری‌زای قارچی ریشه و طوقه گیاه و کلزا در اصفهان. *فصلنامه گیاه‌پزشکی*، ۱ (۲)، ۲۱۲ - ۲۲۷.
- نعمتی‌مندانی‌پور، عذرا، فرخ‌نژاد، رضا و مهربابی‌کوشکی، مهدی. (۱۴۰۰). شناسایی گونه‌های *Fusarium* مرتبط با علائم پوسیدگی ریشه کلزا در استان خوزستان. *مجله پژوهش‌های کاربردی در حفاظت گیاه*، ۱۰ (۱)، ۲۹ - ۴۳.

REFERENCES

- Adam, M. A. A., Tabana, Y. M., Musa, K. B., & Sandai, D. A. (2017). Effects of different mycotoxins on humans, cell genome and their involvement in cancer. *Oncology Reports*, 37(3), 1321-1336. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5424>
- Agrios, George N. (2024). *Agrios' Plant Pathology*. 6th Edition, Academic Press.
- Alizadeh, A., Javan-Nikkhah, M., Salehi Jozani, G. R., Fotouhifar, K., Roodbar Shojaei, T., Rahjoo, V., & Taherkhani, K. (2017). AFLP, pathogenicity and mating type analysis of Iranian *Fusarium proliferatum* isolates recovered from maize, rice, sugarcane and onion. *Mycologia iranica*, 4(1), 13-28. <https://doi.org/10.22043/MI.2017.115180>.
- Bakan, B., Giraud-Delville, C., Pinson, L., Richard-Molard, D., Fournier, E., & Brygoo, Y. (2002). Identification by PCR of *Fusarium culmorum* strains producing large and small amounts of deoxynivalenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), 5472-5479. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.11.5472-5479.2002>
- Basallote-Ureba, M. J., Vela-Delgado, M. D., Capote, N., Melero-Vara, J. M., López-Herrera, C. J., Prados-Ligero, A. M., & Talavera-Rubia, M. F. (2016). Control of *Fusarium* wilt of carnation using organic amendments combined with soil solarization, and report of associated *Fusarium* species in southern Spain. *Crop Protection*, 89, 184-192. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.013>.
- Bishop, C., & Cooper, R. M. (1983). An ultrastructural study of vascular colonization in three vascular wilt diseases I. Colonization of susceptible cultivars. *Physiological Plant Pathology*, 23(3), 323-343. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(83\)90018-8](https://doi.org/10.1016/0048-4059(83)90018-8)
- Bodah, E. T. (2017). Root rot diseases in plants: A review of common causal agents and management strategies. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*, 5, 555661. <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2017.04.555661>
- Calman, A. I. (1992). Canola seedling blight in Alberta: Pathogens, involvement of *Pythium* spp. and biological control of *Rhizoctonia solani* (Master's thesis, University of Alberta, Edmonton, Canada). <https://doi.org/10.7939/R3K64B166>.
- Chen, Y., Zhou, Q., Strelkov, S. E., & Hwang, S.-F. (2014). Genetic diversity and aggressiveness of *Fusarium* spp. isolated from canola in Alberta, Canada. *Plant Disease*, 98(6), 727-738. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-13-0061-RE>.
- Cuzick, A. M., Maguire, K., & Hammond-Kosack, K. (2009). Lack of the plant signalling component SGT1b enhances disease resistance to *Fusarium culmorum* in *Arabidopsis* buds and flowers. *New Phytologist*, 181(4), 901-912. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02712.x>
- de Chaves, M. A., Reginatto, P., da Costa, B. S., de Paschoal, R. I., Teixeira, M. L., & Fuentefria, A. M. (2022). Fungicide resistance in *Fusarium graminearum* species complex. *Current Microbiology*, 79(2), 62. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02759-4>
- Djalali Farahani-Kofoet, R., Witzel, K., Graefe, J., Grosch, R., & Zrenner, R. (2020). Species-specific impact of *Fusarium* infection on the root and shoot characteristics of asparagus. *Pathogens*, 9(6), 509. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060509>.
- Döll, S., & Dänicke, S. (2011). The *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) in animal feeding. *Preventive veterinary medicine*, 102(2), 132-145. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.04.008>
- Durant, A., Pinton, P., Puel, O., & Oswald, I. P. (2025). Mycotoxins in oilseeds and vegetable edible oils: an overview of toxicity, occurrence and exposure. *OCL*, 32, 19. <https://doi.org/10.1051/ocl/2025014>
- Ekwomadu, T. I., S. A. Akinola and M. Mwanza (2021). *Fusarium* mycotoxins, their metabolites (free, emerging, and masked), food safety concerns, and health impacts. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18(22): 11741. <https://doi.org/10.3390/ijerph182211741>.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>

- Ferrigo, D., Raiola, A., & Causin, R. (2016). Fusarium toxins in cereals: Occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules*, 21(5), 627. <https://doi.org/10.3390/molecules21050627>
- Gelderblom, W. C. A., Kriek, N. P. J., Marasas, W. F. O., & Thiel, P. G. (1991). Toxicity and carcinogenicity of the Fusarium moniliforme metabolite, fumonisin B1, in rats. *Carcinogenesis*, 12(7), 1247–1251. <https://doi.org/10.1093/carcin/12.7.1247>.
- Greeff-Laubscher, M. R., Beukes, I., Marais, G. J., & Jacobs, K. (2020). Mycotoxin production by three different toxigenic fungi genera on formulated abalone feed and the effect of an aquatic environment on fumonisins. *Mycology*, 11(2), 105–117. <https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1604575>.
- Ha, M. S., Ryu, H., Ju, H. J., & Choi, H.-W. (2023). Diversity and pathogenic characteristics of the Fusarium species isolated from minor legumes in Korea. *Scientific Reports*, 13(1), 22516. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49736-4>.
- Huisman, O. C. (1982). Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root-invading fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 20, 303–327. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.20.090182.001511>.
- Jangir, P., Mehra, N., Sharma, K., Singh, N., Rani, M., & Kapoor, R. (2021). Secreted in xylem genes: Drivers of host adaptation in Fusarium oxysporum. *Frontiers in Plant Science*, 12, 628611. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.628611>.
- Kachuei, R., Mohammad Hossein, Y., Sasan, R., Abdolamir, A., Naser, S., Farideh, Z., & Fatemeh, K. Y. (2009). Investigation of stored wheat mycoflora, reporting the Fusarium cf. langsethiae in three provinces of Iran during 2007. *Annals of Microbiology*, 59, 383–390. <https://doi.org/10.1007/BF03178344>
- Koch, E., Song, K., Osborn, T. C., & Williams, P. H. (1991). Relationship between pathogenicity and phylogeny based on restriction fragment length polymorphism in Leptosphaeria maculans. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 4(5), 341–349. <https://doi.org/10.1094/MPMI-4-341>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.
- Larki, Z., & Farrokhinejad, R. (2015). Identification of Fusarium species associated with root and collar rot of canola in Khuzestan province [In Persian]. *Journal of Microbial World*, 8(2), 168–172.
- Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 282–287). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50038-x>.
- Lemmens, M., Steiner, B., Sulyok, M., Nicholson, P., Mesterházy, Á., & Buerstmayr, H. (2016). Masked mycotoxins: Does breeding for enhanced Fusarium head blight resistance result in more deoxynivalenol-3-glucoside in new wheat varieties? *World Mycotoxin Journal*, 9(5), 741–754. <https://doi.org/10.3920/WMJ2015.2029>.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>.
- Li, M., Murray, G. M., & Ash, G. J. (2007). New root diseases of canola in Australia. *Australasian Plant Disease Notes*, 2, 93–94. <https://doi.org/10.1071/DN07038>.
- Li, Y., Ali, U., Cao, Z., Zeng, C., Xiao, M., Wei, F., Yao, X., Guo, L., & Lu, S. (2022). Fatty acid exporter 1 enhances seed oil content in Brassica napus. *Molecular Breeding*, 42(12), 75. <https://doi.org/10.1007/s11032-022-01346-0>.
- Mahato, D. K., Devi, S., Pandhi, S., Sharma, B., Maurya, K. K., Mishra, S., Dhawan, K., Selvakumar, R., Kamle, M., & Mishra, A. K. (2021). Occurrence, impact on agriculture, human health, and management strategies of zearalenone in food and feed: A review. *Toxins*, 13(2), 92.

- <https://doi.org/10.3390/toxins13020092>.
- Mankeviciene, A., Suproniene, S., Brazauskiene, I., & Gruzdeviene, E. (2011). Natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins in oil crop seed. *Plant Breeding and Seed Science*, 63, 109-116. [10.2478/v10129-011-0022-1](https://doi.org/10.2478/v10129-011-0022-1)
- McCormick, S. P., Stanley, A. M., Stover, N. A., & Alexander, N. J. (2011). Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. *Toxins*, 3(7), 802-814. <https://doi.org/10.3390/toxins3070802>
- McCreight, J. D., Matheron, M. E., Tickes, B. R., & Platts, B. (2005). *Fusarium* wilt race 1 on lettuce. *HortScience*, 40(3), 529-531. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.3.529>.
- Mirderikvand, M., Darvishnia, M., Bazgir, E., & Pakbaz, S. (2021). Introduction of *Fusarium* species associated with crown and root of canola in Lorestan Province [In Persian]. *Plant Pathology Science*, 10(1), 64-75. <https://doi.org/10.2982/PPS.10.1.64>.
- Morauf, C., & Steinkellner, S. (2015). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and compost affect tomato root morphology. *European Journal of Plant Pathology*, 143(2), 385-398. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0691-y>
- Nada, S., Nikola, T., Bozidar, U., Ilija, D., & Andreja, R. (2022). Prevention and practical strategies to control mycotoxins in the wheat and maize chain. *Food Control*, 136, 108855. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108855>.
- Naqvi, S. A. H., Farhan, M., Ahmad, M., Kiran, R., Shahbaz, M., Abbas, A., ... & Sathiya Seelan, J. S. (2025). Fungicide resistance in *Fusarium* species: exploring environmental impacts and sustainable management strategies. *Archives of Microbiology*, 207(2), 31. <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04219-6>
- Nasrifsahani, M., Sanieirad, A., & Nasrollahi, N. (2009). Identification of *Fusarium* species associated with root rot symptoms of wheat and canola in northern Iran [In Persian]. *Journal of Plant Protection Research*, 49(2), 103-110.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press.
- Nemati Mondani Pour, O., Farokhinejad, R., & Mehrabi-Koushki, M. (2021). Identification of *Fusarium* species associated with root rot symptoms of the rapeseed in Khuzestan province. [In Persian]. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 10(1), 29-43. <https://doi.org/10.22034/ARPP.2021.12465>.
- Nicholson, P., Simpson, D. R., Weston, G., Rezanoor, H. N., Lees, A. K., Parry, D. W., & Joyce, D. (1998). Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 53(1), 17-37. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1998.0170>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(6), 2044-2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>
- Oldenburg, E., Höppner, F., Ellner, F., & Weinert, J. (2017). *Fusarium* diseases of maize associated with mycotoxin contamination of agricultural products intended to be used for food and feed. *Mycotoxin research*, 33(3), 167-182. <https://doi.org/10.1007/s12550-017-0277-y>
- Okello, P. N., Petrović, K., Kontz, B., Ali, S., Marek, L. F., & Mathew, F. M. (2018). Root rot caused by species of *Fusarium* on *Brassica carinata* in South Dakota. *Plant Health Progress*, 19, 188-192. <https://doi.org/10.1094/PHP-04-18-0012-RS>
- Pasquali, M., Beyer, M., Logrieco, A., Audenaert, K., Balmas, V., Basler, R., Boutigny, A.-L., Chrpova, J., Czembor, E., & Gagkaeva, T. (2016). A European database of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* trichothecene genotypes. *Frontiers in Microbiology*, 7, 406. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00406>.
- Pavicich, M. A., De Boevre, M., & De Saeger, S. (2025). Hidden mycotoxin risks in the shift toward plant-based diets. *Current Opinion in Food Science*, 101331.

- <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2025.101331>
- Pastuszek, J., Szczerba, A., Dziurka, M., Hornyák, M., Kopeć, P., Szklarczyk, M., & Płazek, A. (2021). Physiological and Biochemical Response to *Fusarium culmorum* Infection in Three Durum Wheat Genotypes at Seedling and Full Anthesis Stage. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7433. <https://doi.org/10.3390/ijms22147433>.
- Pestka, J. J., & Smolinski, A. T. (2005). Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 8(1), 39–69. <https://doi.org/10.1080/10937400590889458>.
- Pikulicka, A., & Barabas, W. (2024). Threat to human and animal health caused by mycotoxins and masked mycotoxins occurring in food and feed. *Medicine*, 2(4), 178. <https://doi.org/10.61927/igmin162>.
- Qu, Z., Ren, X., Du, Z., Hou, J., Li, Y., Yao, Y., & An, Y. (2024). Fusarium mycotoxins: The major food contaminants. *mLife*, 3, e12112. <https://doi.org/10.1002/mlf2.12112>.
- Rasouli, H., Nayeri, F. D., & Khodarahmi, R. (2022). May phytophenolics alleviate aflatoxins-induced health challenges? A holistic insight on current landscape and future prospects. *Frontiers in nutrition*, 9, 981984. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.981984>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Savatin, D. V., Gramegna, G., Modesti, V., & Cervone, F. (2014). Wounding in the plant tissue: The defense of a dangerous passage. *Frontiers in Plant Science*, 5, 470. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00470>.
- SekhaviFar, S., Rahemi Karizaki, A., Nakhzari Moghaddam, A., & Mollashahi, M. (2020). Identification of rapeseed limiting factors using performance comparison analysis. *Journal of Crops Improvement*, 22(1), 13–25. <https://doi.org/10.22059/jci.2019.280944.2212>.
- Shahnavazi, A. (2021). Evaluation of rapeseed production efficiency in Iran [In Persian]. *Applied Field Crops Research*, 34(2), 55–74. <https://doi.org/10.22092/AJ.2021.127366.1422>
- Shabeer, S., Tahira, R., & Jamal, A. (2021). Fusarium spp. mycotoxin production, diseases and their management: An overview. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 34(2), 278. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjar/2021/34.2.278.293>
- Starzycki, M.; Starzycka, E.; Pszczola, J.; Solecka, D. (2007) Evaluation of Chosen Winter Rapeseed Genotypes Resistance to Fusarium spp. Using in Vitro Methods. *Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress*, pp. 165–166. Wuhan, China, 26–30 March 2007; Science Press USA Inc
- Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30), 11030–11035. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404206101>.
- Wagacha, J. M., & Muthomi, J. W. (2008). Fusarium culmorum: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 27(3-5), 572–577. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.09.003>.
- Wang, Q. & S. Gottwald (2017). "Wheat root-dip inoculation with Fusarium graminearum and assessment of root rot disease severity. *Bio-protocol* 7(6): e2189-e2189. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2189>
- Wang, L., Yang, J., Jia, R., Chen, Z., Wang, N., Wu, J., Chen, F., Zhang, Y., & Lin, K. (2024). Infection process of Alfalfa root rot caused by Fusarium acuminatum. *Agronomy*, 14(9), 2157. <https://doi.org/10.3390/agronomy14092157>.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press.

- Wu, Felicia. Measuring the economic impacts of Fusarium toxins in animal feeds. *Animal Feed Science and Technology* 137.3-4 (2007): 363-374. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.010>
- Wu, L., Hwang, S. F., Strelkov, S. E., Fredua-Agyeman, R., Oh, S. H., Bélanger, R. R., ... & Kim, Y. M. (2024). Pathogenicity, host resistance, and genetic diversity of Fusarium species under controlled conditions from soybean in Canada. *Journal of Fungi*, 10(5), 303. <https://doi.org/10.3390/jof10050303>
- Xu, Q., J. Wang, D. Wang, X. Lv, L. Fu, P. He, D. Mei, H. Chen & F. Wei (2025). Comprehensive physicochemical indicators analysis and quality evaluation model construction for the post-harvest ripening rapeseeds. *Food Chemistry* 463: 141331. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141331>.
- Yan L. (2020). First report of vascular wilt caused by Fusarium proliferatum on cauliflower in China. *Plant Disease*, 104(11), 3065. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-0995-PDN>.
- Yazar, S. & G. Z. Omurtag (2008). Fumonisin, trichothecenes and zearalenone in cereals. *International Journal of Molecular Sciences* 9(11): 2062-2090. <https://doi.org/10.3390/ijms9112062>.
- Yu, H., Chang, K. F., Hwang, S. F., & Strelkov, S. E. (2023). Characterization of the virulence and yield impact of Fusarium species on canola (Brassica napus). *Plants*, 12(17), 3020. <https://doi.org/10.3390/ijms25116244>
- Yu, H., K.-F. Chang, R. Fredua-Agyeman, S.-F. Hwang & S. E. Strelkov (2024). Diversity and Pathogenicity of Fusarium Root Rot Fungi from Canola (Brassica napus) in Alberta, Canada. *International Journal of Molecular Sciences* 25(11): 6244. <https://doi.org/10.3390/ijms25116244>.
- Yu H., Hwang S.-F. & Strelkov S.E. (2024). The host range of Fusarium proliferatum in Western Canada. *Pathogens*, 13(5), 407. <https://doi.org/10.3390/pathogens13050407>.
- Zheng, Q. & K. Liu (2022). Worldwide rapeseed (Brassica napus L.) research: A bibliometric analysis during 2011–2021. *Oil Crop Science* 7(4): 157-165. <https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2022.11.004>.
- Zhou, Q., Chen, Y., Yang, Y., Ahmed, H. U., Hwang, S.-F., & Strelkov, S. E. (2014). Effect of inoculum density and quantitative PCR-based detection of Rhizoctonia solani AG-2-1 and Fusarium avenaceum on canola. *Crop Protection* 59: 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.01.015>.