مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۰، شماره ۲، پاییز وزمستان ۱۴۰۰
صفحه ۲۶۵-۲۵۳

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1

DOR:20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 2
2022

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

شناسایی مولکولی گونه‌های *Fusarium* همراه چمن و برخی درختان در فضای سبز اردبیل

Molecular identification of *Fusarium* species associated with turfgrass and some trees in Ardabil greenspace

مینا بیگ‌زاده[۱]، مهدی داوری*[۲] و نعمت هدایت اوریق[۳]

Mina Beigzadeh[1], Mahdi Davari[2] and Nemat Hedayat-Evrigh[3]

۱- دانشجوی بیماری‌شناسی گیاهی، ۲- دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

۳- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

1. Plant Pathology Student, 2. Associate Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. Associate Professor of Animal Sciences, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

*Corresponding Author, Email: * نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:
Mdavari@uma.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۹)

چکیده

در بین بیماری‌های مختلفی که گیاهان فضای سبز را تهدید می‌کنند، جنس *Fusarium* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به اینکه روش‌های ریخت‌شناختی در مورد *Fusarium* علاوه بر زمان‌بر بودن و نیاز به تخصص بالا، به‌تنهایی قادر به شناسایی دقیق و قابل اعتماد نیستند، استفاده از آغازگرهای اختصاصی روشی سریع، مقرون به‌صرفه و بدون نیاز به توالی‌یابی است که می‌تواند در شناسایی جنس و گونه *Fusarium* به‌راحتی مورد استفاده قرار گیرد. در این پژوهش، با توجه به‌ضرورت تایید مولکولی گونه‌های فوزاریوم همراه با زوال درختان زبان گنجشک، اقاقیا، صنوبر و زردی چمن در فضای سبز اردبیل، علاوه بر راست‌آزمایی دوباره آغازگرهای اختصاصی گونه با استفاده از جدایه‌های استاندارد، گونه جدایه‌های فوزاریومی به‌دست آمده از گیاهان فضای سبز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی شناسایی شدند. در این پژوهش، تعداد ۲۴ جدایه متعلق به گونه *F. solani* با استفاده از آغازگرهای fFuso1 و rfuso2، ۱۱ جدایه متعلق به گونه *F. oxysporum* با استفاده از آغازگرهای CLOX1-F و CLOX2-R، ۱۰ جدایه متعلق به گونه *F. acuminatum* با استفاده از آغازگرهای FAC-F و FAC-R، ۸ جدایه متعلق به گونه *F. equiseti* با استفاده از آغازگرهای FEF1 و FER1 و ۸ جدایه متعلق به گونه *F. graminearum* با استفاده از آغازگرهای FgCTPSf024 و FgCTPSrR306 شناسایی شدند. این آغازگرها هیچ واکنشی با جدایه‌های متعلق به سایر گونه‌های فوزاریوم مورد بررسی نشان ندادند. ضمناً از سه جدایه منتخب توالی‌یابی شده با آغازگر EF1-fus، دو جدایه به گونه *F. solani* و یک جدایه به گونه *F. redolens* تعلق داشتند.

واژه‌های کلیدی

آغازگر اختصاصی،
زردی چمن،
زوال درختان،
Fusarium،
TEF-1α

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 2, 2022

Abstract

Among the various diseases that threaten the green space plants, the *Fusarium* genus is of great importance. Due to time consuming, requiring high expertise and low reliability in the morphological methods, it would be recommended to use species-specific primers for identification of *Fusarium* species as a fast and cost-effective method without need to sequencing that could be easily used to identify the genus and species of *Fusarium*. In this study, in order to molecularly confirming of *Fusarium* isolates associated with Ash, Black locust and Populus decline, and turfgrass yellowing, in addition to verifying species-specific primers with standard isolates, *Fusarium* isolates obtained from Ardabil's green space plants were identified using these specific primers by PCR. Totally, the 24 isolates belonging to *F. solani* using fFuso1 and rFuso2, 11 isolates belonging to *F. oxysporum* species using CLOX1-F and CLOX2-R primers, 10 isolates belonging to *F. acuminatum* species with using FAC-F and FAC-R primers, 8 isolates belonging to *F. equiseti* were identified using FEF1 and FER1 primers and 8 isolates belonging to *F. graminearum* were identified using FgCTPSf024 and FgCTPSrR306 primers. These primers did not react with isolates belonging to other *Fusarium* species. Also, the sequencing and phylogenetic analysis results lead to identify 2 and 1 isolates as *F. solani* and *F. redolens*, respectively.

Keywords: *Fusarium*, Trees decline, Turfgrass yellowing, Specific primers, *TEF-1α*.

مقدمه

امروزه فضای سبز شهری به‌عنوان یک جزء ضروری و جدایی‌ناپذیر در حیات شهرها و بهبود زندگی شهروندان به‌شمار می‌رود. نقش گیاهان به‌ویژه درختان در پالایش و کاستن آلودگی‌های مختلف هوا، صدا، نور و همچنین زیباسازی محیط زیست بسیار قابل توجه است (Kwak *et al*., 2020). فضاهای سبز شهری دارای ویژگی‌هایی است که آن‌ها را به فضاهای مناسبی برای ارتقای کیفیت زندگی انسان تبدیل می‌کند (Kabisch *et al*., 2015). شهر اردبیل با مساحت بیش از ٦٢٠٠ هکتار، دارای پارک‌ها و فضاهای سبز بسیاری است و سرانه موجود فضای سبز شهر برابر با ۵/۱ متر مربع می‌باشد (Imani *et al*., 2017). فضاهای سبز شهری توسط عوامل تنش‌زای مختلف زنده و غیرزنده مورد حمله قرار می‌گیرند و علایم مختلفی مانند زوال، زردی، سرخشکیدگی، شانکر و تغییر رنگ بافت چوبی را نشان می‌دهند. در نتیجه، شناخت آسیب‌ها و عوامل خسارت‌زای آن برای اتخاذ روش‌های پیشگیری و مدیریتی، امری ضروری است.

گونه‌های مختلف قارچ فوزاریوم از عوامل بیماریزای مهم در گیاهان مختلف به‌شمار می‌روند. در گیاهان فضای سبز نیز این جنس قارچی، بیماری‌های مختلفی مانند پژمردگی آوندی، زوال و سرخشکیدگی درختان و زردی چمن را ایجاد می‌کنند (Ezrari *et al*., 2021). در هاوایی، قارچ *Fusarium oxysporum* عامل پژمردگی نهال‌های اقاقیا معرفی شده است (Gardner, 1997). در سال ۲۰۰۷ نیز گونه *F. oxysporum* به‌عنوان بیمارگر بسیار مهم در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی در خصوص درختان جنگلی آمریکا معرفی شد (James and Dumroese, 2007). در پژوهشی، سه گونه *F. oxysporum*، *F. avenaceum* و *F. merismoides* از درختان دارای زوال زبان‌گنجشک در اسلواکی گزارش شدند (Ivanova *et al.*, 2020). در سال ۲۰۲۰ طی بررسی قارچ‌های عامل پوسیدگی ریشه در زبان گنجشک (*Fraxinus angustifolia*)، گونه *F. solani* به‌عنوان یکی از قارچ‌های عامل سرخشکیدگی معرفی شد (Orlović *et al*. 2020). همچنین Halasz در مجارستان گونه *F. solani* را به همراه گونه‌های *F. avenaceum*، *F. lateritium*، *F. semitectum*، *F. sulphureum* و *F. sambucinum* از درختان دارای علایم پژمردگی و شانکر پوست جداسازی کرد و نشان داد که گونه‌های *F. avenaceum* و *F. sulphureum* بدون وجود اثرهای یخبندان هم قادر به ایجاد شانکر روی ساقه و شاخه‌های کوچک می‌باشند (Halász,

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

2002). گونه‌های *F. polyphialidicum*، *F. sambucinum*، *F. semitectum*، *F. crookwellense*، *F. equiseti*، *F. solani* و *F. culmorum* نیز به‌عنوان عوامل ایجادکننده زوال در شیراز معرفی شدند (Barzegar Marvasti & Banihashemi, 2011). در بررسی عوامل قارچی همراه با سرخشکیدگی و زوال درختان اقاقیا در شهر اردبیل، ۱۰ گونه قارچی با استفاده از تلفیق داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی شناسایی و بیان شد که دو گونه *F. solani* و *F. oxysporum* با ایجاد انسداد آوندی می‌توانند در زوال این درختان نقش‌آفرینی کنند (Davari *et al.*, 2020). هم چنین چهار گونه *F. avenaceum*، *F. culmorum*، *F. equiseti* و *F. graminearum* به‌عنوان عوامل اصلی پوسیدگی ریشه چمن در آب و هوای گرم ایران معرفی شده‌اند (Mirabolfathy and Ershad, 2002). در بررسی بیماری‌های مهم چمن در اردبیل نیز قارچ *Fusarium* به‌عنوان یکی از هفت جنس قارچی مهم همراه زردی چمن معرفی شد و گونه‌های *F. semitectum*، *F. graminearum*، *F. avenaceum*، *F. equiseti*، *F. culmorum*، *F. crookwellens*، *F. sambucinum*، *F. solani*، *F. polyphialidicum*، *F. oxysporum*، *F. subglutinans*، *F. chlamydosporum*، *F. compactum* و *F. proliferatum* از چمن مبتلا به زردی جداسازی و از روی ویژگی‌های ریخت‌شناختی شناسایی شدند (Samiee and Davari, 2021). با توجه به لزوم شناسایی دقیق گونه‌های فوزاریوم جداسازی شده از گیاهان بیمار فضای سبز اردبیل، این پژوهش با هدف شناسایی گونه‌های *Fusarium* جداسازی شده از این گیاهان با استفاده از روش‌های مولکولی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های قارچی و شناسایی ریخت‌شناختی: در این پژوهش، جدایه‌های متعلق به جنس *Fusarium* که در پژوهش‌های قبلی از گیاهان بیمار فضای سبز (زبان گنجشک، اقاقیا، صنوبر، افرا و چمن) اردبیل و نمین جداسازی شده بودند، مورد استفاده قرار گرفت. برای شناسایی دقیق‌تر ریخت‌شناختی، جدایه‌ها روی محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) قرار گرفتند و پس از بررسی ویژگی‌های ماکروسکوپی شامل شکل و رنگ پرگنه، ساختار و نوع میسلیوم، نرخ رشد و تولید یا عدم تولید رنگدانه، از محیط کشت SNA (Synthetic Nutrient Poor-Agar)، برای بررسی خصوصیات میکروسکوپی شامل سازوکار کنیدیوم‌زایی، تشکیل یا عدم تشکیل کنیدیوماتا، اندازه و شکل ماکروکنیدیوم، وجود یا فقدان میکروکنیدیوم‌ها و شکل آن‌ها، نوع فیالید (منوفیالید یا پلی‌فیالید) و حضور یا عدم حضور کلامیدوسپور استفاده شد. برای این کار از میکروسکوپ ZIESS Axiolab مجهز به خط‌کش میکرومتری استفاده شد. به‌منظور تهیه تصاویر میکروسکوپی نیز از دوربین دیجیتال Canon 450D نصب شده روی میکروسکوپ ZIEES Axiolab (آلمان) استفاده شد. در نهایت، شناسایی ریخت‌شناختی گونه جدایه‌های قارچی با استفاده از Leslie and Summerell (2005) دوباره انجام پذیرفت.

مطالعات مولکولی جدایه‌های قارچی

استخراج DNA جدایه‌های قارچی و کیفیت‌سنجی آن‌ها: برای به‌دست آوردن توده میسلیومی، جدایه‌های قارچی به مدت ۱۰-۷ روز روی محیط کشت PDA کشت و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از حدود یک هفته، بسته به‌سرعت رشد جدایه‌های مختلف، DNA ژنومی با استفاده از روش CTAB (دستورالعمل Moller *et al.*, 1992) استخراج شد. کیفیت و کمیّت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر نانودراپ (مدل NanodropOne_C-AZY1706749, USA) و استفاده از ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه و آغازگر عمومی *Fusarium*: این واکنش با حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (ساخت شرکت سیناکلون)، نه میکرولیتر آب دو بار تقطیر، یک میکرولیتر آغازگر مستقیم، یک میکرولیتر آغازگر معکوس و یک‌ونیم میکرولیتر DNA ژنومی آماده شد. واکنش در دستگاه ترموسایکلر BioRad طبق برنامه دمایی (جدول ۱) برای هریک از آغازگرهای اختصاصی تنظیم شد. همچنین به‌منظور تکثیر ناحیه ژنی *TEF-1α*

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

(Translation elongation factor-1alpha) در مورد سه جدایه *Fusarium*، از آغازگرهای EF1-fus 5´- ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3´ و EF1-fus 5´- GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3´ استفاده شد (Geiser *et al.*, 2004). برای این کار، پس از استخراج DNA ژنومی به روش CTAB، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مطابق شرایط ذکرشده در مطالعات قبلی (Davari *et al.*, 2013b) انجام شد. کیفیت محصول PCR با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت.

توالی‌یابی و تجزیه و تحلیل جدایه‌های منتخب: محصول واکنش PCR جدایه‌های منتخب جهت خالص‌سازی و تعیین ترادف به شرکت توپازژن ارسال شد. سپس داده‌های خام توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Seqman (DNASTAR, Madison, WI, USA) ویرایش شد. توالی نوکلئوتیدی حاصل با توالی‌های موجود در بانک ژن در شبکه NCBI با استفاده از ابزار جستجوی بلاست (BLAST search tool; Altschul *et al.* 1990) مقایسه و رج‌بندی توالی‌ها با استفاده از برنامه MEGA-7 انجام شد (Kumar *et al.*, 2016). بهترین مدل برای رسم درخت تبارزایی با همین نرم‌افزار تعیین شد. تبارنمای نهایی با استفاده از روش حداکثر درستنمایی (Maximum Likelihood) بر مبنای داده‌های توالی ژن *TEF-1α* مربوط به جدایه‌های فوزاریوم مورد مطالعه در این پژوهش و جدایه‌های معتبر دریافت شده از بانک ژن جهانی (NCBI; http://www.ncbi.nlm.nih.gov) با استفاده از نرم‌افزار MEGA-7 ترسیم شد. آزمون اعتبارسنجی به روش حداکثر درستنمایی انجام شد (Golmohamadi *et al.*, 2020). تجزیه و تحلیل اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار انجام شد. در این تبارنما، گونه *Trichoderma harzianum* به‌عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شد.

جدول ۱- اسامی و توالی آغازگرهای استفاده شده در PCR

Table 1. Names and Sequence of primers used in PCR

	Primers	Species-Specificity	Primer Sequence	PCR program	Source
1	FAC-F FAC-R	*F. acuminatum*	5'-GGGATATCGGGCCTCA-3' 5'-GGGATATCGGCAAGATCG-3'	95ºC for 3min, 38 (95ºC for 30s, 56ºC for 20s, 72ºC for 45s), 72ºC for 5 min	Williams *et al.*, 2002
2	FEF1 FER1	*F. equiseti*	5'- CATACCTATACGTTGCCTCG-3' 5'- TTACCAGTAACGAGGTGTATG-3'	94ºC for 1min, 25 (94ºC for 1min, 58ºC for 30s, 72ºC for 1min), 72ºC for 7min	Mishra *et al.*, 2003
3	FgCTPSf024 FgCTPSrR306	*F. graminearum*	5'-TCGGAAGAGTTTTCTGCC-´3' 5'-CCTTGGTCATCCATAGAG-3'	94°C for 5 min, 35(94°C for 1min, 53°C for 1min, 72°C for 3min), 72°C for 5mi	Yang *et al.*, 2008
4	Clox1-F Clox2-R	*F. oxysporum*	5'-CAGCAAAGCATCAGACCACTATAACT-3' 5'- CTTGTCAGTAACTGGACGTTGGTACT-3'	94ºC for 5min, 35(94ºC for 50s, 60ºC for 50s, 72ºC for 1min), 72ºC for 7min	Mule *et al.*, 2004
5	fFuso1 rFuso2	*F. solani*	5'-CTC TGT TAATAATGC AAC TC-3' 5'-TGG TAC TAT AGC TGG AGG A-3'	94°C for 2 min, 35 (94°C for 1min, 50°C for 1 min, 72°C for 2min), 72°C for 10min	He *et al.*, 2011
6	EF1 FusariumF EF2 FusariumR	*Fusarium* sp.	5'-ATGGGTAAGGAAGGACAAGAC-3' 5'-GGAGAGTACCAGTGCATCATGTT-3'	94ºC for 5min, 35 (94ºC for 50s, 56ºC for 50s, 72ºC for 1min), 72ºC for 7min	Geiser *et al.*, 2004

نتایج و بحث

در این تحقیق، ٦٨ جدایه متعلق به جنس *Fusarium* از گیاهان زبان گنجشک، چمن، اقاقیا، صنوبر، افرا و سایر میزبان‌های گیاهی متفرقه که در پژوهش‌های قبلی جداسازی و با روش‌های ریخت-شناختی بررسی شده و بیماریزایی اغلب آن‌ها اثبات شده بود، انتخاب و گونه‌های با بیشترین فراوانی در فضای سبز مورد بررسی مولکولی قرار گرفتند. از این تعداد، ۱۷ جدایه مربوط به میزبان زبان گنجشک، ۱۲ جدایه مربوط به میزبان اقاقیا، ۸ جدایه مربوط به میزبان چمن، ٤ جدایه مربوط به میزبان افرا، ۱ جدایه مربوط به میزبان صنوبر و ۳ جدایه مربوط به میزبان فندق بود. ۲۳

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

جدایه از سایر میزبان‌های گیاهی هم برای شناسایی جدایه یا صحّت‌سنجی آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده قرار گرفت.

بر اساس نتایج، جفت‌آغازگر اختصاصی گونه *F. solani* توانست به صورت اختصاصی، DNA تمامی ۲٤ جدایه مربوط به این گونه را با دمای اتصال ۵۰ درجه سلسیوس تکثیر دهد و قطعات ۳۳۰ جفت بازی ایجاد کند (شکل ۱).

جدول ۲- واکنش جدایه‌های مورد بررسی *Fusarium* به آغازگرهای fFuso1 و rFuso2

Table 2. Reaction of *Fusarium* isolates to primers fFuso1 and rFuso2

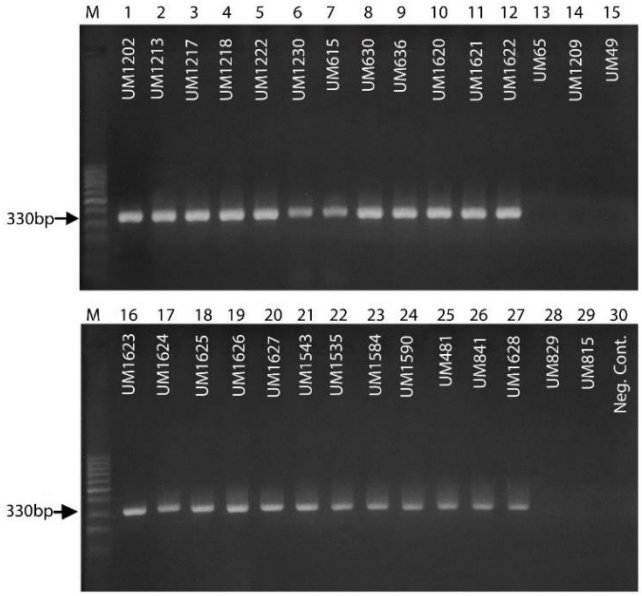
Number	Species	Isolate code	Host	Plant parts	Reaction to primer
1	*F. solani*	UM1202	*Fraxinus rotundifolia*	Root	+
2	*F. solani*	UM1213	*F. rotundifolia*	Root	+
3	*F. solani*	UM1217	*Fraxinus excelsior*	Root	+
4	*F. solani*	UM1218	*F. rotundifolia*	Root	+
5	*F. solani*	UM1222	*F. excelsior*	Root	+
6	*F. solani*	UM1230	*F. excelsior*	Root	+
7	*F. solani*	UM615	*Robinia psedoacacia*	Unknown	+
8	*F. solani*	UM630	*R. psedoacacia*	Unknown	+
9	*F. solani*	UM636	*R. pseudoacacia*	Unknown	+
10	*F. solani*	UM1620	*Acer* sp.	Unknown	+
11	*F. solani*	UM1621	*Acer* sp.	Unknown	+
12	*F. solani*	UM1622	*R. psedoacacia*	Unknown	+
13	*F. graminearum*	UM65 (CBS130952)	*Triticum aestivum*	Head	−
14	*F. oxysporum*	UM1209	*F. excelsior*	Stem	−
15	*F. venenatum*	UM49 (CBS458.93)	*T. aestivum* (Austria)	Unknown	−
16	*F. solani*	UM1623	*R. psedoacacia*	Unknown	+
17	*F. solani*	UM1624	*Acer* sp.	Unknown	+
18	*F. solani*	UM1625	*Acer* sp.	Unknown	+
19	*F. solani*	UM1626	*R. psedoacacia*	Root	+
20	*F. solani*	UM1627	*Populus* sp.	Root	+
21	*F. solani*	UM1543	*R. psedoacacia*	Root	+
22	*F. solani*	UM1535	*R. psedoacacia*	Root	+
23	*F. solani*	UM1584	*R. psedoacacia*	Root	+
24	*F. solani*	UM1590	*R. psedoacacia*	Stem	+
25	*F. solani*	UM481	*R. psedoacacia*	Root	+
26	*F. solani*	UM841	*Poa* sp.	Root	+
27	*F. solani*	UM1628	*R. psedoacacia*	Unknown	+
28	*F. equiseti*	UM829	*Poa* sp.	Root	−
29	*F. cerealis*	UM815	*Poa* sp.	Root	−

آغازگر اختصاصی گونه *F. oxysporum* تمام ۱۱ جدایه این گونه را با دمای اتصال ٦۰ درجه سلسیوس تکثیر داد و قطعات ۵۰۰ جفت بازی ایجاد کرد (شکل ۲). ۱۰ جدایه مربوط به گونه *F. acuminatum* نیز توسط آغازگر اختصاصی این گونه، با دمای اتصال ٥٦ درجه سلسیوس قطعات ٦۰۰ جفت بازی ایجاد کرد (شکل ۳). آغازگر اختصاصی گونه *F. equiseti* هر هشت جدایه مربوط به خود را با دمای اتصال ۵۸ درجه سلسیوس تکثیر داد و قطعات ۳۳۹ جفت بازی ایجاد کرد (شکل ٤). در نهایت آغازگر اختصاصی گونه *F. graminearum*، هشت جدایه این گونه را با دمای اتصال ۵۳ درجه سلسیوس تکثیر داد و قطعات ۳۱۱ جفت بازی ایجاد کرد. بدین‌ترتیب، از بین گونه‌های متعلق به این جنس، گونه *F. solani* با ۲٤ جدایه، بیشترین فراوانی را دارا بود و بعد از آن به ترتیب، گونه *F. oxysporum* با ۱۱ جدایه، گونه *F. acuminatum* با ۱۰ جدایه و گونه‌های *F. equiseti* و *F. graminearum* هر کدام با هشت جدایه در رتبه‌های بعدی قرار می‌گفتند. همچنین هفت جدایه از سایر گونه‌های *Fusarium* (*F.*

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

venenatum، *F. verticillioides*، *F. avenaceum*، *F.subglutinans*، *F. proliferatum*، *F. incarnatum* و *F. cerealis*) به‌عنوان جدایه‌های کنترل منفی آغازگرهای اختصاصی گونه مورد بررسی قرار گرفتند و هیچ باندی مشاهده نشد. برای صحّت‌سنجی بیشتر، سه جدایه UM1201، UM1204 و UM1218 با استفاده از توالی‌یابی ژن *TEF-1α* مورد بررسی قرار گرفتند. ایجاد قطعات اختصاصی ۷۰۰ جفت بازی در الکتروفورز نشان داد که آغازگرهای انتخاب شده (EF1-fus/EF2-fus) به خوبی این قطعات را تکثیر کرده‌اند (شکل ٦).



شکل ۱- تکثیر قطعه ۳۳۰ جفت‌بازی مربوط به گونه *F. solani* با استفاده از آغازگرهای fFuso1 و rFuso2

Fig1. Amplification of 330 Base pair of the *F. solani* using primers fFuso1 and rFuso2

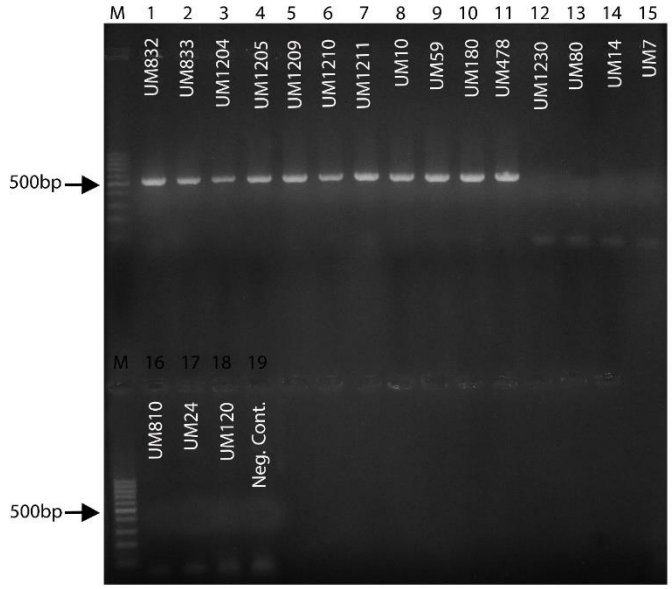
جدول ۳- واکنش جدایه‌های مورد بررسی *Fusarium* به آغازگرهای Clox1-F و Clox2-R

Table 3. Reaction of *Fusarium* isolates to primers Clox1-F and Clox2-R

Number	Species	Isolate code	Host	Plant parts	Reaction to primer
1	*F. oxysporum*	UM832	*Poa* sp.	Root	+
2	*F. oxysporum*	UM833	*Poa* sp.	Crown	+
3	*F. oxysporum*	UM1204	*F. excelsior*	Root	+
4	*F. oxysporum*	UM1205	*F. excelsior*	Root	+
5	*F. oxysporum*	UM1209	*F. excelsior*	Trunk	+
6	*F. oxysporum*	UM1210	*F. excelsior*	Trunk	+
7	*F. oxysporum*	UM1211	*F. excelsior*	Root	+
8	*F. oxysporum*	UM10 (CBS141.95)	*Hedera helix*	Unknown	+
9	*F. oxysporum*	UM59 (FL1)	*Lentis esculenta*	Stem	+
10	*F. oxysporum*	UM180 (CBS131194)	*Arrhenatherum elatius*	Head	+
11	*F. oxysporum*	UM478 (IRAN3910C)	*Corylus avellana*	Root	+
12	*F. solani*	UM1230	*F. excelsior*	Root	−
13	*F. graminearum*	UM80 (CBS130911)	*T. aestivum*	Head	−
14	*F. acuminatum*	UM14 (CBS 334.75)	*Musa sapientum*	Unknown	−
15	*F. verticillioides*	UM7 (CBS218.79)	*Zea mays*	Unknown	−
16	*F. cerealis*	UM810	*Poa* sp.	Leaf	−
17	*F. equiseti*	UM24 (CBS394.93)	*Disphyma crassifolium*	Unknown	−
18	*F. avenaceum*	UM120 (CBS131444)	Tree	Unknown	−

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]



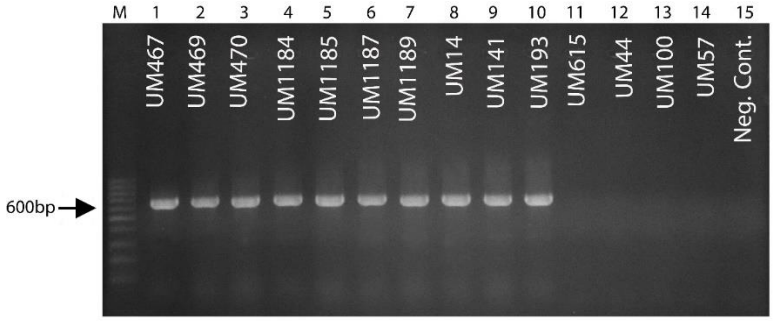
شکل ۲- تکثیر قطعه ۵۰۰ جفت بازی مربوط به گونه *F. oxysporum* با استفاده از آغازگرهای Clox1-F و Clox2-R

Fig 2. Amplification of 500 Base pair of the *F. oxysporum* using primers Clox1-F and Clox2-R

جدول ٤- واکنش جدایه‌های مورد بررسی *Fusarim* به آغازگرهای FAC-F و FAC-R

Table 4. Reaction of *Fusarium* isolates to primers FAC-F and FAC-R

Number	Species	Isolate code	Host	Plant organs	Reaction to primer
1	*F. acuminatum*	UM467	*C. avellana*	Root	+
2	*F. acuminatum*	UM469	*C. avellana*	Root	+
3	*F. acuminatum*	UM470	*C. avellana*	Root	+
4	*F. acuminatum*	UM1184	*F. excelsior*	Root	+
5	*F. acuminatum*	UM1185	*F. rotundifolia*	Root	+
6	*F. acuminatum*	UM1187	*F. rotundifolia*	Root	+
7	*F. acuminatum*	UM1189	*F. excelsior*	Root	+
8	*F. acuminatum*	UM14 (CBS 334.75)	*Musa sapientum*	Unknown	+
9	*F. acuminatum*	UM141 (CBS131074)	*Sorghom halepens*	Head	+
10	*F. acuminatum*	UM193 (CBS131257)	*Lolium* sp.	Head	+
11	*F. solani*	UM615	*R. psedoacacia*	Root	−
12	*F. subglutinans*	UM44 (CBS535.95)	*Lupinus* sp.	Unknown	−
13	*F. equiseti*	UM100 (CBS131777)	*T. aestivum*	Head	−
14	*F. graminearum*	UM57	*T. aestivum*	Head	−



شکل ۳- تکثیر قطعه ٦۰۰ جفت بازی مربوط به گونه *F. acuminatum*، با استفاده از آغازگرهای FAC-F و FAC-R

Fig 3. Amplification of 600 Base pair of the *F. acuminatum* using primers FAC-F and FAC-R

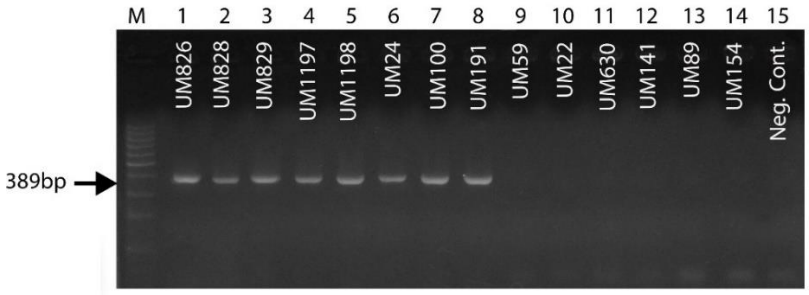
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

جدول ۵- واکنش جدایه‌های مورد بررسی *Fusarium* به آغازگرهای FEF1 و FER1

Table 5. Reaction of *Fusarium* isolates to primers FER1 and FEF1

Number	Species	Isolate code	Host	Plant parts	Reaction to primer
1	*F. equiseti*	UM826	*Poa sp.*	Root	+
2	*F. equiseti*	UM828	*Poa sp.*	Unknown	+
3	*F. equiseti*	UM829	*Poa sp.*	Root	+
4	*F. equiseti*	UM1197	*F. excelsior*	Root	+
5	*F. equiseti*	UM1198	*F. excelsior*	Root	+
6	*F. equiseti*	UM24 (CBS535.95)	*Disphyma crassifolium*	Unknown	+
7	*F. equiseti*	UM100 (CBS131777)	*T. aestivum*	Head	+
8	*F. equiseti*	UM191 (CBS131255)	*Leucopoa sclerophylla*	Head	+
9	*F. oxysporum*	UM59 (FL1)	*Lens culinaris*	Unknown	−
10	*F. cerealis*	UM22 (CBS589.93)	*Iris hollandica*	Unknown	−
11	*F. solani*	UM630	*R. psedoacacia*	Unknown	−
12	*F. acuminatum*	UM141 (CBS131074)	*S. halepens*	Head	−
13	*F. graminearum*	UM89 (CBS131572)	*T. aestivum*	Head	−
14	*F. proliferatum*	UM154 (CBS131100)	*Paspalum paspaloides*	Head	−



شکل ٤- تکثیر قطعه ۳۸۹ جفت بازی مربوط به گونه *F. equiseti* با استفاده از آغازگرهای FEF1 و FER1

Fig 4. Amplification of 389 Base pair of the *F. equiseti* using primers FER1 and FER1

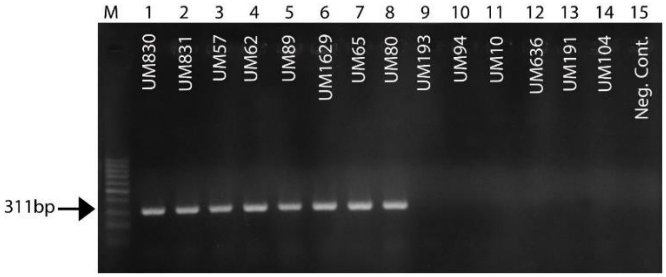
جدول ٦- واکنش جدایه‌های مورد بررسی *Fusarium* به آغازگرهای FgCTPSf024 و FgCTPSrR306

Table 6. Reaction of *Fusarium* isolates to primers FgCTPSf024 and FgCTPSr306

Number	Species	Isolate code	Host	Plant parts	Reaction to primer
1	*F. graminearum*	UM830	*Poa* sp.	Root	+
2	*F. graminearum*	UM831	*Poa* sp.	Leaf	+
3	*F. graminearum*	UM57	*T. aestivum*	Head	+
4	*F. graminearum*	UM62 (CBS130604)	*T. aestivum*	Head	+
5	*F. graminearum*	UM89 (CBS 131572)	*T. aestivum*	Head	+
6	*F. graminearum*	UM1629 (CBS131249)	*T. aestivum*	Head	+
7	*F. graminearum*	UM65 (CBS130952)	*T. aestivum*	Head	+
8	*F. graminearum*	UM80 (CBS130911)	*T. aestivum*	Head	+
9	*F. acuminatum*	UM193 (CBS131257)	*Lolium* sp.	Head	−
10	*F. proliferatum*	UM94 (CBS131574)	*T. aestivum*	Head	−
11	*F. oxysporum*	UM10 (CBS141.95)	*Hedera helix*	Unknown	−
12	*F. solani*	UM636	*R. psedoacacia*	Unknown	−
13	*F. equiseti*	UM191	*T. aestivum*	Head	−
14	*F. incarnatum*	UM104	*T. aestivum*	Head	−

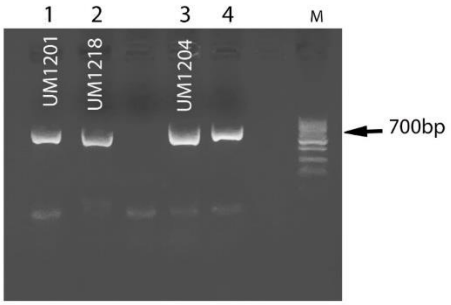
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]



شکل ۵- تکثیر قطعه ۳۱۱ جفت بازی مربوط به گونه *F. graminearum* با استفاده از آغازگرهای FgCTPSf024 و FgCTPSrR306

Fig 5. Amplification of 311 Base pair of the *F. graminearum* using primers FgCTPSf024 and FgCTPSr306



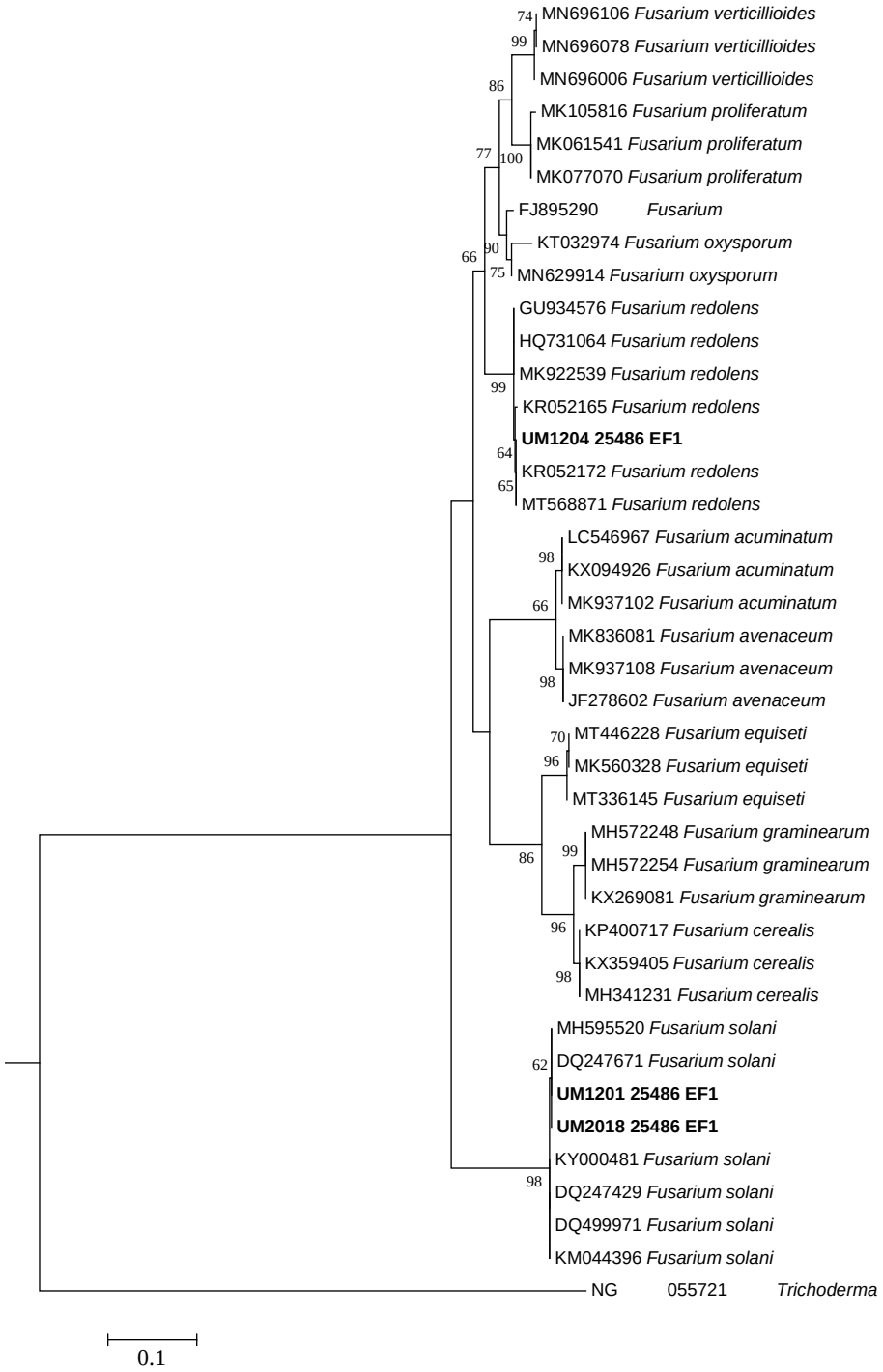
شکل ٦- تکثیر قطعه ۷۰۰ جفت بازی مربوط به آغازگرهای EF1F و EF2R

Fig 6. Amplification of 700 Base pair of the primers EF1F and EF2R

همچنین نتایج توالی‌یابی با نتایج به دست آمده از تشخیص ریخت‌شناختی این جدایه‌های *Fusarium* مطابقت داشت. فایل رج‌بندی شده نهایی شامل ٤٠ آرایه از این جنس بود. در تبارنمای رسم شده، دو آرایه UM1201 و UM1218 که هر دو از میزبان زبان گنجشک انتخاب شده بود، در داخل کلاد مربوط به گونه *F. solani* با حمایت اعتبارسنجی ۹۸ درصد قرار گرفتند. همچنین آرایه UM1204 نیز که از میزبان زبان گنجشک انتخاب شده بود، در داخل کلاد مربوط به گونه *F. redolens* با حمایت اعتبارسنجی ۹۹ درصد قرار گرفت. در این تبارنما، گونه *Trichoderma harzianum* به‌عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است (شکل ۷).

تاکنون تحقیقات متعددی برای تأیید گونه‌های مختلف قارچی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی انجام شده است. آغازگرهای اختصاصی گونه برای شناسایی مولکولی گونه‌های جنس *Fusarium* شامل *F. avenaceum*، *F. culmorum*، *F. crookwellens*، *F. subglutinans*، *F. redolens*، *F. proliferatum*، *F. oxysporum* و *F. solani*، که از مزارع پیاز آذربایجان غربی و آذربایجان شرقی جداسازی شده بودند، با موفقیت استفاده شده است (Jahedi *et al.*, 2018). همچنین استفاده از آغازگرهای اختصاصی در تأیید مولکولی گونه‌های *F. proliferatum* و *F. verticillioides* جداسازی شده از ذرت در ایران نیز نتایج قابل قبولی را ارائه داده است (Rahjoo *et al.*, 2008). در پژوهشی دیگر در کانادا، شناسایی گونه‌های مختلف فوزاریوم که از گندم، جو، ذرت و چاودار جداسازی شده بودند، با آغازگرهای اختصاصی تأیید شد (Demeke *et al.*, 2005). دو گونه *F. solani* و *F. sambucinum* از غده‌های سیب‌زمینی که علایم پوسیدگی را نشان می‌دادند، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در لهستان شناسایی شدند (Lenc *et al.*, 2008). همچنین در پژوهشی، از چهار جفت‌آغازگر اختصاصی برای شناسایی گونه *F. oxysporum* f.sp. *lactuce* در ایتالیا استفاده شده است (Pasquali *et al.*, 2007). در استرالیا نیز به‌منظور مطالعه عوامل قارچی ایجادکننده پوسیدگی طوقه گندم از شش جفت‌آغازگر برای شناسایی شش گونه قارچی *F. acuminatum*، *F. crookwellens*، *F. avenaceum*، *F. culmorum*، *F. graminearum* و *F. pseudograminearum* استفاده کردند (Williams *et al.*, 2002).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]



شکل ۷- تبارنمای رسم شده برای جدایه‌های *Fusarium* بر اساس توالی بخشی از ناحیه *TEF-1α* به روش Maximum Likelihood با اعتبارسنجی (Bootstrap) ۱۰۰۰ تکرار. گونه *Trichoderma harzianum* به‌عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است. در این تبارنما، جدایه‌هایی که با حالت تیره مشخص شده‌اند، مربوط به جدایه‌های شناسایی شده از درختان زبان گنجشک در این تحقیق هستند (مقیاس ۰/۱).

Fig 7. Phylogenetic tree constructed by Mega-7 based on partial *TEF-1α* sequences of *Fusarium* isolates with Maximum Likelihood method. *Trichoderma harzianum* was used as outgroup taxon. Highlighted taxa represent isolates of this study identified on ash trees (scale bar=0.1).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

در بررسی گونه‌های مولّد پژمردگی خیار، پوسیدگی میوه گوجه‌فرنگی و پوسیدگی ذرت در مالزی، از ۵۰ جدایه *Fusarium*، ۲۹ جدایه مربوط به *F. proliferatum* و ۲۱ جدایه مربوط به *F. verticillioides* بود که با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ProF1/ProR1 و VertF1/VertR1 شناسایی شدند (Najihah *et al.*, 2017). در پژوهش دیگری معلوم شد که می‌توان با استفاده از تکنیک PCR و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه به سادگی و بسیار سریع، گونه‌های *F. oxysporum* و *F. solani* را از هم تمایز داد (Gaviria-Rivera and Giraldo-Lopez, 2018). در تحقیقی برای تشخیص عوامل پوسیدگی ریشه سویا در ایالات متحده، از آغازگرهای اختصاصی برای شناسایی ۱۱ گونه کمپلکس *F. solani* استفاده شد (Chitrampalam *et al.*, 2018). همچنین در تحقیق حاضر، شناسایی دو گونه *F. solani* و *F. redolens* با توالی‌یابی بخشی از ناحیه *TEF-1α* تأیید شد. این ناحیه ژنی، چند شکلی مناسبی را بین گونه‌های نزدیک به‌هم در جنس فوزاریوم حتی در مقایسه با ژن‌های کد کننده پروتئین مثل کالمودولین، بتاتوبولین و هیستون H3 نشان می‌دهد و کارآیی خوبی برای شناسایی گونه در این جنس قارچی دارد (Geiser *et al.*, 2004; Davari *et al.*, 2013a). در تحقیقی که با هدف شناسایی جدایه‌های فوزاریومی به دست آمده از سنبله گندمیان وحشی استان اردبیل با استفاده از داده‌های ریخت‌شناختی و توالی‌یابی *TEF-1α* انجام شد، علاوه بر شناسایی گونه‌های متعلق به شش کمپلکس گونه‌ای فوزاریوم، سه گونه جدید شامل *F. brachygibbosum*، *F. torulosum* و *F. reticulatum var. negundis* برای اولین بار از ایران گزارش شد (Davari *et al.*, 2013a). از مطالعات دیگر می‌توان به شناسایی گونه‌های *F. solani*، *F. equiseti*، *F. avenaceum*، *F. graminearum*، *F. oxysporum*، *F. commune* و *F. proliferatum* به‌عنوان عوامل پژمردگی فوزاریومی گیاه YAM در چین (Dongzhen *et al.*, 2020) و نیز گزارش گونه *F. equiseti*، *F. redolens*، *F. acutatum*، *F. oxysporum* و *F. torulosum* از برخی علف‌های هرز ایران (Nooralvandi *et al.*, 2021) با تکیه بر داده‌های توالی ناحیه ژنی *TEF1- α* اشاره نمود.

تعداد قابل توجهی از گیاهان واقع در فضای سبز شهر اردبیل در چند سال گذشته، دچار بیماری شده‌اند که از آن جمله می‌توان به سرخشکیدگی و زوال برخی درختان مانند اقاقیا، زبان‌گنجشک، صنوبر، افرا و زردی چمن اشاره کرد. با توجه به جداسازی و شناسایی گونه مبتنی بر ریخت‌شناختی برخی جدایه‌های قارچی متعلق به جنس *Fusarium* در تحقیقات قبلی و از آنجایی‌که این روش، علاوه بر زمان‌بر بودن، به‌تنهایی قادر به شناخت مطمئن در حد گونه نیست، در این پژوهش، ضمن راست‌آزمایی دوباره آغازگرهای اختصاصی گونه با جدایه‌های استانداردی که قبلاً با توالی‌یابی چند ژنی مورد شناسایی قطعی قرار گرفته بودند، جدایه‌های *Fusarium* به‌دست آمده از گیاهان فوق با استفاده از آغازگرهای اختصاصی شناسایی شدند. این تحقیق، اولین مطالعه در خصوص شناسایی گونه‌های *Fusarium* مرتبط با بیماری‌های فضای سبز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه در ایران و دنیا محسوب می‌شود. شناسایی دقیق گونه قارچ‌های همراه یا دخیل در بیماری‌های مهم فضای سبز می‌تواند در ادامه تحقیقات از جمله بررسی روش‌های پیشگیری و مدیریت این بیماری‌ها مفید واقع شود.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارایه شده به دانشگاه محقق اردبیلی است که بدینوسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه بابت تامین هزینه و امکانات لازم قدردانی می‌شود.

منابع

A Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology, 215(3): 403-10.

Barzegar Marvasti F, Banihashemi Z. 2011. Identification and pathogenicity of turfgrass-infecting fungi in Shiraz landscape, Iranian Journal of Plant Patholoy, 47(4): 361-377. (In Farsi with English abstract).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

Chitrampalam P, Abraham N, Nelson BD. 2018. A culture-independent PCR-based assay to detect the root rot pathogen *Fusarium solani* species complex 11 from soybean roots and soil. Plant Disease, 102(2): 327-333.

Davari M, Babai-Ahari A, Arzanlou M, Zare R, Van Diepeningen AD, De Hoog GS. 2013a. Morphological and molecular characterization of three new *Fusarium* species associated with inflorescence of wild grasses for Iran. Rostaniha, 14: 124-134. (In Farsi with English abstract).

Davari M, Wei SH, Babai-Ahari A, Arzanlou M, Waalwijk C, Van-der-Lee TAJ, Zare R, Gerrits Van-den-Ende AHG, de-Hoog SG, Van-Diepeningen AD. 2013b. Geographic differences in trichothecene chemotypes of *Fusarium graminearum* in the Northwest and North of Iran. World Mycotoxin Journal, 6(2): 137-150.

Davari M, Alihosseinzadeh-Moghaddam F, Narmani A. 2020. Characterization of fungal agents associated with black locust dieback and decline in Ardabil city. Journal of Applied Research in Plant Protection, 9(3): 47–57. (In Farsi with English abstract).

Demeke Tigst, Randy MC, Patrick SK, Gaba D. 2005. Species-specific PCR-based assays for the detection of *Fusarium* species and a comparison with the whole seed agar plate method and trichothecene analysis. International Journal of Food Microbiology, 103: 271–284.

Dongzhen F, Xilin L, Xiaorong C, Wenwu Y, Yunlu H, Yi C, Jia C, Zhimin L, Litao G, Tuhong W, Xu J, Chunsheng G. 2020. *Fusarium* species and *Fusarium oxysporum* species complex genotypes associated with Yam wilt in south-central China. Frontiers in Microbiology, 11: 1-17.

Ezrari S, Lahlali R, Radouane N, Tahiri A, Asfers A, Boughalleb-M'Hamdi N, Lazraq A. 2021. Characterization of *Fusarium* species causing dry root rot disease of citrus trees in Morocco. Journal of Plant Diseases and Protection, 128(2): 431-447.

Gardner D E. 1980. *Acacia Koa* seedling wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *koae* nov. Phytopathology, 70: 594-597.

Gaviria-Rivera A, Giraldo-López A, Santa-Cardona C, Cano-Restrepo L. 2018. Molecular identification of clinical isolates of *Fusarium* in Colombi. Revista de Salud Pública, 20(1): 94-102.

Geiser DM, Jimenez-Gasco MDM, Kang S, Makalowska I, Veeraraghavan N, Ward TJ, Zhang N, Kuldau GA, O'Donnell K. 2004. A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. European Journal of Plant Pathology, 110: 473–479.

Golmohamadi H, Arzanlou M, Rabani Nasab HA. 2020. Identification and pathogenicity of *Cytospora* isolates associated with canker and dieback disease on pomegranate, in East Azarbaijan and Golestan Provinces. Journal of Applied Research in Plant protection, 10(1): 97-103. (In Farsi with English abstract).

Halasz G. 2002. Canker and wilt of black locust (*Robinia pseudoacacia*) caused by *Fusarium* species. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 49(2-3): 249-260

He D, Hao J, Zhang B, Yang Y, Song W, Zhang Y, Yokoyama K, Li W. 2011. Pathogenic spectrum of fungal Kkeratitis and specific identification of *Fusarium solani*. Immunology and Microbiology, 52(5): 2804-2808.

Imani B, Firoozi Majandeh E, Kanooni R. 2017. Spatial distribution of green spaces and prioritization of land suitability for optimal site selection of park (case study: Ardebil city). Environmental Based Territorial Planning (Amayesh) , 10 (37): 65-97. (In Farsi with English abstract).

Ivanova H, Malinicova L, Piknova M, Pristas P. 2020. New Endophytic *Fusarium* spp. from *Fraxinus excelsior* Leaves in Slovakia. Planta Medica, 86: 1-7.

Jahedi A, Mohammadi Goltapeh E, Safaie N. 2018. The first report of *Fusarium culmorum* and *Fusarium subglutinans* in onion from West and East Azarbaijan provinces. Iranian Journal of Plant Protection Science, 49 (1): 1-9. (In Farsi with English abstract).

James, Robert L.; Dumroese, R. Kasten. 2007. Potential for using *Fusarium* to control Fusarium disease in forest nurseries.

James RL, Dumroese RK. 2007. Potential for using Fusarium to control Fusarium disease in forest nurseries. In: Riley LE, Dumroese RK, Landis TD. National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations - 2006. Proceedings RMRS-P-50. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. p. 54-60.

Kabisch N, Qureshi S, Haase D. 2015. Human–environment interactions in urban green spaces-A systematic review of contemporary issues and prospects for future research. Environmental Impact Assessment Review, 50: 25-34.

Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets Molecular Biology and Evolution, 33: 1870-1874.

Kwak MJ, Lee JK, Park S, Lim YJ, Kim H, Kim KN, Woo SY. 2020. Evaluation of the importance of some East Asian tree species for refinement of air quality by estimating air pollution tolerance index, anticipated performance index, and air pollutant uptake. Sustainability, 12(7): 3067.

Lenc L, Lukanowski A, Sadowski C. 2008. The use of PCR amplification in determining the toxigenic potential of *Fusarium sambucinum* and *F. solani* isolated from potato tubers with symptoms of dry rot. Phytopathology, 48: 13–23.

Leslie JF, Summerell BA. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Asia, 399 pp.

Mirabolfathy M, Ershad J. 2002. Turfgrass fungal diseases in Iran. Proceedings of 15th Iranian Plant Protection Congress, Iran, Kermanshah, University of Razi, 65.

Mishra PK, Fox RTV, Culham A. 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic Fusaria. FEMS Microbiology Letters, 218: 329-332.

Moller EM, Bahnweg G, Sanderman H, Geiger HH. 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. Nucleic Acids Research, 20: 6115-6116.

Mule G, Susca A, Stea G, Moretti A. 2004. Specific detection of the toxigenic species *Fusarium proliferatum* and *F.*

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]

oxysporum from asparagus plants using primers based on calmodulin gene sequences. FEMS Microbiology Letters, 230: 235-240.

Najihah A, Nurain MZ, Yong SYC, Nik MN. 2017. Characterization of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides* based on species-specific gene and microsatellites analysis. Sains Malaysiana, 46(12): 2425–2432.

Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO. 1983. *Fusarium* species, An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park. 193 pp.

Nooralvandi F, Alizadeh H, Saremi H, Salehi Jozani Gh. 2021. Morphological and Molecular Identification of *Fusarium* spp. As Root Endophytes of Spontaneous Barley (*Hordeum spontaneum*) and Turnipweed (*Rapistrum rugosum*). Journal of Plant Protection, 35(1): 1-10. (In Farsi with English abstract).

Orlović JK, Moro M, Diminíc D. 2020. Role of root and stem base fungi in *Fraxinus angustifolia* (Vahl) dieback in Croatian Floodplain Forests. Forests, (11): 607.

Pasquali M, Dematheis F, Gullino ML, Garibaldi A. 2007. Identification of race 1 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on lettuce by inter-retrotransposon sequence-characterized amplified region technique. Phytopathology, 97(8): 987-996.

Rahjoo V, Zad J, Javan-Nikkhah M, Mirzadi-Gohari A, Okhovvat SM, Bihamta MR, Razzaghian J, Klemsdal SS. 2008. Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize ears in IRAN. Journal of Plant Pathology, 90(3): 463-468.

Samiee M, Davari M. 2021. Important diseases of turf in Iran. Plant Pathology Science, 9(2): 119-128. (In Farsi with English abstract).

Williams KJ, Dennis JI, Smyl C, Wallwork H. 2002. The application of species-specific assays based on the polymerase chain reaction to analyse *Fusarium* crown rot of durum wheat. Australasian Plant Pathology, 31: 119–127.

Yang L, Lee T, Yang X, Yu D, Waalwijk C. 2008. *Fusarium* populations on Chinese barley show a dramatic gradient in mycotoxin profiles. Phytopathology, 98(6): 719-727.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.9.1]