

بررسی هیستوپاتولوژیکی ارقام مقاوم و حساس کاهو در خلال رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucum*

علی دهقانی*، حسن رضا اعتباریان** و عزیز... علیزاده***

چکیده

در این بررسی ارقام Green Mignonett و All year که به ترتیب نسبت به قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucum* مقاوم و حساس هستند، از نظر هیستوپاتولوژیکی مورد مطالعه قرار گرفتند. گیاهچه‌های ۱۵ روزه به روش غوطه‌ور کردن ریشه در سوسپانسیون اسپور قارچ عامل بیماری با غلظت $10^6 \times 5$ اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی شدند. نمونه برداری در زمان‌های ۳، ۶، ۱۰ و ۲۰ روز پس از مایه‌زنی انجام شد. نمونه‌ها پس از برش و نگهداری در محلول‌های تثبیت‌کننده و رنگ‌آمیزی، مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند. در رقم حساس All year تغییرات مهم بافت‌شناختی، شامل تغییر رنگ در سیستم آوندی، انسداد آوندی، تیلوز و اضمحلال بافت در ناحیه‌ی آوندی مشاهده گردید. همچنین رشته‌های میسلیم به صورت درون و بین سلولی در ناحیه‌ی کورتکس ریشه توسعه یافت و پیشرفت قارچ عمدتاً به سمت استوانه‌ی مرکزی بود. در طی این تحقیق فقط انسداد آوندی در رقم مقاوم Green Mignonett مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: ارقام مقاوم، پژمردگی فوزاریومی، کاهو، هیستوپاتولوژیکی، *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucum*

مقدمه

بیماری پژمردگی فوزاریومی از بیماری‌های مهم کاهو است که عامل آن قارچ *Fusarium oxysporum* Schectend: Fr. emend. W. C. Snyder & H. N. Hans. f. sp. *lactucum* forma specialis nov. می‌باشد. این بیماری، اولین بار در سال ۱۹۹۳ در ایالت کالیفرنیا (۲۴) و سپس در مزارع کاهوی شهری، مشاهده و گزارش گردید (۱۷). جدید میلانی (۲۵) پس از بررسی، عامل

* - عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی استان خوزستان، خوزستان - ایران

** - استاد گروه گیاهپزشکی مجتمع آموزش عالی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران - ایران (مسئول مکاتبات مقاله)

*** - استاد گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران

بوته‌میری کاهو در مزارع مختلف مناطق شهری، ورامین و کرج، حساسیت و مقاومت تعدادی از ارقام کاهو را در گلخانه مورد بررسی قرار داد. اعتباریان و جدید میلانی (۱۸) حساسیت و مقاومت تعدادی دیگر از ارقام بومی و خارجی را بررسی کردند. با مطالعات انجام شده این نتیجه به دست آمد که ارقام Green Mignonette، محلی مراغه و محلی دزفول از مقاوم‌ترین ارقام و سفید شهری، Summer، Great lakes 659، All Year، Bibb، Lollo Rosa و Bas Salata از حساس‌ترین ارقام مورد آزمایش هستند (۱۵). باتوجه به اینکه مدت زیادی از شناخت این بیماری نمی‌گذرد، مطالعات هیستوپاتولوژیکی در ارتباط با تأثیر قارچ عامل بیماری در ارقام کاهو صورت نگرفته است، اما با مطالعات پژوهشگران در مورد پژمردگی‌های فوزاریومی ناشی از این گونه قارچ در محصولات مختلف، ارتباط و نقش ترکیبات فنلی با تغییر رنگ در سیستم آوندی و بروز پدیده‌هایی از قبیل تیلوز، ژل‌ها و در نهایت انسداد آوندی به اثبات رسیده است. علت واکنش قهوه‌ای شدن ناحیه‌ی آوندی، رسوب رنگیزه‌های تیره در دیواره‌های سلولی آوندهای هادی و سلول‌های پارانشیم اطراف آوند چوبی ذکر شده است به طوری که دیواره‌های تغییر رنگ یافته‌ی سلولی، عموماً متورم و پوسیده می‌شود و ثابت شده است که این علائم می‌تواند به وسیله‌ی عصاره‌ی صاف شده‌ی کشت مربوط به *F. oxysporum* f. sp. *lycopersicum* نیز ایجاد شود (۱۹).

مواد و روشها

انتخاب ارقام و جدایه قارچ عامل بیماری در این آزمایش از رقم حساس All Year و رقم مقاوم Green Mignonette که به ترتیب حساسیت و مقاومت آنها در طی آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای مشخص گردیده بود (۱۵) استفاده شد.

گوتوسکار و همکاران (۲۱) در مورد مکانیسم قهوه‌ای شدن به این نتیجه رسیدند که افزایش ترکیبات فنلی که با افزایش تنفس همراه می‌باشد باعث قهوه‌ای شدن ناحیه‌ی آوندی می‌گردد. دیویس و همکاران (۱۴) به این نتیجه رسیدند که فنل موجود در شیرهی آوندی بوته‌های آلوده به

مطلق نگهداری شد. در این عمل نمونه‌ها هم سخت و هم آگیری (دهیدراته) شدند، در نتیجه نیازی به کارهای مقدماتی برای قرار دادن آنها در پارافین نبود (۲۳).

تهیه برش‌ها برای مشاهده میکروسکوپی

پس از تثبیت نمونه‌ها در محلول تثبیت‌کننده، تهیه برش‌ها از بافت‌های ریشه، طوقه، ساقه و برگ‌ها با تیغ تیز سترون انجام گردید (۱۲، ۲۸ و ۳۰). طبق پیشنهاد لودویک (۲۷) و بیکن (۴) - که معتقدند تغییرات فیزیولوژیکی مانند -گرفتگی‌های ناشی از ژل طی عمل آگیری در مقطع‌های پارافینی و میکروتومی از بین می‌روند - تعدادی از نمونه‌ها بدون رنگ آمیزی، در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد.

رنگ آمیزی

در رنگ آمیزی برش‌ها از روشها و معرف‌های زیر استفاده شد:

روش توصیف شده‌ی برووس و حسن (۱۰): در این روش محلول شفاف‌سازی - رنگ آمیزی با مخلوط کردن ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانل ۹۵ درصد، ۱۵۰ میلی‌لیتر کلروفورم، ۱۲۵ میلی‌لیتر اسید لاکتیک ۹۰ درصد، ۱۵ گرم فنل، ۱۵ گرم کلرال هیدرات و ۰/۶ گرم آنیلین بلو تهیه شد. در این روش، برش‌ها به مدت ۲۴ ساعت داخل شیشه‌های کوچک در بسته، به حجم ۱۰ میلی‌لیتر و محتوی محلول رنگ آمیزی (۲ میلی‌لیتر به ازای یک سانتی متر مربع برش) در دمای اتاق نگهداری شد. سپس به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت در محلول غلیظ کلرال هیدرات (۵ گرم در ۲ میلی‌لیتر آب) قرار داده در نهایت با آب مقطر شسته شد و زیر میکروسکوپ مورد مشاهده قرار گرفت. روش توصیف شده‌ی کیو (۲۶): در این روش، برش‌ها به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در سافرانین - ۵ الکی (۱/۰ درصد سافرانین ۵ در ۵۰ میلی‌لیتر الکی اتیلیک ۹۵٪ و ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط

ضمناً برای مایه‌زنی از جدایه‌ی شماره ۲ - که شدیدترین بیماری‌زایی را از خود نشان داده بود - استفاده گردید (۱۵).

مایه‌زنی و شرایط رشد گیاه و نمونه برداری

بذر ارقام مورد آزمایش در جعبه‌هایی به ابعاد ۱۵×۳۰×۳۰ سانتی متر حاوی ماسه‌ی سترون شده کاشته شد و بعد از ۱۵ روز گیاهچه‌ها از ماسه بیرون آورده شد و با آب مقطر استریل شستشو گردید. سپس نوک ریشه‌ها تا دو سانتی متر هرس گردید و به مدت دو ساعت ریشه‌ها در سوسپانسیون اسپور به غلظت $10^6 \times 5$ اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی شد. گیاهچه‌های شاهد پس از هرس نوک ریشه در آب مقطر سترون فرو برده شد. سپس شش گیاهچه در هر گلدان - که حاوی خاک سترون بود - نشا گردید. تعداد ۱۶ گلدان که ۴ گلدان برای شاهد و ۴ گلدان آلوده برای هر رقم یعنی برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد (۲۸).

گلدان‌ها در گلخانه در دمای بین ۲۱ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد در ماه خرداد با نور طبیعی نگهداری و هر دو روز یک بار به میزان ۱۵۰ میلی‌لیتر در هر گلدان آبیاری شد و در زمان‌های ۳، ۶، ۱۰ و ۲۰ روز بعد از مایه‌زنی نمونه برداری به عمل آمد.

تثبیت نمونه‌ها

برای تثبیت نمونه‌ها، از مخلوط فرمالین - اسید استیک - الکل اتیلیک (۹۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۷۰ درصد، ۵ میلی‌لیتر اسید استیک غلیظ و ۵ میلی‌لیتر فرمالین ۴۰ درصد) استفاده شد. نمونه‌ها به مدت ۱۸ ساعت در محلول تثبیت‌کننده قرار داده شد. سپس برای بی‌رنگ کردن نمونه‌ها و شفاف شدن هرچه بیشتر، به مدت ۱۰ دقیقه در محلول پتاس ۱۰ درصد قرار گرفتند و از الکل مطلق برای تثبیت نمونه‌ها استفاده گردید. برای این منظور نمونه‌ها به مدت حداقل ۲ تا ۵ ساعت در الکل

آوندی در این رقم به طور کامل مشاهده گردید و هیچ‌گونه رشدی از قارچ در رقم مقاوم دیده نشد (شکل ۱).

مطالعه‌ی تغییرات هیستوپاتولوژیکی در رقم حساس All year

توسعه‌ی قارچ عامل بیماری در بافت میزبان: طبق مشاهدات، رخنه و توسعه‌ی قارچ عامل بیماری از طریق اپیدرم و ناحیه تمایز نیافته ریشه‌های آلوده صورت گرفت (شکل ۲). مشاهدات نشان داد که قارچ پس از نفوذ به سرعت از طریق ناحیه‌ی پوست به سمت استوانه‌ی مرکزی در حال تمایز حرکت کرد و به دو صورت بین سلولی و داخل سلولی در بافت ریشه‌ی میزبان توسعه یافت و از طریق پوست وارد بافت آوندی (اعم از پارانشیم آوندی و عناصر آوند چوبی) گردید (شکل ۳). ضمناً کلامیدوسپور قارچ عامل بیماری در ناحیه‌ی کورتکس ریشه گیاهچه‌های مرده مشاهده شد (شکل ۴) که به نظر می‌رسد با زمستان‌گذرانی و نحوه‌ی بقا قارچ در ارتباط باشد.

تغییر رنگ در سیستم آوندی

در نمونه‌های مربوط به مرحله‌ی اول نمونه‌برداری در رقم حساس (۳ روز پس از مایه‌زنی) مشاهده گردید که سلول‌های پارانشیمی مجاور آوندی با تجمع ترکیبات یا رنگیزه‌های تیره، رنگ زرد و سپس قهوه‌ای و قهوه‌ای تیره به خود گرفتند که این حالت در شکل ۵ ملاحظه می‌شود. پس از تجمع ترکیبات در داخل سلول‌های پارانشیمی مجاور عناصر آوندی، این مواد وارد عناصر آوندی گشتند و سبب تغییر رنگ سیستم آوندی شدند که این پدیده در شکل‌های ۶ و ۷ مشاهده می‌شود و حالت پیشرفته‌ی تغییر رنگ در سلول‌های پارانشیم قسمت کورتکس گیاهچه آلوده در قسمت انتهایی ریشه در شکل ۸ مشاهده می‌گردد.

شد) نگهداری و سپس به مدت ۳ تا ۶ دقیقه به محلول کاتن‌بلو (۰/۰۲ درصد کاتن‌بلو + ۲۰ گرم فنل + ۴۰ میلی‌لیتر گلیسرین + ۲۰ میلی‌لیتر اسید لاکتیک + ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر) منتقل شد و مورد مشاهده میکروسکوپی قرار گرفت.

برای مشاهده‌ی ژل‌های احتمالی از معرف سافرانین - ۵، به نسبت ۰/۰۱ درصد در ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک به مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. برای مشاهده‌ی کالوز احتمالی از آنیلین‌بلو ۰/۱ درصد محلول یک مولار فسفات دی پتاسیک به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد و برای بررسی تغییرات لیگنین در بافت، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در پتاس یک مولار قرار گرفتند و سپس مشاهده‌ی نمونه‌ها در زیر نور UV انجام گرفت (۳). در مشاهدات بافتی، از روش رنگ‌آمیزی فلورسانس پتاس - آنیلین‌بلو استفاده شد. در این روش برش‌های تازه بافتی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد داخل ۵۰ میلی‌لیتر پتاس یک مولار اتوکلاو شد. پس از سه بار شستشو در آب مقطر استریل، نمونه‌ها داخل چند قطره محلول فسفات دی پتاسیک رنگ‌آمیزی روی اسلاید قرار داده و زیر نور UV به وسیله میکروسکوپ Jenamed-2 Fluorescence مشاهده گردید. محلول رنگ‌آمیزی شامل ۰/۰۵ درصد آنیلین‌بلو در محلول فسفات دی پتاسیک با مولاریته ۰/۰۶۷ به مدت حداقل دو ساعت قبل از مشاهده تهیه شد (۲۲).

نتایج

مطالعه‌ی تغییرات هیستوپاتولوژیکی در رقم مقاوم Green Mignonette

در طی این بررسی هیچ‌گونه تغییر آناتومیکی مبنی بر مقاومت میزبان به قارچ عامل بیماری در رقم مقاوم مشاهده نگردید. اما پدیده‌ی انسداد

تشکیل ترکیبات ژل در عناصر آوندی

پس از استفاده از معرف سافرانین - 0 برای مشاهدهی ژل‌های احتمالی در گیاهچه‌های بیمار رقم حساس و سالم و قرار دادن کوتاه مدت در الکل اتیلیک (به مدت ۲۰ ثانیه)، مشاهده گردید که گیاهچه‌ی بیمار در قسمتی از عناصر آوندی، رنگ سافرانین به خود گرفته است و نیز در گیاهچه‌های سالم در سراسر عناصر آوندی حالت رنگ‌گرفتگی مشاهده نگردید (شکل‌های ۹ و ۱۰).

انسداد آوندی

انسداد آوندی از تغییرات مهم هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در مقاطع عرضی بوته‌های آلوده‌ی این تحقیق بود که در رقم حساس و رقم مقاوم آلوده مشاهده گردید اما در بوته‌های سالم مشاهده نشد (شکل‌های ۱ و ۱۱).

اضمحلال بافت در سیستم آوندی

مشاهدات میکروسکوپ نوری مربوط به مقطع عرضی ریشه‌ی بوته‌های بیمار رقم حساس، بیانگر مضمحل شدن بخش قابل توجهی از سلول‌های دستجات آوندی در ناحیه‌ی تازه تشکیل شده‌ی آوندی در ناحیه‌ی پروتوزایلیم^۱ بیمار بین بافت چوبی و آبکش بود. این تغییر در اغلب بوته‌های بیمار رقم حساس مشاهده گردید، اما در بوته‌های شاهد سالم چنین تغییراتی مشاهده نشد (شکل‌های ۱۲ و ۱۳).

تشکیل تیلوز و کالوز در عناصر آوندی

در مشاهدات مربوط به بوته‌های بیمار رقم حساس، تشکیل تیلوز در عناصر آوندی چوبی مشاهده گردید (شکل‌های ۱۴ و ۱۵) و تشکیل کالوز در گیاهچه‌های آلوده با رنگ آمیزی آنیلین‌بلو مشخص شد (شکل ۱۶).

تغییرات در برگ گیاهچه‌های آلوده

در مقایسه‌ی برگ گیاهچه‌های آلوده (برگ‌های زرد و بیمار) با سالم (برگ‌های سبز و سالم) در رقم

حساس All year انسداد در قسمت‌های انتهایی رگی‌برگ‌های مربوط به گیاهچه‌های بیمار مشاهده گردید اما در گیاهچه‌ی شاهد مربوط مشاهده نشد.

بحث

در بررسی هیستوپاتولوژیکی گیاهان آلوده‌ی کاهو، رخنه و توسعه‌ی قارچ عامل بیماری از طریق اپیدرم و ناحیه‌ی تمایز نیافته (ناحیه‌ی طولی‌شدگی) در ریشه به طور مستقیم مشاهده گردید. پیشروی قارچ عموماً به سمت استوانه‌ی مرکزی بود، به طوری که در ناحیه‌ی کورتکس توسعه‌ی در جهت طولی و محیطی نداشت. قارچ پس از ورود به ناحیه‌ی آوندی، وارد سلول‌های آن شامل سلول‌های پارانشیمی و سلول‌های آوند چوبی شد، که این مشاهدات نتایج مشاهدات پترسون و پوند (۳۱) و استور (۳۲) به ترتیب در خصوص قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی تریچه و موز را تأیید می‌کند. رخنه قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی کلم و میخک از طریق ناحیه‌ی تمایز نیافته (ناحیه‌ی طولی‌شدگی) بیان شده است (۳۰).

تشکیل کلامیدوسپور قارچ عامل بیماری در بافت ریشه‌ی گیاهچه‌های مرده‌ی کاهو مشاهده گردید که این نتیجه با گزارش تورجیلو و اسنایدن (۳۴) در خصوص گیاهچه‌های موز مبتلا به پژمردگی فوزاریومی مطابقت دارد.

مطالعات مربوط به بافت آوندی گیاهچه‌های آلوده نشان داد که برخی سلول‌های پارانشیمی به طور پراکنده در مجاورت عناصر آوندی قهوه‌ای رنگ شد که این حالت به واسطه‌ی تجمع ترکیبات خاصی در این سلول‌ها بود که به داخل عناصر آوندی ریخته و موجب تغلیظ شیره‌ی آوندی شده

شکل ۱ - مقطع عرضی انسداد عناصر آوندی در ریشه، در برابر قارچ عامل بیماری در رقم مقاوم Green Mignonett (×۲۵۰)

شکل ۲ - زخم طبیعی محل خروج ریشه‌ی فرعی از نقاط مهم زخم قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lactucum* در رقم حساس All year (×۸۶)

شکل ۳ - استقرار هیف قارچ عامل بیماری *F. oxysporum* f. sp. *lactucum* در سیستم آوند چوبی شامل پارانشیم چوبی و عناصر آوندی در مقطع عرضی ریشه‌ی بوته‌ی آلوده‌ی کاهو رقم حساس All year (×۴۸۰)

شکل ۴ - کلامیدوسپور قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی کاهو در قسمت کورتکس بافت ریشه‌ی گیاهچه‌ی مرده رقم حساس All year (×۲۹۰)

شکل ۵ - تجمع مواد در سلول پارانشیمی مجاور عناصر آوندی ریشه‌ی گیاهچه‌ی آلوده به قارچ عامل بیماری در رقم حساس All year (×۴۰۸)

شکل ۶ - وجود ترکیبات قهوه‌ای رنگ در مقطع طولی عناصر آوندی ریشه‌ی آلوده رقم حساس All year به قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی (×۴۰۸)

شکل ۷ - وجود ترکیبات قهوه‌ای رنگ در مقطع عرضی ریشه‌ی آلوده‌ی کاهوی حساس رقم All year به پژمردگی فوزاریومی (×۴۰۸)

شکل ۸ - تغییر رنگ در سلول‌های پارانشیم قسمت کورتکس گیاهچه‌ی آلوده، در قسمت انتهایی ریشه‌ی گیاهچه‌ی آلوده به قارچ عامل بیماری فوزاریومی کاهو در رقم حساس All year (×۲۱۲)



شکل ۲، (× ۸۶)



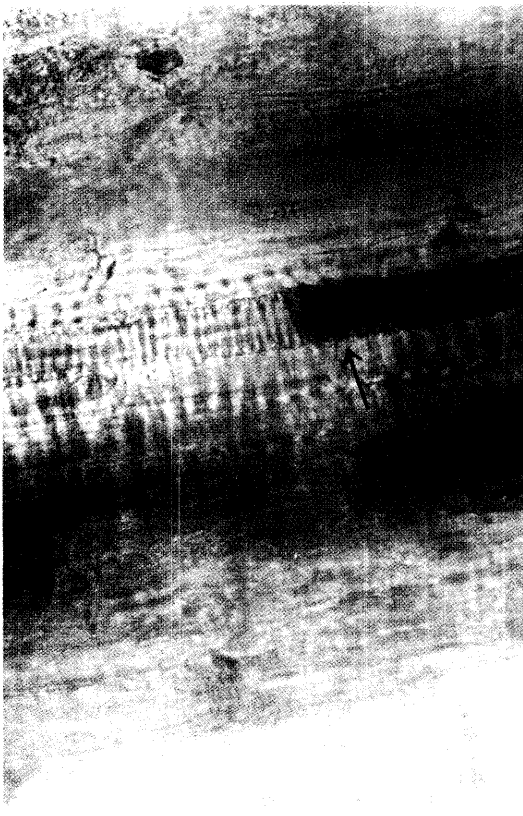
شکل ۱، (× ۲۵۰)



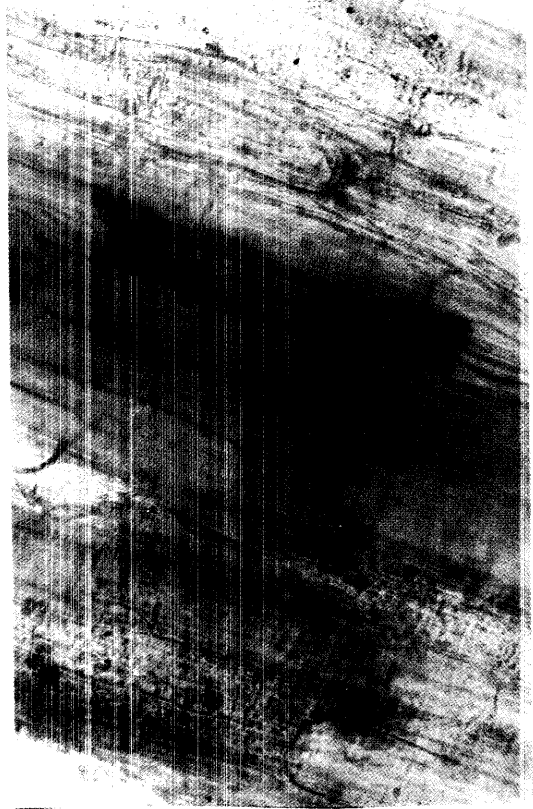
شکل ۴، (× ۲۹۰)



شکل ۳، (× ۴۸۰)



شکل ۶، (۴۰۸x)



شکل ۵، (۴۰۸x)



شکل ۸، (۲۱۲x)



شکل ۷، (۴۰۸x)

شکل ۹ - وجود ژل در ریشه‌ی گیاهچه‌ی آلوده به رقم حساس All year به *F. oxysporum* f. sp. *lactucum* تیمار شده با معرف ترکیبات ژل (×۲۹۰)

شکل ۱۰ - ریشه‌ی گیاهچه‌ی کاهوی سالم رقم حساس All year تیمار شده با معرف ترکیبات ژل (×۲۹۰)

شکل ۱۱ - انسداد عناصر آوندی در مقطع عرضی کاهوی آلوده به *F. oxysporum* f. sp. *lactucum* در رقم حساس All year (×۲۹۰)

شکل ۱۲ - اضمحلال در ناحیه‌ی آوندی ریشه مایه‌زنی شده *F. oxysporum* f. sp. *lactucum* در رقم حساس All year (×۸۶)

شکل ۱۳ - مقطع عرضی ریشه‌ی بوته‌ی سالم کاهو رقم حساس All year (×۸۶)

شکل ۱۴ - تیلوز در عناصر آوندی بوته‌ی آلوده به قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی کاهو در رقم حساس All year (×۱۲۵۰)

شکل ۱۵ - تیلوز در عناصر آوندی بوته‌ی آلوده به قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی کاهو در زیر UV در رقم حساس All year (×۴۸۰)

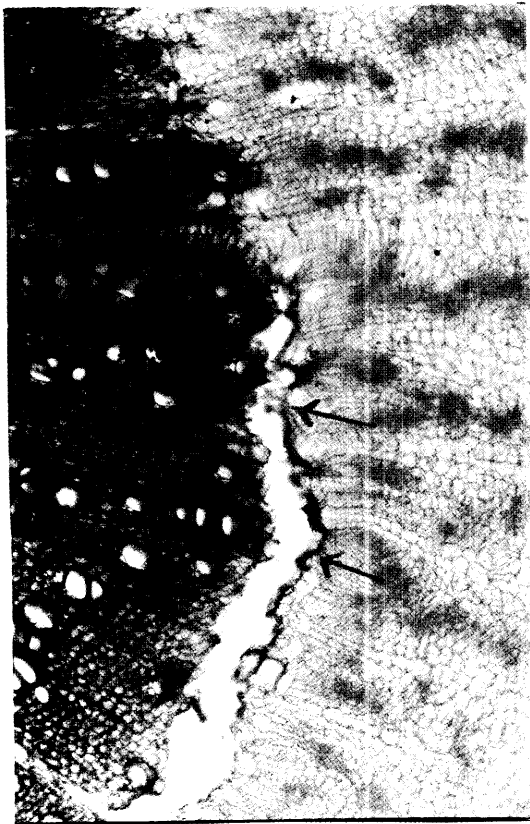
شکل ۱۶ - تشکیل کالوز در آوند گیاهچه‌های آلوده به قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی کاهو در رقم حساس All year (×۲۹۰)



شکل ۱۰، (× ۲۹۰)



شکل ۹، (× ۲۹۰)



شکل ۱۲، (× ۸۶)



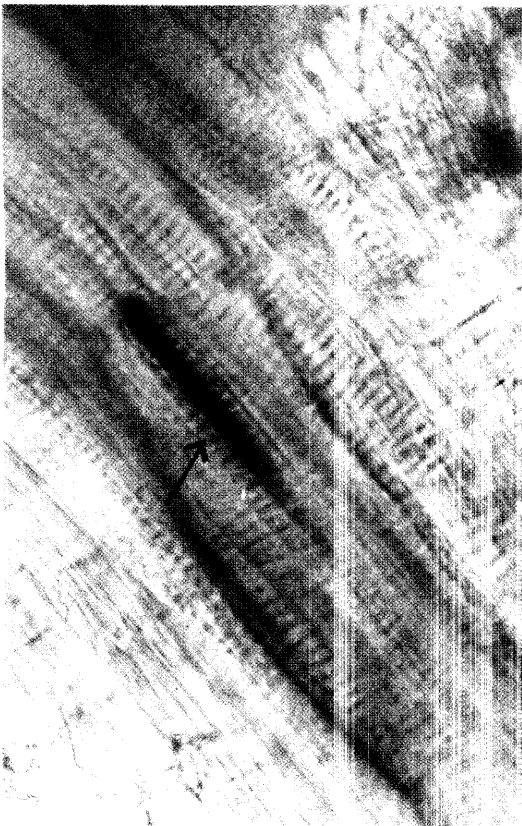
شکل ۱۱، (× ۲۹۰)



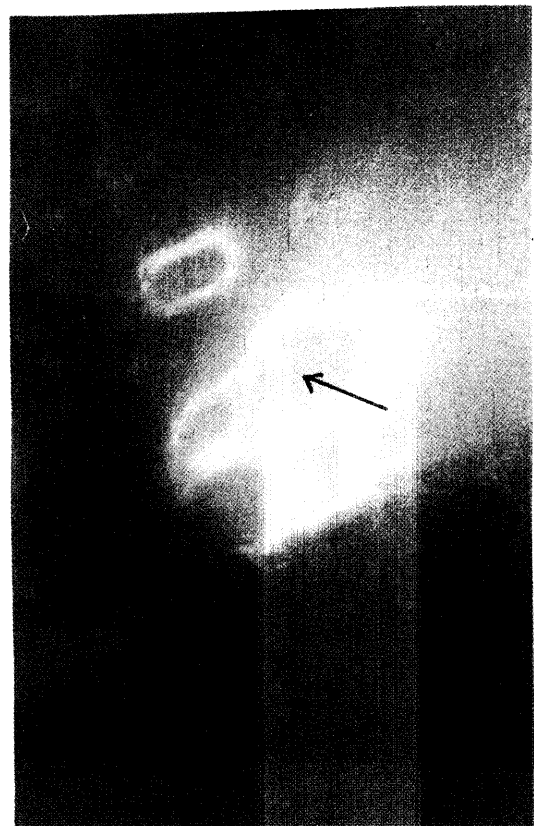
شکل ۱۴، (× ۱۲۵۰)



شکل ۱۳، (× ۸۶)



شکل ۱۶، (× ۲۹۰)



شکل ۱۵، (× ۴۸۰)

مقاطع عرضی بوته‌های آلوده در این تحقیق بود. انسداد در آوندها در مراحل پیشرفته آلودگی در بوته‌های بیمار مشاهده شد که با حساسیت کاهو نسبت به بیماری پژمردگی فوزاریومی همراه بود. انسداد آوندی در گیاهان میزبان در واکنش به بیماری پژمردگی فوزاریومی موز و پنبه (۶ و ۱۱) و نخود (۲۹) نیز گزارش شده است.

گوتوسکار و همکاران (۲۱) نشان داده‌اند که در بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی، همبستگی بالایی بین تغییر رنگ آوندی و انسداد عناصر آوندی وجود دارد. همچنین در خصوص تغییر رنگ سلول‌های پارانشیمی اطراف آوندی، تروچیلو (۳۳) در مورد پژمردگی فوزاریومی گیاهچه‌های موز نشان داده است که سلول‌های پارانشیمی اطراف دستجات آوندی، اغلب بدون اینکه مورد حمله‌ی عامل بیماری‌زا قرار گیرند، تغییر رنگ یافته می‌شوند. تغییر رنگ آوندی در فاصله‌ی نسبتاً زیادی جلوتر از قارچ عامل بیماری در مورد پژمردگی ورتیسلیومی نعنای مشاهده شده و به متابولیت‌های احتمالی عامل پژمردگی (مثل توکسین‌ها) نسبت داده شده است (۱۶).

مشاهدات انجام شده به وسیله‌ی میکروسکوپ فلورسانس بر روی مقاطع عرضی ریشه در عناصر آوندی آلوده که حاوی مواد ترکیبات غیرعادی و مشخص بودند، نشان داد که ضخامت دیواره و مقدار لیگنین در این عناصر نسبت به عناصر آوندی سالم کمتر است. کم بودن ضخامت دیواره‌ی لیگنینی به صورت کم بودن درخشش یا خاصیت فلورسانس این نمونه‌های بیمار شده با پتاس یک مولار معلوم شد. مطالعات دیویس و دیموند (۱۳) روی بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی نشان داد که سلول‌های لیگنینی شده در بوته‌های بیمار نسبت به بوته‌های سالم بسیار کم می‌باشد، اما

و نتیجتاً منجر به ظاهر شدن رنگ قهوه‌ای در ناحیه آوندی گردید. نتایج مشاهدات این مراحل، با نتایج مطالعه‌ی بیکن و زاروگیان (۹) تحت عنوان بیماری پژمردگی فوزاریومی گیاهچه‌های موز مطابقت دارد. گوتوسکار و همکاران (۲۱) عامل مکانیسم قهوه‌ای شدن را در ناحیه‌ی آوندی بوته‌های گوجه‌فرنگی آلوده به پژمردگی فوزاریومی، دخالت ترکیبات فنلی در جریان تنفس بیان کردند. همچنین نتایج کار دیویس و همکاران (۱۴) روی پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی، نشان داده که ترکیبات فنلی در شیرهای آوندی بوته‌های آلوده به فوزاریوم نسبت به بوته‌های سالم بیشتر و شیرهای آوندی بوته‌های بیمار پس از افزایش پلی‌فنل اکسیداز، قهوه‌ای بوده است. بیکن (۴) قهوه‌ای شدن آوندها را به عنوان علامت تشخیص بیماری‌های پژمردگی بیان می‌کند.

در مشاهدات میکروسکوپی مربوط به عناصر آوندی گیاهچه‌های آلوده وجود ترکیبات ژل و کالوز و همچنین وقوع تیلوز مشاهده و اثبات گردید. اگرچه ارتباط بروز این تغییرات بافت شناختی با دفاع میزبانی بعید به نظر نمی‌رسید، اما به مقاومت میزبان منجر نشد و با حساسیت میزبان کاهو همراه بود. در تحقیقات فراوان، ارتباط ژل‌ها، تیلوز و کالوز و نهایتاً انسداد آوندی با مقاومت و حساسیت بررسی شده و آنچه از نتایج اظهار شده‌ی محققین (۱، ۵، ۶، ۷ و ۸) استنباط می‌شود این است که تسریع یا تأخیر در تشکیل (سرعت تشکیل) آنها که در نهایت با دخالت واکنش‌های بیوشیمیایی به ایجاد انسداد در آوندها منجر می‌شود، می‌تواند تعیین‌کننده‌ی مقاومت یا حساسیت و به عبارتی مرز بین رقم مقاوم و حساس باشد.

وقوع انسداد آوندی در عناصر آوند چوبی، از تغییرات مهم هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در

اثرشان را روی میزبان اعمال کردند. بیکمن و هالموس (۶) با مشاهده‌ی اضمحلال بافت آوندی در ناحیه‌ی آوند چوبی اولیه و ثانویه در ریشه‌ی گیاهچه‌های موز آلوده به پژمردگی فوزاریومی، علت آن را اتساع و تکثیر سلول‌های پارانشیمی اطراف آوندهای آسیب‌دیده بیان نمودند و این تغییرات را با تولید مقادیر بالای اکسین مرتبط دانسته‌اند. گالستون و پوروس (۲۰) نیز اضمحلال آوندی را ناشی از دو فاکتور مرتبط با مقادیر بالای اکسین بیان کرده‌اند، (۱) فشارهای زیاد غیرعادی که به علت تکثیر و متسع شدن سلول‌های پارانشیمی وارد می‌شود، (۲) دیواره‌های آوندی را به‌خاطر لیگنینی نشدن کافی، نازک و ضعیف می‌گرداند.

در بررسی‌های بافتی مربوط به برگ گیاهچه‌های آلوده و سالم، تجمع ترکیباتی در قسمت‌های انتهایی رگبرگ‌های گیاهچه‌های آلوده (در حاشیه‌ی برگ و محل‌های آخرین انشعاب‌های رگبرگ) مشاهده گردید که باعث انسداد رگبرگ‌ها شده‌اند. باتوجه به جریان آوندی شیره‌های خام و پرورده‌ی گیاهی و رابطه‌ی دوجانبه‌ی آنها در نقطه‌ی انتهایی عناصر آوندی، به‌نظر می‌رسد که این انتقال با اختلال همراه و این انسداد از علایم اولیه هیستوپاتولوژیکی در بروز پژمردگی بوته‌ها باشد. باتوجه به عدم رشد قارچ در بافت گیاه و انسداد آوندی در رقم مقاوم *Green Mignonett*، لازم است بررسی‌های بیشتری برای تعیین موادی که موجب انسداد آوندی و آنزیم‌هایی که در تولید این مواد دخالت دارند انجام شود تا بتوان از نتایج به‌دست آمده در تولید ارقام مقاوم با روشهای جدید بیوتکنولوژی استفاده نمود.

References

1. Agrios GN (1997) Plant Pathology. Academic

آنزیم‌های تانیناز و لیگنیناز در شیرهی آوندی بوته‌های بیمار یافت نگردید. این پژوهشگران این علت را تغییر مسیر سنتز فنل‌ها از سنتز لیگنین به سنتز ملانین بیان می‌کنند. خاصیت فلورسانس لیگنین به‌وسیله محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (۲ و ۳). تغییر بافت شناختی دیگری که در مشاهدات بافتی در مقطع عرضی ریشه‌ی اغلب بوته‌های آلوده و بیمار کاهو مشاهده شد، اضمحلال و متلاشی شدن بخش قابل‌توجهی از سلول‌های دستجات آوندی بود. در این ناحیه، قارچ عامل بیماری مشاهده نشد و چنین استنباط گردید که مواد متابولیکی تولیدشده به‌خاطر برهمکنش قارچ و میزبان در نقاط مورد حمله و پوسیده و انتقال آنها به قسمت‌های بالاتر باعث تغییر و انهدام بافت‌های ناحیه‌ی آوندی شده است. تخریب، اضمحلال و یا فروریختگی بافتی در ناحیه‌ی بافت آوندی به‌خصوص بیماری‌های ناشی از فوزاریوم مانند پژمردگی فوزاریومی میخک، پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی و پژمردگی فوزاریومی تربچه مشاهده گردیده است (۱۲، ۳۰ و ۳۱).

پترسون و پوند (۳۱) در نتیجه مطالعه روی پژمردگی فوزاریومی تربچه، قهوه‌ای شدگی، اضمحلال و تخریب کورتکس را در بوته‌های بیمار تربچه در اثر واکنش فیزیولوژیکی احتمالی قارچ عامل بیماری در سیستم آوندی بیان کردند. چامبرز و گوردن (۱۲) حالت اضمحلال در سیستم آوندی را در ناحیه‌ی آوندهای تازه تشکیل شده در بوته‌های گوجه‌فرنگی مشاهده نمودند و با این نظر که: آوندهای اضمحلال‌یافته در بردارنده‌ی هیف نبودند، این پدیده را به متابولیت‌های قارچی یا میزبان نسبت دادند که به ناحیه‌ی جلوتر از قارچ عامل بیماری منتقل شدند و قبل از اینکه علائم آوندی دیگر مربوط به بیماری مشاهده شود

- Press. New York. U.S.A. 635 PP.
2. Angra Sharma R and Sharma PK (1994) Biochemical and histological studies on susceptible and resistant maize leaves infected by *Helminthosporium maydis*. Plant pathol. 43: 972-978.
 3. Baayen RP, Ouellette GB and Rioux D (1996) Compartmentalization of decay in carnations resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Phytopathology 86: 1018-1031.
 4. Beckman CH (1964) Host responses to vascular infection. Ann. Rev. Phytopathol. 2: 231-252.
 5. Beckman CH (1966) Cell irritability and localization of vascular infections in plants. Phytopathology 50: 821-824.
 6. Beckman CH, Halmos S (1962) Relation of vascular occluding reactions in banana roots to pathogenicity of root-invading fungi. Phytopathology . 52: 893-897.
 7. Beckman CH, Mace ME, Halmos S and McGahan W (1961) Physical barrier associated with resistance in Fusarium wilt of bananas. Phytopathology 51: 507-515.
 8. Beckman CH and Talboys PW (1981) Anatomy of Resistance. PP. 487-521. In: Fungal Wilt Diseases of Plants. Mace ME, Bell AA and Beckman CH (eds). Academic Press. New York, U.S.A.
 9. Beckman CH and Zaroogian GE (1967) Origin and composition of vascular gel in infected banana roots. Phytopathology 57: 11-13.
 10. Bruzess E and Hassan S (1983) A whole leaf clearing and staining technique for host specificity studies of fungi. Plant Pathol. 32: 335-358.
 11. Bugbee WM (1970) Vascular response of cotton to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Phytopathology 60: 121-123.
 12. Chambers HL and Corden ME (1963) Semiography of fusarium wilt of tomato. Phytopathology 53: 1006-1010.
 13. Davis D and Dimond AE (1954) Fusarium wilt symptoms. Phtopathology 44: 485-486. (Abstract).
 14. Davis D, Waggoner PE and Domond AE (1953) Conjugated phenols in the fusarium wilt syndrome. Nature 172: 959.
 15. Dehghani A (1998) studies on resistance of lettuce cultivars to fusarium wilt. MSc thesis, Tarbiat Modarres University. 136 PP.
 16. Dimond AE (1955) Pathogenesis in the wilt diseases. Ann. Rev. Plant. Physiol. 6: 329-350.
 17. Etebarian HR (1997) Vegetabale Diseases and their control. Tehran University publication. 554 PP. (in Farsi).
 18. Etebarian HR and Jadid Milani M (1998) Resistance and susceptibility of lettuce cultivars to fusarium wilt. Proceeding of 13th Plant protection Congress. Karaj, Iran. 172 P.
 19. Farkas GL and Kiraly Z (1962) Role of phenolic compounds in the physiology of plant disease and disease resistance. Phytopathol. Z. 44: 105-150.

20. Galston AW and Purves WK (1960) The mechanism of action of auxin. *Ann. Rev. Pl. physiol.* 11: 239-279.
21. Gothsokar SS, Scheffer RP, Walker JC and Stahmann MA (1955) The role of enzymes in the development of fusarium wilt of tomato. *Phytopathology* 45: 381-387.
22. Hood ME and Shew HD (1996) Applications of KOH-aniline blue fluorescence in the study of plant-fungal interactions. *Phytopathology* 86: 704-708.
23. Hooker WJ (1967) A microtome for rapid preparation of fresh sections of plant tissue. *Phytopathology* 57: 1126-1130.
24. Hubbard JC and Gerik JS (1993) A new wilt disease of lettuce incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucum* forma specialis nov. *Plant Dis.* 7: 750-754.
25. Jadid Milani M (1995) studies on cause of lettuce wilt in Tehran province. Msc Thesis, Tarbiat Modarres University. 167 PP.
26. Kuo KC (1961) A double stain method associated with safrain and cotton blue for plant histochemical studies. *Plant Protection Bulletin*, 33: 435 (Abstract).
27. Ludwig RA (1952) Studies on the physiology of hadromycotic wilting in tomato plant. MaceDonald College, McGill University, Montreal. *Techniques Bulletin*, No. 20.
28. Matta A, Gentile I and Gai I (1969) Accumulation of phenols in tomato plants infected by different forms of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 59: 512-513.
29. Pandey RN, Pawar SE and Bhatia CR (1997) Interaction between *Fusarium udum* and wilt susceptible and resistant pigeonpea genotypes: fungal growth and histopathology. *Indian Phytopathology* 50: 53-58.
30. Pennypacker BW and Nelson PE (1972) Histopathology of carnation infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Phytopathology* 62: 1318-1326.
31. Peterson JL and Pound GS (1960) Studies on resistance in raddish to *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*. *Phytopathology* 50: 807-816.
32. Stover RH (1957) Ecology and Pathogenicity studies with two widely distributed types of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. *Phytopathology* 47: 535. (Abstract).
33. Trujillo EE (1962) Pathological anatomical studies of Gros Michel banana affected by fusarium wilt. *Phytopathology* 53: 162-166.
34. Trujillo EE and Snyder WC (1963) Uneven distribution on *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* in Honduras soils. *Phytopathology* 53: 167-170.