فصلنامه‌ی تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال اول، شماره‌ی دوم، پاییز ۱۳۹۰
صص ۴۳-۳۳

شناسایی، پراکنش و بیماری‌زایی گونه‌های قارچ فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه‌ی طالبی و خربزه در استان خراسان رضوی

سمانه تیموری[۱]، کامران رهنما[۲]، محمد حاجیان شهری[۳]، حمید افضلی[۴]

چکیده

به‌منظور شناسایی و ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ فوزاریوم مرتبط با پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی طالبی و خربزه طی سال‌های زراعی۸۹-۱۳۸۸ از ریشه‌ها و بوته‌های دارای علائم بیماری از مزارع مختلف استان خراسان رضوی شامل شهرستان‌های مشهد، کاشمر، مه‌ولات، خواف، تربت جام، نیشابور، فریمان و سرخس نمونه‌برداری گردید. قطعات بافت‌های آلوده پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ روی محیط کشت PDA کشت داده شدند. پس از خالص‌سازی جدایه‌ها، اثبات بیماری‌زایی آنها با روش فرو بردن ریشه‌ی(Root dip) گیاهچه‌های ۱۲ روزه در سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر انجام شد. علائم بیماری پس از گذشت ۲۱-۴ روز ظاهر و در هر مورد جدایه‌ی تلقیح شده‌ی مورد نظر مجدداً جداسازی گردید. گونه‌های بیماری‌زای فوزاریوم شناسایی شده شامل *F. solani* ، *F. oxysporum* ،*F. equiseti* و *F. acuminatum* بودند که گونه‌ی اولی به‌عنوان گونه‌ی غالب بوده و از بیشترین فراوانی برخوردار بود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که قارچ‌های *F.equiseti* و *F.acuminatum* بیشتر از گیاهان بالغ جداسازی شدند. در حالیکه قارچ‌های *F.solani* و *F.oxysporum* از تمام مراحل رویشی گیاهان از گیاهچه تا میوه‌دهی قابل جداسازی بودند و در سراسر استان پراکنش وسیعی داشته و چندان تحت تأثیر شرایط آب و هوایی نیستند. چهار گونه‌ی فوق باعث پوسیدگی ریشه و طوقه در طالبی و خربزه شدند و پژمردگی و خشکیدگی این گیاهان را به‌دنبال داشتند که مسأله‌ای بسیار مهم در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فوزاریوم، طالبی و خربزه، پوسیدگی ریشه و طوقه، خراسان رضوی.

۱- .
۲- .
۳- .
۴- .
*نویسنده مسئول مقاله:

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

خانواده کدوئیان(Cucurbitaceae) شامل چندین گونه از گیاهان اقتصادی بسیار مهم شامل هندوانه (*Citrullus lanatus* L.)، کدو (*Cucurbita maxima* L.)، خیار (*Cucumis sativus* L.) و طالبی (*Cucumis melo* L.) می‌باشد(Ritschel *et al.*, 2004). در این خانواده، طالبی و خربزه از محصولاتی هستند که به‌علت طعم خوشایند و ارزش غذایی، میوه‌ی آنها در دنیا بیشتر مصرف می‌شود(Ismail *et al.*, 2010). این گیاهان دارای بتا کاروتن بالا، ویتامین A و C، پتاسیم و آب فراوان و ارزش گرمایی پایین هستند(Alvarado-Casillas *et al.*, 2007).

در سال‌های اخیر، افزایش بیماری‌های قارچی خاکزاد به این محصولات خسارت زیادی را تحمیل نموده است (Chilosi *et al.*, 2008). بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه به‌وسیله‌ی برخی از گونه‌های قارچی مثل *Fusarium* spp.، *Pythium* spp.، *Sclerotium rolfsii* و *Rhizoctonia solani* ایجاد می‌شود(Agrios, 2004). پژمردگی ناگهانی طالبی و خربزه Vine decline نیز از بیماری‌های مهمی است که در مناطق خشک و نیمه خشک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پژمردگی فوزاریومی طالبی و خربزه از خاورمیانه، ژاپن، تایوان، اروپا، جنوب آمریکا، کانادا، مکزیک و ایالت متحده گزارش شده است (Namiki *et al.*, 2000). بر اساس گزارشات، در اسرائیل جدایه‌های *F. solani* (Mart.) Sacc و *F. equiseti* (Corda) و *F. javanicum* Koord باعث پژمردگی در خیار، خربزه، هندوانه و کدوخورشتی (*Cucurbita pepo*) شده‌اند(Palti and Joffe, 1971). میزان نقش این فوزاریوم‌ها در پژمردگی آوندی در مزارع صیفی و نیز توزیع جغرافیایی آنها نامشخص است (Zitter *et al.*, 1998). گونه‌های فوزاریومی که باعث پژمردگی آوندی در کدوئیان در مناطق مختلف دنیا می‌شوند، *F.oxysporum*، *F.solani* و *F.proliferatum* هستند(Chehri *et al.*, 2010). صفرنژاد(۱۳۸۳) عوامل قارچی بوته‌میری کدوئیان در منطقه‌ی سیستان را گونه‌های *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*، *Macrophomina phaseolina*، *F.oxysporum* f.sp. *melonis* تشخیص داد که در این بین *M. phaseolina* مهم‌ترین عامل بوته‌میری کدوئیان در این منطقه بود.

استان خراسان رضوی به‌دلیل داشتن سطح زیرکشت وسیع طالبی و خربزه، یکی از استان‌های مهم کشور در تولید این محصولات بوده و جهت افزایش عملکرد، لازم است توجه جدی به این بیماری‌ها که هرساله خسارت زیادی را به کشت و تولید این محصولات وارد می‌کنند، مبذول نمود. آنچه به‌میزان چشمگیری باعث کاهش کمیت و کیفیت محصول در استان خراسان رضوی می‌گردد، بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* می‌باشد(Jahanbakhsh, 1998). تحقیق حاضر با هدف شناسایی، بررسی بیماری‌زایی و پراکنش فوزاریوم‌های مولد پژمردگی و پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی طالبی و خربزه درسطح مهم‌ترین مناطق کشت این محصولات در استان خراسان رضوی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و خالص سازی

از مزارع طالبی و خربزه در مناطق مختلف استان شامل شهرستان‌های مشهد، کاشمر، مه‌ولات، خواف، نیشابور، فریمان، تربت جام و آبروان(جاده سرخس) در دو فصل زراعی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ طی مراحل رویشی گیاهچه، گل‌دهی و میوه‌دهی بازدید به‌عمل آمده و از گیاهان بیمار با علایم مرگ گیاهچه، پوسیدگی طوقه و ریشه، پژمردگی و بوته‌میری ناگهانی نمونه‌برداری صورت گرفت. نسوج گیاهی در کیسه‌های پلاستیکی تمیز به آزمایشگاه منتقل و تا زمان بررسی در یخچال نگهداری شدند.

به‌منظور جداسازی عوامل بیماری‌زا، نسوج آلوده‌ی طوقه، ریشه و ساقه به‌مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در زیر جریان ملایم آب شستشو داده شدند. سپس قطعات حدود ۵-۳ میلی‌متر از حد فاصل بافت آلوده و سالم بریده شده، پس از ضدعفونی سطحی به‌مدت ۲-۳ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱٪ و شستشوی مجدد با آب مقطر سترون و خشک کردن بر روی کاغذ صافی سترون روی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار(PDA) اسیددار کشت گردیدند. خالص‌سازی این جدایه‌ها بر روی محیط کشت آب آگار ۲ درصد به روش تک اسپوری انجام شد(Hansen and Smith, 1932).

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی ریخت‌شناسی جدایه‌ها و شناسایی گونه‌های فوزاریوم

شناسایی جدایه‌ها براساس ویژگی‌های ظاهری از قبیل نحوه‌ی رشد پرگنه، شکل ماکروکنیدیوم، نحوه‌ی تشکیل میکروکنیدیوم، تشکیل یا عدم تشکیل کلامیدوسپور و وضعیت فیالیدها صورت گرفت. جهت تعیین میزان رشد روزانه از محیط کشت PDA و جهت تعیین خصوصیات مورفولوژیکی از محیط کشت برگ میخک-آگار (CLA)[1] استفاده گردید. تشخیص جدایه‌ها نیز براساس کلیدهای شناسایی معتبر صورت گرفت(Booth, 1971; Lesli and Summerell, 2006; Nelson *et al*., 1983).

بررسی بیماری‌زایی گونه‌ها

اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم با استفاده از روش فروبری گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور انجام شد (Risser *et al*., 1976). برای تهیه‌ی مایه تلقیح، از کشت ۵ روزه‌ی جدایه‌های کشت شده بر روی محیط PDA استفاده شد. از کشت خالص هر جدایه دو تا سه دیسک ۵ میلی‌متری به ارلن‌های حاوی محیط کشت PDB[2] (۲۰۰ گرم سیب زمینی، ۲۰ گرم قند دکستروز و یک لیتر آب مقطر) منتقل گردیدند. کلیه‌ی ارلن‌ها به مدت ۳-۴ روز روی دستگاه تکان‌دهنده با ۱۲۰ تکان در دقیقه در شرایط آزمایشگاه قرار گرفتند؛ سپس محتویات هر ارلن با استفاده از پارچه‌ی ململ سترون صاف شد و سوسپانسیون به‌دست آمده، به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. تعداد اسپورها در هر میلی‌لیتر از مایه‌ی تلقیح با استفاده از لام هموسایتومتر در حد 10^6 اسپور در میلی‌لیتر برای هر ایزوله سوسپانسیون تعیین گردید (Burger *et al*., 2003).

مایه‌زنی گیاهان

بذور طالبی(رقم سمسوری) و خربزه(رقم خاتونی) پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به‌مدت یک دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون، در خاک اتوکلاو شده کشت گردید و در اتاق حرارت ثابت با شرایط دمای ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه‌ی سانتی‌گراد در شب و تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. گیاهچه ها بعد از سبز شدن به آرامی از خاک خارج و پس از شستشوی قسمت ریشه با آب مقطر سترون، نصف طول ریشه به مدت ۷-۵ دقیقه درون مایه‌ی تلقیح با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر قرار گرفت. سپس گیاهچه‌های تیمار شده به گلدان‌های حاوی خاک سترون(شامل نسبت‌های مساوی خاک زراعی، شن و خاک برگ) منتقل شدند. در هر گلدان ۵ گیاهچه کشت گردید و هر دو روز یک بار آبیاری صورت می‌گرفت. برای هر جدایه ۳ تکرار(هر گلدان به‌عنوان یک تکرار) و برای گیاهچه‌های شاهد به‌جای سوسپانسیون اسپور از آب مقطر استریل استفاده شد. اولین علائم چهار روز بعد از تلقیح مشاهده گردید و یادداشت‌برداری از این زمان به‌مدت ۵ هفته، هر دو روز یک بار ادامه یافت. علائم حاصله در جدایه‌های *F. oxysporum* بر مبنای مشاهدات پرچپید و پیترات(Perchepied and Pitrat , 2004) به ۵ گروه تقسیم شدند(جدول ۱) و برای سایر گونه‌های فوزاریوم از شاخص چهار درجه‌ای(صفر=بدون بافت‌مردگی ریشه، یک=بافت‌مردگی اندک، دو=بافت‌مردگی متوسط، سه=بافت‌مردگی شدید) استفاده شد(Roy, 1997).

جدول ۱-گروه‌بندی علائم جدایه‌های *Fusarium oxysporum* در آزمون بیماری‌زایی

علائم	شاخص بیماری
بدون علائم	۱
زردی و پژمردگی کوتیلدون و برگ‌های اولیه	۲
زردی و پژمردگی در دو برگ اولیه	۳
زردی و پژمردگی در سه برگ یا بیشتر	۴
مرگ گیاهچه	۵

1- Carnation Leaf Agar
2- Potato Dextrose Broth

Archive of SID

www.SID.ir

در این بررسی، برای اثبات فرم اختصاصی *F.oxysporum* f. sp. *melonis* از خیار رقم(Super dimenous)، هندوانه رقم (Crimpson sweet)، طالبی(رقم سمسوری)، خربزه(رقم خاتونی) و نخود(رقم جم) استفاده گردید(Jacobson and Gordon, 1988). کلیه‌ی ارقام در شرایط گلخانه و در مرحله‌ی گیاهچه‌ای با سوسپانسیون اسپور جدایه‌های بیماری‌زای *F.oxysporum* به‌طور جداگانه و به روش ذکر شده در آزمون بیماری‌زایی مایه‌زنی شدند.

نتایج

تعداد ۴۴ جدایه‌ی قارچ فوزاریوم از گیاهان دارای علائم بیماری جداسازی شد که متعلق به ۴ گونه‌ی *F. solani*، *F. oxysporum*، *F. equiseti* و *F. acuminatum* بودند و از بین آنها، گونه‌ی *F. solani* به‌عنوان گونه‌ی غالب شناسایی شد (جدول ۲). مشخصات مربوط به گونه‌های مختلف در جدول ۳ بیان شده است.

جدول ۲- درصد فراوانی گونه‌های فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه‌ی طالبی و خربزه

گونه‌ها	درصد فراوانی	تعداد جدایه
Fusarium solani	۵۰	۲۲
F. oxysporum	۳۱/۸۲	۱۴
F. equiseti	۱۱/۳۶	۵
F. acuminatum	۶/۸۲	۳

جدول ۳- مشخصات مورفولوژیکی گونه‌های فوزاریوم جداسازی شده از ریشه و طوقه‌ی طالبی و خربزه

مشخصات	*F. solani*	*F. oxysporum*	*F. equiseti*	*F. acuminatum*
میکروکنیدی	فراوان در روی میسلیوم‌های هوایی، تک سلولی به ابعاد (۵/۵-۱۶/۵) ۱۱/۵ × (۳-۶) ۴/۵ میکرومترو گاهی دوسلولی، تخم مرغی تا کلیوی شکل به ابعاد (۱۳-۲۵) ۱۸/۵ × (۳-۵) ۴/۲ میکرومتر	فراوان در روی میسلیوم‌های هوایی، عموماً تک سلولی و گاهی دو سلولی، بیضی شکل، تخم مرغی و کلیوی شکل با ابعاد (۶-۱۱) ۸/۲ × (۲-۳) ۲/۳ میکرومتر	کم و یا نادر و در صورت وجود تخم مرغی شکل	کم و یا نادر و در صورت وجود تخم مرغی شکل
ماکروکنیدی	فراوان بر روی اسپوردوکیوم کرم و سبز مایل به آبی رنگ، دارای ۴ تا ۵ دیواره عرضی، کمی خمیده، دارای سلول انتهایی گرد و درشت و سلول پایه کمی فرورفته (پاشنه دار) با ابعاد (۵۰-۳۸) ۴۳/۵ × (۵-۳/۵) ۴/۵ میکرومتر	فراوان بر روی اسپوردوکیوم پرتقالی رنگ، دارای ۳ تا ۴ دیواره عرضی، داسی شکل، نسبتاً خمیده که به تدریج در دو انتها باریک می‌شدند و سلول انتهایی آن قلاب مانند بوده با ابعاد (۴۵-۲۵) ۳۴/۵ × (۵-۲/۵) ۳/۵ میکرومتر	بر روی اسپوردوکیوم نارنجی رنگ، داسی شکل دارای ۵-۴ دیواره به ابعاد (۵۱-۳۲) ۳۹ × (۵/۵-۳) ۳/۵ میکرومتر، دارای انحنا پشتی – شکمی مشخص و سلول پایه حالت پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی باریک و طویل	بر روی اسپوردوکیوم نارنجی رنگ، داسی شکل، دارای ۶-۳ دیواره عرضی به ابعاد (۵۰-۳۱) ۳۸ × (۴-۳) ۳/۵ میکرومتر
کنیدیوفور	مونوفیالیدهای طویل به طول ۱۲۰-۳۵ میکرومتر	منوفیالیدهای خیلی کوتاه به طول ۱۸-۷ میکرومتر	مونوفیالید	مونوفیالید
کلامیدوسپور	کروی تا تخم مرغی شکل به‌صورت منفرد و یا در زنجیره‌هایی دو تا سه تایی با ابعاد (۹-۷) ۷/۸ × (۱۴-۷) ۹/۵ میکرومتر	انفرادی یا دو تایی و به شکل‌های کروی تا بیضوی و با ابعاد (۱۱/۵-۷) ۸/۷ × (۱۶-۷/۵) ۱۱/۵ میکرومتر	زنجیری، منفرد یا جفتی به قطر (۱۳/۵-۸/۵) ۱۰/۵	انفرادی گاهی به صورت زنجیری به ابعاد (۱۲-۶) ۷/۵ × (۱۳/۵-۸/۵) ۱۰/۵
رنگ کلنی	شیری تا کرم رنگ برخی دارای رنگیزه قهوه‌ای	سفید تا صورتی و بنفش مایل به ارغوانی	ابتدا سفید و سپس کرمی قهوه‌ای یا قهوه‌ای تیره	ابتدا سفید و سپس کرمی قهوه‌ای و گاهی قرمز و یا زعفرانی رنگ

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون بیماری‌زایی

جهت انجام آزمون بیماری‌زایی، از ۱۴ جدایه‌ی *F. oxysporum* استفاده شد که در این آزمون، ۵ جدایه هیچ علائمی را روی طالبی و خربزه ایجاد نکرده و غیربیماری‌زا بودند. با توجه به جدول(۴)، جدایه‌های شهرستان‌های خواف و کاشمر دارای شدت بیماری‌زایی بیشتری بودند و علائم مرگ گیاهچه، زردی و پژمردگی شدید را نشان دادند. جدایه‌های شهرستان‌های مه‌ولات و فریمان علائم زردی و پژمردگی متوسط، جدایه‌های شهرستان‌های نیشابور و مشهد علائم زردی و پژمردگی خفیف را تولید کردند. اکثر جدایه‌های بیماری‌زا از ناحیه‌ی بالای طوقه، جداسازی شدند. از آن‌جایی که جدایه‌های بیماری‌زا فقط روی میزبان‌های طالبی و خربزه ایجاد بیماری کردند، در نتیجه فرم اختصاصی این قارچ *F. oxysporum* f.sp. *melonis* تشخیص داده شد.

جدول ۴- مقایسه‌ی شدت بیماری‌زایی جدایه‌های *F. oxysporum* در آزمون اثبات بیماری‌زایی

ردیف	کد جدایه	شهرستان	روستا	اندام گیاهی	شاخص بیماری
۱	FOM_1^*	مشهد	قرقی	ریشه	۱
۲	FOM_2	مشهد	برقی	طوقه	۲
۳	FOk_1	کاشمر	فرگ	ساقه	۴
۴	FOk_2	کاشمر	رزق آباد	ساقه	۵
۵	FOk_3	کاشمر	جردوی	ساقه	۴
۶	FOn_1	نیشابور	بلقشه	ریشه	۲
۷	FOn_2	نیشابور	بلقشه	ریشه	۱
۸	$FOKh_1$	خواف	سلامی	ساقه	۵
۹	$FOKh_2$	خواف	سلامی	ساقه	۴
۱۰	FOt_1	تربت جام	صالح آباد	طوقه	۱
۱۱	FOf_1	فریمان	جیم آباد	ساقه	۳
۱۲	FOm_1	مه‌ولات	شمس آباد	ساقه	۳
۱۳	FOm_2	مه‌ولات	همت آباد	ریشه	۱
۱۴	FOa_1	جاده سرخس	آبروان	طوقه	۱

***توضیحات= نام هر جدایه بر اساس نام اول شهرستانی که جداسازی صورت گرفته است، می‌باشد؛ به‌عنوان مثال: **FM1** = جدایه یک شهرستان مشهد.

از ۲۲ جدایه‌ی *F. solani* استفاده شده در این آزمایش، ۸ جدایه بیماری‌زا نبوده و هیچ‌گونه علائم پوسیدگی و نکروز ریشه و طوقه را نشان ندادند. سایر جدایه‌ها پس از گذشت ۱۲-۱۰ روز علائم زردی و پژمردگی ناگهانی را نشان دادند که پس از بررسی ناحیه‌ی ریشه و طوقه‌ی آنها، پوسیدگی این نواحی مشاهده گردید. در ارزیابی شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها، درجات مختلف بیماری‌زایی از شدید تا ضعیف مربوط به شهرستان‌های مختلف دیده شد(جدول ۵). بیشترین جداسازی این قارچ از ناحیه‌ی ریشه بود که نشان‌دهنده‌ی فعالیت بیشتر این‌گونه در این قسمت گیاه می‌باشد. غیر بیماری‌زا بودن برخی جدایه‌ها در شرایط گلخانه، ممکن است به‌دلیل مقاومت رقم طالبی و خربزه‌ی مورد استفاده در آزمون بیماری‌زایی، متعلق بودن به سایر فرم‌های اختصاصی پاتوژن و یا ساپروفیت بودن آنها باشد. در رابطه با گونه‌های دیگر، کلیه‌ی جدایه‌های مربوط به گونه‌های *F. equiseti* و *F.acuminatum* در آزمایش بیماری‌زایی علائم پوسیدگی شدید ریشه و طوقه را نشان دادند و درنهایت باعث خشکیدگی و پژمردگی بوته‌ها شدند. در تیمارهای شاهد نیز هیچ نوع علائم بیماری مشاهده نشد. این گونه‌ها بیشتر از گیاهان بالغ جداسازی گردیدند، در حالی‌که گونه‌های *F. solani* و *F. oxysporum* از تمام مراحل رویشی گیاهان از گیاهچه تا میوه‌دهی قابل جداسازی بودند(شکل ۱).

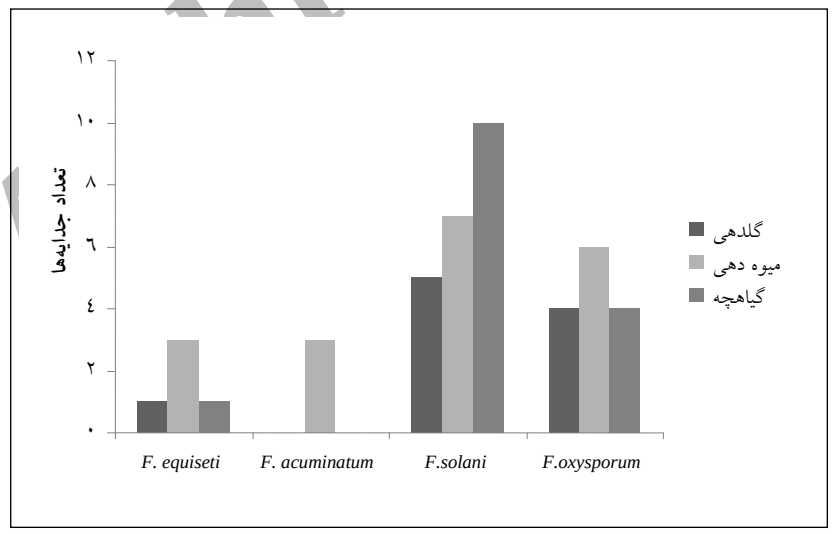
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- مقایسه‌ی شدت بیماری‌زایی *F. solani* براساس شاخص ۴ درجه‌ای(روی، ۱۹۷۷)

ردیف	کد جدایه	شهرستان	روستا	اندام گیاهی	شاخص بیماری
۱	FSM_1	مشهد	قرقی	ریشه	صفر*
۲	FSM_2	مشهد	قرقی	ریشه	۱
۳	FSM_3	مشهد	برقی	طوقه	۳
۴	FSM_4	مشهد	طرق	ساقه	صفر
۵	FSN_1	نیشابور	بلقشه	ریشه	۱
۶	FSN_2	نیشابور	کارجیج	ریشه	۳
۷	FSN_3	نیشابور	قبد	ریشه	صفر
۸	FSK_1	کاشمر	تربقان	ریشه	صفر
۹	FSK_2	کاشمر	تربقان	طوقه	۳
۱۰	FSK_3	کاشمر	جردوی	ریشه	صفر
۱۱	FSK_4	کاشمر	فرگ	طوقه	۲
۱۲	FSK_5	کاشمر	رزق آباد	طوقه	۳
۱۳	$FSKh_1$	خواف	سلامی	ریشه	۱
۱۴	$FSKh_2$	خواف	سلامی	طوقه	صفر
۱۵	FSa_1	جاده سرخس	آبروان	طوقه	صفر
۱۶	FSa_2	جاده سرخس	آبروان	ساقه	۲
۱۷	FSm_1	مه‌ولات	شمس آباد	ریشه	۳
۱۸	FSm_2	مه‌ولات	شمس آباد	ریشه	۲
۱۹	FST_1	تربت جام	نصر آباد	ریشه	صفر
۲۰	FST_2	تربت جام	صالح آباد	طوقه	۳
۲۱	FSF_1	فریمان	قلندرآباد	طوقه	۲
۲۲	FSF_2	فریمان	جیم آباد	ریشه	۱

*توضیحات = علائم بیماری شامل صفر= غیر بیماری‌زا، ۱= نکروز اندک ریشه و طوقه، ۲= نکروز متوسط ریشه و طوقه، ۳= نکروز شدید ریشه و طوقه.



شکل ۱- جداسازی گونه‌های فوزاریوم طی مراحل رویشی طالبی و خربزه

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۲- علائم بیماری در گیاهان آلوده به *F. oxysporum f.sp. melonis*. جمع آوری شده از مزرعه الف) زردی و پژمردگی. ب) رنگ پریدگی آوند در ناحیه طوقه و ساقه.

شکل ۳- الف) علائم پژمردگی و زردی در گیاهان مایه‌زنی شده با *F. solani* پس از ۱۲ روز (سمت چپ) در مقایسه با شاهد (سمت راست). ب) چوب پنبه‌ای شدن ناحیه طوقه و ترشح صمغ قرمز رنگ در اثر *F. solani*

بحث

اگرچه تاکنون در ایران تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌ی گونه‌های جنس فوزاریوم بر روی میزبان‌های مختلف صورت گرفته است؛ ولی جداسازی و بررسی بیماری‌زایی گونه‌های این قارچ از طالبی و خربزه در این تحقیق برای اولین بار انجام شده است. وقوع پژمردگی ناگهانی طالبی و خربزه(vine decline) در مناطق خشک و نیمه خشک، مسئله‌ای بسیار مهم است که باعث پژمردگی گیاه به‌خصوص در هنگام میوه‌دهی و از بین رفتن محصول می‌شود. فوزاریوم‌های مولد پژمردگی آوندی از مزارع کشورهای مختلف گزارش شده و در اغلب مناطق کشت صیفی‌جات در جهان دیده شده‌اند(Zitter *et al*., 1998). مهم‌ترین نشانه‌ی آلودگی پژمردگی فوزاریومی، نکروزه شدن و رنگ پریدگی سیستم آوندی به‌ویژه در ریشه‌ی اصلی، طوقه و پایین ساقه است(شکل ۲). علائم بیماری مشاهده شده در مزارع طالبی و خربزه در مناطق مختلف استان خراسان رضوی در این تحقیق بیشتر شامل پژمردگی، خشکیدگی و پوسیدگی در ریشه‌ها بود. در بین گونه‌های فوزاریوم گزارش شده در کدوئیان آلوده، مهم‌ترین گونه‌ها *F. oxysporum* و *F. solani* f. sp. *cucurbitae* می‌باشند که به‌ترتیب باعث پژمردگی فوزاریومی و پوسیدگی فوزاریومی پایه و طوقه می‌گردند(Punja *et al*., 2001). گونه‌های دیگر فوزاریوم به‌عنوان مهاجم ثانویه روی بافت‌های میوه و ساقه گزارش شده‌اند. در اسرائیل *F.solani* و *F.equiseti* از جمله عوامل ایجادکننده‌ی پژمردگی ناگهانی در طالبی گزارش شده‌اند که باعث چوب پنبه‌ای شدن ناحیه‌ی طوقه و ابتدای ساقه(شکل ۳) و همچنین ترشح صمغ قرمز رنگ در این ناحیه می‌شوند(Eyal and Cohen, 1986). همان‌طور که ذکر شد، قارچ *F.solani* بیشترین درصد فراوانی را در بین قارچ‌های فوزاریومی به‌دست آمده در این بررسی را دارا بود و به‌نظر می‌رسد که این گونه نقش مهمی در کاهش محصول در

Archive of SID

www.SID.ir

سراسر استان را داشته باشد. گونه‌ی اشاره شده از جمله قارچ‌های بیماری‌زایی است که از نقاط مختلف دنیا به‌عنوان عامل پوسیدگی شناسایی شده است. این گونه در ایران به‌عنوان یکی از عوامل پوسیدگی ریشه و طبق پیاز(Behroozin and Assadi, 1994)، عامل پوسیدگی سیاه ریشه‌ی نخود(Karampour and Hejaroud, 1993)، پوسیدگی ریشه‌ی گندم (Zare and Ershad, 1997)، پوسیدگی خشک سیب زمینی(Sharifi *et al*., 2008)، مرگ گیاهچه‌ی حبوبات(Gerlach and Nirenberg, 1982) و مرگ نونهال‌های سوزنی برگ(Herfehdoust *et al*., 2009) معرفی شده است.

F. oxysporum یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس فوزاریوم بوده که از نظر اقتصادی در کشاورزی بسیار مهم می‌باشد. این گونه دارای میزبان‌های بسیار زیادی است(Hanson *et al*., 1995). در ایران این قارچ به‌عنوان عامل پژمردگی آوندی، مرگ گیاهچه و پوسیدگی طوقه و ریشه در میزبان‌های مختلفی از جمله سبزیجات، موز و خرما معرفی شده است(Burgess *et al*., 1994). این قارچ در تمامی مراحل رشد گیاه(به‌خصوص مرحله‌ی گیاهچه‌ای و مرحله‌ی رسیدگی میوه) خسارت‌زا می‌باشد. مهم‌ترین قسمت گیاه که می‌توان قارچ را از آن جدا نمود، طوقه و ۱۰-۸ سانتی‌متری بالای طوقه است. در این گونه، اختصاصی بودن میزبان به میزان زیادی وجود دارد و بیماری‌زایی محدود به یک میزبان یا گونه‌های خیلی نزدیک به آن می‌باشد. *F.oxysporum*.f. sp.*melonis* یکی از صد فرم اختصاصی گونه‌ی *F.oxysporum* می‌باشد که بر روی خربزه و طالبی بیماری‌زا است.

جدا شدن گونه‌های *F.solani* و *F. oxysporum* از شهرستان‌های تربت جام، فریمان ، نیشابور ، خواف، کاشمر، مه ولات و مشهد که دارای اقلیم آب و هوایی متفاوت هستند، نشان‌دهنده‌ی این مطلب است که این گونه‌ها توانایی لازم جهت پراکنش و بیماری‌زایی بالا روی گیاهان طالبی و خربزه در سراسر استان خراسان رضوی را دارند و چندان تحت تأثیر شرایط آب و هوایی نمی‌باشند و قادرند خود را با طیف وسیعی از دما و رطوبت تطابق دهند.

F. equiseti از شهرستان‌های تربت جام، نیشابور و کاشمر جداسازی شد. این گونه پراکنش جهانی داشته و از ریشه، طوقه، ساقه، برگ و دیگر بخش‌های تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی جدا شده است(Gerlach and Nirenberg, 1982). این قارچ به‌عنوان عامل مولد بیماری در طالبی(Adams *et al*., 1987)، پنبه(Chimbekujwo, 2000)، زیره سبز(Reuveni, 1982)، سیب زمینی(Rai, 1979) و لوبیا چشم بلبلی(Aigbe and Fawole, 1999) گزارش شده است. این گونه باعث آلودگی ریشه و طوقه، پوسیدگی بذر، غده و میوه شده و از ریشه‌های بیمار مارچوبه و گندم نیز جداسازی شده است (Strausbaugh *et al*., 2005; Vujanovic *et al*., 2006). در ایران این گونه از طوقه و ریشه‌ی خربزه و طالبی توسط میرطالبی و بنی‌هاشمی(۲۰۱۰) جداسازی گردیده است و به‌عنوان عامل اصلی پوسیدگی خشک سیب زمینی نیز در استان اردبیل اهمیت دارد(Sharifi *et al*., 2008).

F. acuminatum به‌عنوان عامل پوسیدگی ریشه، طوقه، طبق و غده‌ی تعداد زیادی از گیاهان از جمله گندم، پیاز و سیب زمینی معرفی شده است(Sharifi *et al*, 2008). این گونه را قبلاً حاجیان و عبادی(۲۰۰۸) نیز از بذور خربزه جدا کرده و به‌عنوان عامل بوته‌میری گزارش نموده‌اند. در این بررسی، تعداد جدایه‌های این گونه بسیار محدود بوده و بیشتر از مزارع خربزه و طالبی اطراف مشهد جداسازی گردید.

با توجه به نتایج این تحقیق مبنی بر وجود گونه‌های مختلف فوزاریومی با قدرت بیماری‌زایی متفاوت، به‌کارگیری روش‌های مدیریت بیماری ضروری به‌نظر می‌رسد و همچنین مشخص شد که طالبی و خربزه در تمام فصل رویش در معرض حمله‌ی بیمارگرهای ***F. solani*** و ***F. oxysporum*** بوده و این قارچ‌ها نقش مهمی در کاهش این محصولات در سراسر استان داشته است. بنابراین بررسی مقاومت ارقام و شناسایی ارقام مقاوم و متحمل علیه این عوامل قارچی امری ضروری و الزامی است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری و مساعدت‌های جناب آقای دکتر کریمی و بخش گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی تشکر و قدردانی می‌گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

References:

1. Adams G C, Gubler W D and Grogan R G. 1987. Seedling disease of muskmelon and mixed melons in California caused by *Fusarium equiseti*. Plant Disease 71(4): 370–374.
2. Agrios G N. 2004. Plant pathology 4th edit. Academic Press. India. 635 p.
3. Aigbe S O and Fawole B. 1999. A cowpea seed rot disease caused by *Fusarium equiseti* identified in Nigeria. Plant Disease 83: 964.
4. Alvarado-Casillas S, Ibarra-Sa´ nchez S, Rodrı´guez-Garcı´a O, Martı´nez-Gonza´ les N and Castillo A. 2007. Comparison of rinsing and sanitizing procedures for, reducing bacterial pathogens on fresh cantaloupes and bell peppers. Journal of Food Protect 70: 655–660.
5. Behroozin M and Assadi P. 1994. Report on three *Fusarium* species as the causal agents of the basal and root rot of onion and their distribution in East Azarbiajan. Iran. Plant Pathology 300: 41-49.
6. Booth C. 1971: the genus *Fusarium* . CMI, Kew, Surrey England 237 p.
7. Burger Y, Katzir N, Tzuri G, Portnoy V, Saar U, Shriber S, Perl- Treves R and Cohen R. 2003. Variation in the response of melon genotypes to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1 determinated by inoculation tests and molecular markers. Plant Pathology 52: 204-211.
8. Burgess L W, Summerell B A, Bullock S, Gott K and Backhouse D. 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* Research, 3rd ed. University of Sydney. 134 p.
9. Chehri K, Abbasi S, Reddy KRN and Salleh B. 2010. Occurrence and pathogenicity of various pathogenic fungi on cucurbits from Kermanshah province, Iran. African Journal of Microbiology Research 4 (12): 1215-1223.
10. Chilosi G, Reda R, Aleandri M P, Camele I, Altieri L, Montuschi C, Languasco L, Rossi V, Agosteo G.E, Macrì C, Carlucci A, Lops F, Mucci M, Raimondo M L and Frisullo S. 2008. Fungi associated with root rot and collapse of melon in Italy. Journal compilation. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 38:147–154.
11. Chimbekujwo IB. 2000. Frequency and pathogenicity of Fusarium wilts (*Fusarium solani* and *Fusarium equiseti*) of cotton (*Gossypium hirsutum*) in Adamawa in Nigeria. Revista de Biologia Tropical 48:1–5.
12. Eyal H and Cohen Y. 1986. Sudden wilt in muskmelon. (abstract). A continuing challenge.Phytoparasitica14: 251.
13. Gerlach Wand Nirenberg H. 1982. The genus *Fusarium*- A pictorial Atlas. Heff 209, Mit.Boil. Bundesanst. Land-Forstwirtsch. Berlin- Dahlem 406 p.
14. Hajiyan Shahri M and Ebadi A. 2008. Seedborne pathogenic *Fusarium* species on melon. (abstract). In: Proceedings of the 18th Iranian plant protection congress, University of Hamedan, Iran. P. 207.
15. Hansen HN and Smith RE. 1932. The mechanisms of variation in imperfect fungi *Botrytis cinerea* Phytopathology 37: 369-371.
16. Hanson LE, Schwager SJ and Loria R. 1995. Sensitivity to Thiabendazole in *Fusarium* species associated with dry rot of potato. Phytopathology 86: 378-384.
17. Herfehdoust F, Rostami Shahraji T, Qhodskhah M and Khodaparast A. 2009 Investigation on agent conifer damping off in the forest nursery of Laka. Iranian Journal of Forest and Polar Research 17(2):263-271.
18. Ismail HI, Chan KW, Mariod AA and Ismail M. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*cucumis melo*) methanolic extracts. Food Chemistry 119:643–647.

www.SID.ir

19. Jacobson DJ and Gordon TR. 1988. Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. Phytopathology 78: 688-672.
20. Jahanbakhsh V. 1998. Investigation foot and root rot of honeydew melon in Khorasan provinces. M. Sc. Thesis submitted to the College of Agriculture, University of Firdausi Mashhad. 95 p.
21. Karampour F and Hejaroud G A. 1993. *Fusarium solani* as the chickpea black root rot agent in Iran. Iran J. Plant Patholog, 29: 147-148.
22. Lesli J F and Summerell B A. 2006. The Fusarium Laboratory manual. Black well publishing. 388p.
23. Mirtalebi M and Banihashemi Z. 2010. Isolation and pathogenicity of some Fusarium species isolated from crown and root of melon. (abstract). In: Proceedings of the 19th Iranian plant protection congress, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran. P. 151
24. Namiki F, Shimizu K, Satoh K, Hirabayashi T, Nishi K, Kayamura T and Tsuge T. 2000. Occurrence of the *Fusarium oxysporum* f.sp *melonis* race 1 in Japan. Journal of General Plant Pathology 66: 12-17.
25. Nelson PE, Toussoun TA and Marasas WFO. 1983 .*Fusarium* species: An Illastrated Manual for identification. Pennsylvania State Univ. Press 193 p.
26. Palti J and Joffe AZ. 1971. Causes of the Fusarium wilts of cucurbits in Israel and conditions favoring their development. Phytopathology 70: 31-42.
27. Perchepied L and Pitrat M. 2004. Polygenic Inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1,2 in melon. Phytopathology 94: 1331-1336.
28. Punja ZK, Parker M and Elmhirst J F. 2001. Fusarium wilt of field-grown muskmelon in British Columbia. Canadian Journal of Plant Pathology 23: 403-410.
29. Rai RP. 1979. *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. Causing dry rot of potato tubers – New report. Current Science 48(23): 1043–1045.
30. Reuveni R. 1982. *Fusarium equiseti* – A new cause of cumin spice plant wilt in Israel. Plant Disease 66(6): 498–499.
31. Risser G, Banihashemi Z and Davis DW. 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. Phytopathology 66:1105-1106.
32. Ritschel PS, Lins TC, Rodrigo Lourenço Tristan RL, Buso GS, Buso JA and Ferreira ME. 2004. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.). BMC Plant Biology 4: 9.
33. Roy K W. 1997. *Fusarium solani* on soybean roots: Nomenclature of the causal agent of sudden death syndrome and identity and relevance of *F. solani* form B. Plant Disease 81: 259-266.
34. Safarnezhad MR. 2004. Investigation root rot of cucurbits in Sistan region. Proceeding of 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran: P 262.
35. Sharifi K, Zare R, Zamanizadeh HR and Arjmandiyan A. 2008. *Fusarium* species causing dry rot of potatoes in Ardabil, Tehran and Hamedan Provinces. Plant pests and diseases 76(2): 93-113.
36. Strausbaugh C A, Overturf K and Koehn, A. C. 2005. Pathogenicity and real-time PCR detection of *Fusarium* spp. in wheat and barley roots. Canadian Journal of Plant Pathology 27:430–438.
37. Vujanovic V, Hamel C, Yergeau E and St-Arnaud M. 2006. Biodiversity and biogeography of *Fusarium* species from northeastern North American asparagus fields

www.SID.ir

based on microbiological and molecular approaches. Microbial Ecology 51(2):242–255.
38. Zare R and Ershad D. 1997. *Fusarium* species isolated from cereals in Gorgan area. Iran. Plant Pathology 33: 1-14.
39. Zitter TA, Hopkins DL and Claude ET. 1998. Compendium of cucurbit diseases. 284 P.