شناسایی نژادهـای غـالب *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* در بخش‌های هم‌جوار از استان‌های تهران و سمنان

Identification of dominant races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in neighboring parts of Tehran and Semnan provinces

فرشته عابدلو[۱]، مژده ملکی[۲*]، داریوش شهریاری[۳] و ندا خردپیر[۲]

دریافت: ۱۴۰۲/۷/۲۹ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۲۶

چکیده

پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی با عامل *Fusarium oxysporum*. f. sp. *melonis* یکی از بیماری‌های بذر و خاکزاد خربزه و طالبی است. طغیان این بیماری می‌تواند تا صددرصد سبب خسارت محصول خربزه و طالبی شود. بیشترین خسارت معمولاً بعد از ظهور گل و تشکیل میوه ظاهر می‌شود که باعث زردی، توقف رشد، پژمردگی و مرگ بوته‌ها می‌گردد. روش‌های کنترل شیمیایی یا ترکیبات بیولوژیک به تنهایی در کاهش بیماری با موفقیت چندانی همراه نبوده است. از این‌رو، در این تحقیق به شناسایی جدایه‌های این بیمارگر در شهرستان‌های هم‌جوار استان‌های تهران و سمنان پرداخته شد و سپس سطح بیماری‌زایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور نمونه‌برداری از بوته‌های آلوده از مناطق مختلف کشت خربزه و طالبی در مزارع شهرستان ورامین، ایوانکی و گرمسار انجام گرفت و قارچ بیمارگر جداسازی و خالص‌سازی شد. بررسی قدرت بیماری‌زایی و تعیین نژاد جدایه‌ها با استفاده از ارقام افتراقی بر اساس الگوی پنج شماره‌ای انجام شد. در این بررسی جدایه‌های طغان FO-VA-25 و شه‌سفید FO-SH-69 به ترتیب از ورامین و گرمسار با شاخص شدت بیماری ۹/۷۱ و ۹/۲۴ بیشترین توان بیماری‌زایی در بین ۱۵ جدایه مورد بررسی داشتند و تحت نژاد ۱ شناسایی شدند.

واژگان کلیدی: *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*، ایزوله، نژاد، ورامین، گرمسار، ایوانکی

مقدمه

بیـماری پژمـردگی فـوزاریـومی خربزه و طـالبـی اولیـن بار در سال ۱۹۳۰ از ایالت‌هـای نیـویورک و مینه‌سوتا گزارش شد (Sherf and Mac Nab, 1986). در حال حاضـر این بیمـاری در منـاطـق وسیـعی از جهان از جـمله ایتالیا (Belisario *et al.*, 2000)، آمریکای شمالی و مرکزی (Zuniga *et al.*, 1997)، اروپا (Tello Marquina and Gomez Vazques, 2000)، آسیا (Erzurum *et al.*, 1999) و همچنین آفریقا (Schreuder *et al.*, 2000) شیوع دارد. عامل این بیماری در بین سایر عوامل خاکزادی که باعث پژمردگی‌های آوندی می‌شوند، از اهـمیـت زیادی برخوردار است (Garrett, 1960, 1970). در بعضی از مزارع ممکن است ۵۰ درصد بوته‌ها در هفته‌های اول رشد از بین بروند. در نواحی مرکزی ایالت مینه‌سوتا در بعضی سال‌ها میزان خسارت روی خربزه، ۹۰ تا ۱۰۰ درصد مشاهده شد. بیمارگر با الگوی پراکنش غیر یکنواخت و تصادفی در نواحی پرورش خربزه وجود دارد. فوزاریوم عامل این بیماری به ارقام دیگری از قبیل گرمک و خیار چنبر نیز حمله می‌کند؛ اما روی هندوانه، کدو و کدوتنبل مشاهده نشده است (بنی‌هاشمی، ۱۳۶۸).

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، داتشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران

۲- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، داتشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران

۳- ا ستادیار، بخش تحقیقات گیاه‌پز شکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیع ا ستان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ورامین، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: mojdehmaleki@yahoo.com

در ایران اولین بار در سال ۱۳۴۴ عامل بیماری، از روی خربزه از حومه مشهد در استان خراسان رضوی جداسازی گردید (Banihashemi, 1968) و روی ارقام *C. melo* اثبات بیماری‌زایی شد. عامل بیمارگر قارچی است خاکزی با نام علمی *Fuarium oxysporum* f. sp *melonis* (Schlectend: Fr. W.C. Snyder and H.N. Hansen) که به گیاهان متعددی از گونه *Cucumis melo L.* مانند گرمک و خیار چنبر نیز حمله می‌کند. فرم مخصوص جداگانه‌ای مسئول پژمردگی فوزاریومی هندوانه و خیار است. چهار نژاد فیزیولوژیک صفر، ۱، ۲ و ۱-۲ قارچ بر اساس وجود یا عدم وجود ژن‌های مقاومت میزبانی Fom-1 و Fom-2 با استفاده از ارقام افتراقی شناسایی شده است (Gerlach and Blok, 1988). Fom-1 و Fom-2 ژن‌های مسئول مقاومت به *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* در خربزه و طالبی‌اند. ژنFom-1 مسئول بروز مقاومت در نژادهای صفر و ۲ و ژن Fom-2 مسئول بروز مقاومت در نژاد صفر و ۱ هستند. نژاد صفر در ژنوتیپ‌هایی از melon که فاقد ژن‌های مقاومت Fom هستند، ایجاد بیماری می‌کند (Zink, 1992).

شناخت نژادهای Fom در معرفی رقم مناسب جهت مدیریت بیماری از ضروریات است. بنی‌هاشمی و زیوو ضمن مقایسه جدایه‌های Fom از استان خراسان رضوی، شمال آمریکا و جنوب کانادا با استفاده از ارقام افتراقی، جدایه‌های استان خراسان را متعلق به نژاد ۲ و جدایه‌های آمریکای شمالی را نژاد ۴ معرفی نمودند (Banihashemi and Zeeuw, 1975)؛ سپس نژادهای صفر، ۱، ۱-۲ و ۲ Fom شناسایی شد (Risser *et al.*, 1976). بر این اساس نژادهای قبلی ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب به نژادهای صفر، ۱، ۲، ۱-۲ تغییر یافت (بنی‌هاشمی، ۱۳۶۱). نژاد ۱ ابتدا از مشهد (Banihashemi, 1968) و گرمسار (بنی‌هاشمی، ۱۳۶۱) و نژاد ۱-۲ از فارس و اصفهان گزارش شدند. با توجه به اینکه مهم‌ترین روش مدیریت بیماری، استفاده از ارقام متحمل و یا مقاوم به بیماری است (Zuniga *et al.*, 1997)، تلاش‌های زیادی برای دست‌یابی به منابع مقاومت در توده‌های بومی و خارجی *C. melo* به نژاد صفر و ۱-۲ انجام شد (بنی‌هاشمی، ۱۳۶۱؛ Banihashemi and de Zeeuw, 1975)؛ با این حال تاکنون مقاومت کامل نسبت به نژاد ۱-۲ به‌دست نیامده است. در ایران تاکنون مطالعات محدودی در مورد بررسی تنوع ژنتیکی Fom انجام شده است. به‌علت اهمیت این بیماری در شمال استان‌های خراسان رضوی تشخیص نژاد و پراکندگی ژنوتیپی بیمارگر به‌وسیله چند رقم از گیاهان میزبان و نشانگر مولکولی RAPD مشخص شد (Shafagh *et al.*, 2008). طبق یافته¬های Mirtalebi *et al.* (2013)، از بین ۴۱ جدایه قارچ Fom حاصل از شش استان اصلی تحت کشت خربزه، ۳۴ سویه به نژاد ۱،۲ متعلق بوده و هفت سویه باقیمانده را غیربیمارگر معرفی کردند.

زیست‌شناسی مولکولی، ابزارها و روش‌های قدرتمند جدیدی را به همراه آورده که باعث تشخیص تنوع ژنتیکی بین استرین‌های *F. oxysporum* شده است؛ مانند RAPD، RLFP و AFLP که روش RAPD به دلیل مزیت‌هایی مانند نیاز به زمان کوتاه برای تشخیص تنوع ژنتیکی، برای مطالعه روی فوزاریوم‌ها مفید است (Lal and Datta, 2012). در مطالعه‌ای، تنوع ژنتیکی *F. oxysporm* روی خیار بر اساس تفاوت‌های بیماری‌زایی، سازگاری رویشی و نشانگر RADP مشخص شد که این سه مشخصه در جداسازی ایزوله‌های *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* از جدایه‌های *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* مؤثرتر بودند و آنالیز داده‌های PAPD دو ایزوله بالا را در دو گروه فیلوژنیک متفاوت قرار داد (Vakalounakis and Fragkiadakis, 1999).

نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (FOL) بر پایه نشانگرهای PAPD و AFLP نشان داد که تفاوت کوچک ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف این بیمارگر وجود داشت؛ همچنین مشخص شد ارتباط آشکاری بین این تنوع ژنتیکی و منطقه جغرافیایی و بیماری‌زایی آن وجود نداشت (Belabid *et al.*, 2003).

به دلیل اهمیت و شیوع گسترده بیماری پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی در مناطق هم‌جوار در استان‌های تهران و سمنان، نیاز به جمع‌آوری اطلاعات بنیادین و شناخت ویژگی‌های جدایه‌های بیمارگر شایع در منطقه احساس می‌شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی جدایه‌های *F. oxysporum* f. sp. *melonis* شایع در شهرستان‌های ورامین، گرمسار و ایوانکی با هدف شناسایی شایع‌ترین و بیماری‌زاترین جدایه و پس از آن تعیین نژاد غالب در این مناطق است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

در تابستان ۱۳۹۷، از بوته‌های آلودهٔ خربزه و طالبی از مزارع مختلف در شهرستان ورامین در استان تهران و شهرستان‌های ایوانکی و گرمسار در استان سمنان نمونه‌برداری صورت گرفت. بوته‌های آلوده دارای علایم بیماری زردی و پژمردگی برگ‌ها و جوانه انتهایی و همچنین تغییر رنگ آوندهای چوبی به قهوه‌ای بودند. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، درون کیسه‌های نایلونی با ثبت برچسب مشخصات به آزمایشگاه منتقل شدند. ایستگاه‌های نمونه‌برداری شامل ایستگاه مرکز تحقیقات کشاورزی ورامین، جوادآباد، طغان، داورآباد، رستم‌آباد، شه‌سفید، خاوه و ایوانکی بودند.

نمونه‌های طوقه و ساقه گیاهان آلوده، با آب جاری شستشو و قطعات ۰/۵ سانتی‌متری از آن، جدا شد. پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلرید سدیم ۰/۵ درصد، در سه مرحله، با آب مقطر استریل شستشو گردیدند. پس از خشک شدن نمونه‌ها روی کاغذ صافی، بافت‌های آلوده به قارچ عامل بیماری، از حد فاصل پوست و آوند آلوده و قسمت‌های دارای تغییر رنگ آوندی، بر روی سطح محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar)، کشت شده و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند (Singleton *et al.*, 1992). پس از گذشت ۳ تا ۴ روز، پرگنه‌های قارچ بیمارگر ظاهر شدند. برای خالص‌سازی ایزوله‌های قارچ عامل بیماری، از محیط کشت Water Agar = WA ۲ درصد استفاده شد. سوسپانسیونی از کنیدی‌های جدایه‌های قارچی، درون یک تا سه میلی لیتر آب مقطر استریل تهیه و با کمک سوزن تلقیح قطره ای از این سوسپانسیون روی لام تمیز قرار داده شد. ۳ میلی لیتر از محیط WA در تشتک پتری ریخته و در روی آن سوسپانسیون مذکور توسط یک لوپ روی چند خط به صورت منظم و زیگزاک تا طرف دیگر تشتک پتری، در سطح محیط کشت، کشیده شد (Nelson *et al.*, 1983). تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای ۲۶ درجه سلسیوس به مدت ۱۶ تا ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس تک اسپورهای جوانه زده به صورت منظم روی محیط کشت PDA قرار گرفتند. تشتک‌های پتری به انکوباتور منتقل و در دمای ۲۶ درجه سلسیوس، نگهداری شدند (Singleton *et al.*, 1992).

برای شناسایی قارچ عامل بیماری از کلید Nelson *et al.* (1983)، استفاده شد. عامل بیماری بر اساس هفت مشخصه عمده شامل وجود یا عدم وجود میکروکنیدی، شکل ظاهری ماکروکنیدی‌ها و میکروکنیدی‌ها و نحوه تشکیل آنها، وضعیت سلول مولد میکروکنیدی، وجود یا عدم وجود کلامیدوسپور و میزان رشد پرگنه در شرایط استاندارد دما در روز ۲۵ و در شب ۲۰ درجه سلسیوس، ۱۲ ساعت نور در شبانه روز طی ۱۴-۱۰ روز و رنگ پرگنه شناسایی شد. همچنین میانگین قطر پرگنه جدایه‌ها و میزان رشد آن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در محیط کشت Potato Sucrose Agar= PSA محاسبه گردید.

برای بررسی چگونگی وضعیت ماکروکنیدی، میکروکنیدی و سلول‌های مولد آنها و نیز کلامیدوسپورها، از محیط کشت Carnation Leaf Agar= CLA استفاده گردید. برای اندازه‌گیری ماکروکنیدی‌ها، از کشت هشت روزه قارچ بر روی محیط CLA و ۱۰۰ ماکروکنیدی استفاده شد. طول، عرض، تعداد حجرات و شکل کلی آنها تعیین شد. از کشت پنج روزه قارچ عامل بیماری بر روی محیط CLA، لام موقتی جهت مشاهده میکروکنیدی‌ها تهیه و تعداد ۱۰۰ میکروکنیدی مطالعه گردید. در بررسی مشخصات کلامیدوسپور از کشت سه هفته‌ای قارچ روی محیط کشت برگ میخک آگار، استفاده شد. ابعاد و محل قرار گرفتن کلامیدوسپورها در میسلیوم قارچ مشخص شد. از فیالیدهای ایجاد شده بر روی کشت پنج روزه قارچ عامل بیماری بر روی محیط CLA، پرپاراسیون موقت تهیه و از نظر منوفیالید یا پلی‌فیالید بودن مورد بررسی قرار گرفت. انتخاب محیط‌های کشت مطابق با پروتکل Elhazzat *et al.* (2019) انجام شد.

اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های *F. oxysporum* و تعیین شاخص شدت بیماری

برای اثبات بیماری‌زایی ایزوله‌های قارچ عامل بیماری، از روش غوطه‌ورسازی ریشه گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور (Root – dip method) استفاده شد. برای این منظور از کشت چهارده روزه قارچ عامل بیماری بر روی محیط کشت PDA استفاده شد. سطح محیط کشت با استفاده از ۳-۲ میلی‌لیتر آب مقطر سترون و لولهٔ شیشه‌ای سرکج شسته و سوسپانسیونی از اسپورهای بنفش قارچ عامل بیماری تهیه شد. سوسپانسیون حاصله با استفاده از پارچه ململ دو لایه

سترون و همچنین آب مقطر سترون تا رقت ۱۰۶ اسپور رقیق شد (Oumouloud *et al.*, 2013).

جدول ۱- آزمون بیماری‌زایی *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* بر روی بوته¬های طالبی

Table 1. The pathogenicity test of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* on cantaloupe

درجه آلودگی	علائم بیماری بر روی هرگیاه	Symptoms on the plant
1	بدون علائم، بوته‌ها سالم	Without any symptom
2	شروع زردی یا پژمردگی	The beginning of leaves yellowing or wilt
3	زردی و پژمردگی برگ‌ها	Yellow and wilt leaves
4	ساقه‌ها پایدار و پژمردگی کامل برگ‌ها	Standing main truck but the complete wilt of leaves
5	مرگ کامل بوته ها	The plant death

ریشه‌های گیاهچه‌های طالبی رقم سمسوری ورامین ده روزه به مدت یک دقیقه در سوسپانسیون اسپور قرار گرفت و در گلدان‌هایی حاوی خاک مزرعه، پرلیت و ماسه با نسبت مساوی کاشته شد. پنج تکرار برای هر ایزوله در نظر گرفته شد. تعداد گیاهچه‌های سالم، دو هفته پس از تلقیح، ثبت شد (Chehri, 2016؛ بنی‌هاشمی، ۱۳۸۹). یادداشت‌برداری از شدت بیماری پس از ظهور علایم بر اساس مقیاس پنج شماره‌ای چهار هفته پس از آلودگی بر اساس جدول ۱ انجام گرفت (Perchepied and Pitrat, 2004). برای شناسایی بیمارگر و اثبات بیماری‌زایی، جدایه‌های قارچ دوباره جداسازی شده و با قارچ اولیه مطابقت داده شد (Khan *et al.*, 2004)

جهت تعیین نژاد قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی خالص‌سازی شده، از ارقام افتراقی استفاده شـد. این ارقام عبارت بودند از رقم Chaentais T (فاقد ژن‌های مقاومت)، رقم Charentais Fom-1 (دارای ژن مقاوم به نژاد صـفر و۲)، رقم Charentais Fom-2 (دارای ژن مقاوم به نژاد صـفر و ۱) و نیز رقم Vergos (دارای هر دو ژن بروز مقاومت به قارچ عامل بیماری). نژاد ۱ و ۱،۲ قارچ Fom نیز از آزمایشگاه بیماری شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، جهت بررسی‌های تکمیلی مورد استفاده قرار گرفت.

در این آزمایش از روش غوطه‌ورسازی ریشه‌های گیاهچه در سوسپانسیون اسپور (Root–dip method) استفاده شد. بهترین زمان برای مایه‌زنی گیاهچه‌ها با سوسپانسیون اسپور قارچ مرحله کوتیلدون تا برگ اول حقیقی (ده روزگی) است (Oumouloud *et al.*, 2013؛ Zink, 1992).

با استفاده از مراحل ذکر شده سوسپانسیون ۱۰۶ از اسپورهای قارچ عامل بیماری تهیه و ریشه گیاهچه‌ها با آن مایه‌زنی شد. تعداد گیاهچه‌های سالم و مرده طی ۲۱ روز به‌طور مـرتب شمـارش شد (Zink andThomas, 1990؛ Ficcadenti *et al.*, 2002؛ Zuniga *et al.*, 1997). یادداشت‌برداری از شدت بیماری پس از ظهور علایم بر اساس مقیاس پنج شماره‌ای چهار هفته پس از آلودگی مطابق روش (Perchepied and Pitrat, 2004) انجام گرفت (جدول ۱). داده‌های به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS تجزیه واریانس شده و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

جمع‌آوری و شناسایی قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی (ملون)

در اولین مرحله از تحقیق از مناطق مختلف روستاهای شهرستان ورامین، ایوانکی و گرمسار شامل ایستگاه مرکز تحقیقات کشاورزی ورامین، جوادآباد، طغان، قلعه خواجه، رستم‌آباد، خاوه، ایوانکی، شه‌سفید، داور آباد و کهن‌آباد مراجعه شد. علائم بارز بیماری در ابتدا به‌صورت زردی در برگ‌های قدیمی و میانی نزدیک به طوقه گیاه مشاهده شد. در مزارعی که بیماری پیشرفت قابل ملاحظه‌ای داشت، علایم به‌صورت زردی در تمام برگ‌ها و پژمردگی انتهایی توسعه یافته دیده شد. تغییر رنگ بافت آوند چوبی به‌وضوح مشاهده شد. گاهی اوقات بیماری باعث خشک شدن و در نتیجه افتادن بوته

گردید. میزان وقوع بیماری از ۲۲ درصد در ایوانکی تا ۸۹ درصد در منطقه طغان متغیر بود (جدول ۲، شکل ۱).

جدول ۲- مناطق جمع‌آوری و درصد آلودگی طالبی و خربزه به جدایه‌های جمع‌آوری شده *F. oxysporum* در سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ و شاخص بیماری‌زایی جدایه‌ها در شرایط آزمایشی

Table 2. sampling area and the infection rate (%) of melon to *F. oxysporum* strains through 2018-2019 and the strain pathogenicity index under test condition

ردیف Row	کد نمونه Sample code	درصد آلودگی Infection rate (%)	شاخص بیماری‌زایی Pathogenicity index	منطقه نمونه‌برداری Sampling area		
1	FO-VA-11	74	9.24 ab	مرکز تحقیقات کشاورزی Agricultural Research Center		ورامین Varamin
2	FO-VA-14	65	8.41 bc			
3	FO -JV-17	66	7.15 d	Javadabad	جواد آباد	
4	FO -JV-18	71	7.15 d			
5	FO -TO-25	89	9.71 a	Taghan	طغان	
6	FO -TO-26	62	8.07 c			
7	FO -RO-31	61	8.11 c	Rostamabad	رستم آباد	
8	FO -KH-34	58	7.52 cd	Khaveh	خاوه	
9	FO -EY-52	38	5.05 e	Eyvanki suburb	حومه ایوانکی	ایوانکی Eyvanaki
10	FO -EY-53	22	2.42 g			
11	FO -SH-65	29	3.65 f	Shah Sefid	شه‌سفید	
12	FO -SH-67	23	1.27 h			
13	FO -SH-69	78	9.24 ab			
14	FO -DV-72	68	8.41 bc	Shah Sefid	شه‌سفید	گرمسار Garmsar
15	FO -DV-77	61	7.15 d			

در این بررسی بیماری‌زایی ۱۵ جدایه قارچ *F. oxysporum* به‌دست آمده از مناطق مختلف کشت خربزه و طالبی ورامین، ایوانکی و گرمسار به روش کخ روی رقم سمسوری ورامین به اثبات رسید. در تحقیقی که تیموری و همکاران (۱۳۹۲) در ارتباط با اثبات بیماری‌زایی روی جدایه‌های گونه‌های فوزاریوم روی طالبی بر روی دو رقم سمسوری و خاتون در استان خراسان رضوی انجام داده‌اند، مشخص گردید چهار گونه فوزاریوم *F. oxysporum*، *F. solani*، *F. equiseti*، *F. acuminatum* روی طالبی ایجاد بیماری پژمردگی می‌کنند؛ اما گونه غالب بیماری‌زا در این استان گونه‌های *F. oxysporum* و *F. solani* بوده که از تمامی مراحل رشدی گیاه جداسازی شدند. در مناطق مختلف دنیا گونه‌های *F. oxysporum*، *F. solani* و *F. proliferatum* در ایجاد بیماری روی طالبی و خربزه اهمیت دارند (Zitter *et al.*, 2010). لک و همکاران (۱۳۹۷) نیز طی مطالعه خود بر روی تنوع ژنتیکی جدایه‌های *F. oxysporum* f. sp. *melonis* در مناطق عمده کاشت خربزه در ایران ۵۰ جدایه مختلف با توان بیماری‌زایی گوناگون گزارش کردند.

اثبات بیماری‌زایی و شناسایی جدایه قارچ

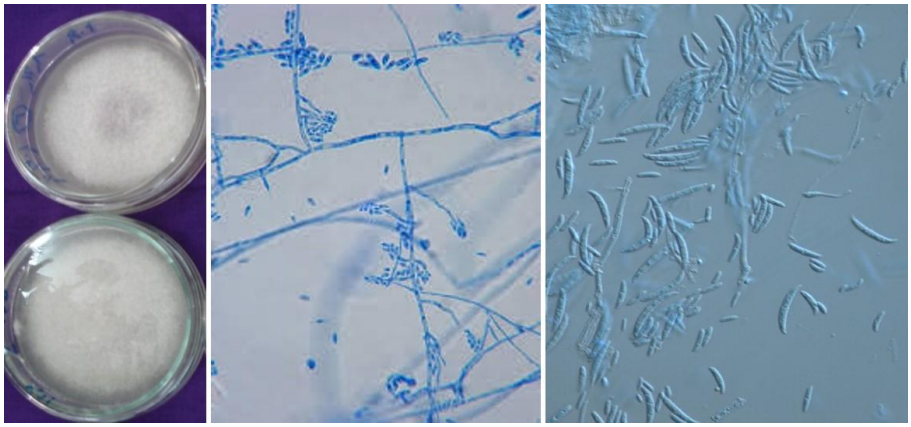
بعد از دو هفته علایم اولیه جدایه قارچ عامل بیماری روی گیاهچه‌های طالبی رقم حساس سمسوری به‌صورت زردی در برگ‌های قدیمی ظاهر شد و به‌تدریج به سمت برگ‌های بالای گسترش یافت. در هفته سوم و چهارم زردی در کل بوته و پژمردگی و نهایتاً مرگ کامل بوته به همراه تغییر رنگ آوندهای چوبی متمایل به قهوه‌ای مشاهده شد (شکل ۱). بعد از جداسازی مجدد قارچ از بافت بیمار و تطبیق با قارچ اولیه و بررسی مشخصات آن بر اساس کلید معتبر، قارچ عامل بیماری *F. oxysporum* تشخیص داده شد (شکل ۲).

شکل ۱- علائم قارچ *F. oxysporum* f.sp *melonis* بر روی طوقه به‌صورت هاله قهوه‌ای (چپ) و پژمردگی برگ‌های طالبی (راست)

Fig. 1. The symptoms of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* as the brown circle on the collar (left) and dieback leaves of cantaloupe (right)

قطر پرگنه سریع‌الرشد طی هشت روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در محیط PDA به ۸- ۷/۵ سانتی‌متر رسید. میزان رشد در استرین‌های مختلف متفاوت بین ۸/۵-۶ سانتی‌متر متغیر بوده است. میسلیوم‌ها پنبه‌ای و پراکنده و گاهی متراکم با رنگ‌های سفید و بنفش کمرنگ تولید شدند. رنگ پرگنه بسیار متنوع بوده و به رنگ‌های عنابی، سرخ، ارغوانی پررنگ، قرمز شرابی تا بنفش مایل به آبی دیده شد. در بعضی جدایه‌ها، ماکروکنیدی‌های فراوان به‌صورت یک توده در سطح پرگنه تشکیل شد. اجسام اسکلروتی فرم بیماری‌زا در برخی جدایه‌ها به رنگ آبی، سبز، خاکستری و یا ترکیبی از این رنگ‌ها دیده شد؛ در حالی‌که در برخی به‌ندرت تشکیل گردید. اسپورزایی به سرعت در میسلیوم هوایی با تولید میکروکنیدی‌های به‌هم چسبیده در سر دروغین آغاز شد. میکروکنیدی‌ها هیچ‌گاه تولید زنجیر نکرد. ماکروکنیدی‌ها در ابتدا به‌صورت منفرد و پراکنده بوده، بعداً در اسپورودوخیوم‌های کروی به‌رنگ عنابی کم‌رنگ تا نارنجی روشن در کنار هم قرار گرفتند. اسپرودوخیوم در برخی استرین‌ها به فراوانی، در برخی به‌ندرت و در برخی دیگر اصلاً تشکیل نگردید (شکل ۲). این یافته‌ها با نتایج Seo and Kim (2017) مطابقت دارد.

فیالیدها به‌صورت مونوفیالید بوده، فیالیدهای مربوط به کنیدیوفورهای اولیه غالباً شبه‌استوانه‌ای شکل به‌طول ۱۴-۸ میکرومتر و عرض ۳- ۲/۵ میکرومتر و فیالیدهای مربوط به کنیدیوفورهای ثانویه از نظر شکلی متنوع‌تر بوده، به اشکال استوانه‌ای، شبه استوانه‌ای تا گرزی و به اندازه ۴/۵-۲×۲۵-۱۰ میکرومتر بود. میکروکنیدی معمولاً تک سلولی، تخم‌مرغی، بیضی و یا قلوه‌ای شکل می‌باشند تک‌سلولی‌ها غالباً به ابعاد ۴/۱-۳/۴ × ۱۱/۱- ۵/۴ میکرومتر بود. ماکروکنیدی‌ها قایقی شکل‌اند و در دو طرف به یک نقطه منتهی می‌شوند. سلول راسی نوک‌تیز و گاهی کمی قلابی شکل و سلول پایه‌ای با زائده کوچک به طول کم یا متوسط غالباً ۴ سلولی و به ابعاد ۴/۷- ۳×۴۲-۲۷ میکرومتر و در برخی استرین‌ها پنج یا شش (به‌ندرت هفت یا هشت) سلولی بوده است. کلامیدوسپور به فراوانی و به کندی طی ۶-۳ هفته در سطح محیط CLA تولید شد. کلامیدوسپورها یک یا دو سلولی با دیواره ضخیم، میانی یا انتهایی و روی انشعابات جانبی کوتاه و به‌صورت تکی، زوج یا زنجیره‌ای تولید شدند. وجود فیالیدهای کوتاه، این گونه را از *F. solani* با فیالیدهای طویل، متمایز می‌سازد و گونه *F. subglutinans* هم به‌علت تولید فیالیدهای منشعب و عدم تشکیل کلامیدوسپور، با *F. oxysporum* متمایز می‌شود (شکل ۲). این مشاهدات با نتایج Seo and Kim (2017) مطابقت دارد.



شکل ۲- مشخصات میکروسکوپی *F. oxysporum*؛ راست: پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA؛ وسط: ریسه‌ها و میکروکنیدی‌های مجتمع؛ چپ: ماکروکنیدی‌های داسی شکل

Fig. 2. Microscopical features of *F. oxysporum*. Right: fungal growth on PDA medium; middle: mycelia and aggregated microconidia; left: sickle shape macroconidia.

بررسی قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های *F. oxysporum* روی طالبی رقم سمسوری

نتایج این آزمایش نیز همانند مرحله اثبات بیماری‌زایی بود و چهار هفته بعد از مایه‌زنی علایم بیماری ظاهر شد. نتایج حاصل از داده‌ها نشان داد که جدایه‌های جمع‌آوری شده در سطح احتمال ۱٪ از نظر قدرت بیماری‌زایی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۲). پس از مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که جدایه FO-TO-25 از منطقه طغان با شاخص بیماری‌زایی ۹/۷۱ در بالاترین سطح و جدایه‌های FO-VA-11 از ورامین و FO-SH-69 از شه‌سفید در ایوانکی با شدت شاخص بیماری‌زایی ۹/۲۴ در رتبه دوم پس از آن قرار گرفتند. جدایه FO-SH-67 حاصل از منطقه شه سفید در ایوانکی با شاخص ۱/۲۷ در کمترین سطح از بیماری‌زایی قرار گرفت. در این بررسی ۶۵ درصد جدایه‌ها دارای قدرت بیماری‌زایی بالایی بودند (جدول ۲). در مطالعه‌ای بر روی جدایه‌های قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* در استان خراسان رضوی، ۳۵ جدایه مختلف با قدرت بیماری‌زایی گوناگون شناسایی گردید که نشان دهنده تنوع جدایه‌های این بیمارگر از نظر قدرت بیماری‌زایی فارغ از پراکنش جغرافیایی و گروه‌های ژنتیکی است (ربانی‌نسب و همکاران، ۱۳۹۲)؛ یافته‌های این تحقیق با نتایج مطالعه حاضر با تأکید بر تنوع جدایه‌های عامل پژمردگی فوزاریومی مطابقت دارد.

تعیین نژاد جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

نتایج حاصل از آزمایش تعیین نژاد نیز همانند مرحله اثبات بیماری‌زایی بود و سه هفته بعد از مایه‌زنی علایم بیماری ظاهر شد. یاداشت‌برداری از شدت بیماری پس از ظهور علایم بر اساس مقیاس پنج شماره‌ای چهار هفته پس از آلودگی انجام شد. نتایج نشان داد فقط نژاد شماره یک قارچ در منطقه ورامین و گرمسار فعال بود. با توجه به بروز علائم بیماری در تیمارهای ارقام افتراقی و بر مبنای طبقه‌بندی Risser و همکاران (۱۹۷۶)، جدایه مورد مطالعه به‌عنوان نژاد ۱ قارچ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* با قدرت بالای بیماری‌زایی شناسایی شد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج لک و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت دارد؛ Madadkhah *et al.* (2012) نیز نژاد ۱ را به‌عنوان شایع‌ترین نژاد بیماری‌زا از Fom معرفی کرد. در مطالعه دیگری، نژاد ۱،۲ به‌عنوان نژاد نه چندان بیمارگر در *C. melo* معرفی گردید و نشان داده شد که در هیبریدهای حاصل از دو رقم چاپالیزی و سوسکی می‌توان سطح بیماری‌زایی این نژاد را به حداقل رسانید (Rafezi *et al.*, 2023). در مطالعه مشابهی، نژاد ۱ به‌عنوان نژاد اصلی بیمارگر در خراسان رضوی معرفی شد؛ با این حال، نژاد ۲ را از توده‌های جمع‌آوری شده از ایوانکی گزارش نمود که با بخشی از یافته‌های این تحقیق مطابقت ندارد (Gholizadegan and Seifi, 2020). بنی‌هاشمی (۱۳۸۹) در مطالعه دیگری واکنش ۱۸۰ توده بومی و خارجی *Cucumis melo* شامل طالبی، خربزه، خیار چنبر، گرمک و دستنبو از نقاط مختلف ایران و سایر نقاط جهان به نژادهای مختلف صفر، ۱، ۲ و ۱،۲ از *F. oxysporum* f. sp. *melonis* را در شرایط گلخانه بررسی نمود؛ تعداد معدودی از ارقام

به‌نژاد یک شایع در استان‌های خراسان و سمنان مقاوم بودند؛ ولی هیچکدام از ارقام ایران به نژاد ۱،۲ شایع در استان‌های فارس و اصفهان مقاومت یا تحمل نشان نداند. یافته‌های این تحقیق با یافته‌های بنی‌هاشمی مطابقت ندارد. در مطالعه دیگری، مشاهده گردید که قارچ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* شایع در استان بوشهر به گروه فیلوژنی ۱،۲ تعلق دارد (صباحی و بنی‌هاشمی، ۱۳۹۹). در تحقیق دیگری میزان مقاومت چهار ژنوتیپ مختلف خربزه نسبت به نژادهای ۱ و ۱،۲ قارچ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* سنجیده شد و در نهایت نژاد ۱ به‌عنوان نژاد شایع در سراسر ایران و نژاد ۱،۲ به عنوان نژاد بیمارگر مقاوم معرفی گردید (Golabadi *et al.*, 2019). بنابر نتایج به‌دست آمده و تنوع ژنتیکی سویه‌های به‌دست آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که *F. oxysporum* f. sp. *melonis* مونوفیلتیک نبوده و تنوع ژنتیکی سویه‌ها از نظر بیماری‌زایی منظر جغرافیایی ندارد (Mahdikhani, 2016).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که در مزارع خربزه و طالبی مناطق هم‌جوار استان‌های تهران و سمنان، شهرستان‌های ورامین، گرمسار و ایوانکی، ۱۵ جدایه مختلف از *F. oxysporum* f. sp. *melonis* وجود دارد که شدت بیماری‌زایی این جدایه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند. نژاد رایج بیمارگر در مناطق مورد بررسی از نوع ۱ تشخیص داده شد که جزء نژادهای دارای پراکنش زیاد در سراسر کشور است. این یافته‌ها می‌توانند به تنظیم برنامه مدیریت تلفیقی بیماری در شهرستان کمک کنند.

منابع References

بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۸۹. واکنش ارقام *Cucumis melo* به نژادهای *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* عامل پژمردگی فوزاریومی. بیماری‌های گیاهی ۴۶(۱): ۱۱-۲۲.

بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۶۸. وجود نژاد یک *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* عامل پژمردگی آوندی خربزه در گرمسار و عکس‌العمل ارقام خربزه و طالبی به آن. خلاصه مقالات نهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۹۱.

بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۶۱. پیدایش یک نژاد فیزیولوژیک جدید *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* در ایران. بیماری‌های گیاهی ۱۸: ۱-۶.

تیموری، س.، رهنما، ک.، حاجیان شهری، م. و افضلی، ح. ۱۳۹۲. پراکنش و بیماری‌زایی گونه‌های قارچ فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه طالبی و خربزه در استان خراسان رضوی. تحقیقات بیماری‌های گیاهی ۲: ۳۴-۳۳.

ربانی‌نسب، ح.، سروری، س. و بخشی خانیکی، غ.ر. ۱۳۹۲. تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* در استان خراسان رضوی با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۶(۱): ۲۷-۱۸.

صباحی، ف. و بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۹۹. جداسازی، تعیین نژاد و مشخصات مولکولی *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* عامل پژمردگی فوزاریومی خربزه در استان بوشهر. بیماری‌های گیاهی ۵۶(۴): ۳۶۹-۳۵۹.

لک، ف.، سرپله، ا. و شهریاری، د. ۱۳۹۷. بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* عامل پژمردگی طالبی و خربزه در ایران. پژوهش‌های کاربردی در گیاهپزشکی ۷(۱): ۸۳-۶۹.

لک، ف.، سرپله، ا. و شهریاری، د. ۱۳۹۴ .مقایسه بیماری‌زایی جدایه‌های*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* از مناطق مختلف ایران و تأثیر آن بر شاخص‌های رشدی طالبی. گیاهپزشکی کاربردی ۴(۲): ۱۵۰-۱۳۷.

Banihashemi, Z. 1968. The Biology and Ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, in Soil and the Root Zone of Host and Non-Host Plants. PhD. Thesis, Michigan State University, USA. 114pp.

Banihashemi, Z. and de Zeeuw, D.J. 1975. The behavior of *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* in the presence and absence of host plants. Phytopathology 65: 1212-1217.

Belisario, A., Luongo, L., Corazza, L. and Gordon, T.R. 2000. Indagini su popolazionidi *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Italia. Colture Protette 3: 87-89.

Belabid, L., Baum, M., Fortas, Z. and Bouzad, Z. 2003. Pathogenic and genetic characterization of Algerian isolates of *Fusariun oxysporum* f. sp. *lentis* by RAPD and AFLP analysis. African Journal of Biotechnology 3(1): 25-31.

Cara, M., Fernandez, E.J., Blanco, R., Tello Marquina, J.C., Estrada, F.J., and Montoya, S. 2004. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Race 1 in soil in Colima State, Mexico. Plant Disease 88(12): 1383.

Chehri, Kh. 2016. Molecular identification of pathogenic *Fusarium* species, the causal agents of tomato wilt in western Iran. Journal of Plant Protection Research 56(2): 143-148.

Elhazzat, N., Ouazzani Touhami, A., Chliyeh, M., Errifi, A., Selmaoui, K., Benkirane, R. and Douira, A. 2019. Effect of a composite endomycorrhizal inoculum on the manifestation of chickpea wilt, caused by *Fusarium solani.* Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology 20(11-12): 486-500.

Erzurum, K., Taner, Y., Secer, E., Yanmaz, R. and Maden, S. 1999. Occurrence of races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing wilt on melon in Central Anatolia. Journal of Turkish Phytopathology 28: 87-97.

Ficcadenti, N., Sestili, S., Annibali, S. and Campanelli, G. 2002. Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1, 2 in muskmelon lines Nad-1 and Nad-2. Plant Disease 86(8): 897- 900.

Garret, S.D. 1960. Biology of the root infecting fungi. The Cambridge University press, 293p.

Garret, S.D. 1970. Pathogenic root infecting fungi. The Cambridge University press, 294 p.

Gerlach, M. and Blok, W.J. 1988. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucurbitacearum* embracing all formae speciales of *F. oxysporum* attacking Cucurbitaceae. Netherlands Journal of Plant Pathology 94: 17-31.

Gholizadegan, A. and Seifi, A.R. 2020. Screening some Iranian muskmelon landraces for resistance against Fusarium wilt disease using molecular markers. International Journal of Horticultural Science and Technology 7(3): 227-233.

Golabadi, M., Khezerpoor, K., Mahdavi, M. and Nouri, A. 2019. Evolution of some melon genotypes for *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1 and 1,2 resistance. Research on Crop Ecophysiology 14(2): 104-110.

Khan, J., Ooka, J.J., Miller, S.A., Madden, L.V. and Hoitink, H.A.J. 2004. Systemic resistance induced by *Trichoderma hamatum* 382 in cucumber against *Phytophthora* crown rot and leaf blight. Plant Disease 88: 280-286.

Lal, N. and Datta, J. 2012. Progress and perspectives in characterization of genetic diversity in plant pathogenic Fusarium. Plant Archives 12(1): 557-568.

Madadkhah, E., Lotfi, M., Nabipour, A.R., Rahmanpour, S., Banihashemi, Z. and Shoorooei, M. 2012. Enzymatic activities in roots of melon genotypes infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1. Scientia Horticulturae 135(24): 171-176.

Mahdikhani, M.R. 2016. Genetic variability among *Fusarium oxysporum* isolates from melon *Cucumis melo* in Qazvin province, Iran. Horticultural Biotechnology Research 2: 1-7.

Mirtalebi, M., Bani hashemi, Z. and Linde, C.C. 2013. Phylogenetic relationships of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Iran. European Journal of Plant Pathology 136: 749-762.

Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press University park. 193pp.

Oumouloud, A., Gonzalez Torres, R., Garces-Claver, A., Chikh-Rouhou, H. and Alvarez, J.M. 2013. Differential response of *Cucumis melo* to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 isolates. Crop Protection 44: 91-94.

Perchepied, L. and Pirat, M. 2004. Polygenic inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 in melon. Phytopathology 94: 1331-1336.

Rafezi, R., Dehghani, H., Banihashemi, Z. and Pitrat, M. 2023. Diallel cross analysis of resistance against race 1.2y of Fusarium wilt in melon *Cucumis melo* L. International Journal of Horticultural Science and Technology 10(3): 333-350.

Risser, G., Banihashemi, Z. and Davis, D.W. 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. Phytopathology 66: 1105-1106.

Schreuder, W., Lamprecht, S.C. and Holz, G. 2000. Race determination and vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* from South Africa. Plant Disease 84: 231-234.

Seo, Y. and Kim Y.H. 2017. Potential reasons for prevalence of *Fusarium* wilt in oriental melon in Korea. The Plant Pathology Journal 33(3): 249-263.

Shafagh, N., Falahati Rastegar, M. and Jafarpour, B. 2008. Physiological race and genetic diversity determination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* by differential hosts and molecular marker in Northern and Razavi Khorasan provinces. Research Journal of Biological Sciences 3(7): 790-793.

Sherf, A.F. and Mac Neb, A.A. 1986. Vegetable disease and their control. 3rd ed. Wiley Interscience Publication, John Wiley and Sons. New York. 728pp.

Singleton, L.L., Mihail, J.D. and Rush, C.M. 1992. Methods for Research on soil born Phytopathogenic Fungi. APS Press, st. Paul, Minnesota, USA, 265pp.

Snyder, W. C. and Hansen, H. N. 1940. The species concept in *Fusarium*. American journal of Botany 27: 64-67.

Stewart, I.E., Kim, M.S., James, R.L, Dumroese, R.K. and Klopfenstein, N.B. 2006. Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium commune* isolates from conifer nursery. Phytopathology 96: 1124-1133.

Tello Marquina, J.C. and Gomez Vazques, J. 2000. Presenzia de la razza 1,2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* en Almeria. Boletín *de* sanidad vegetal. Plagas 26: 27-33.

Vakalounakis, D.J. and Fragkiadakis, G.A. 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: Differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility, and RAPD fingerprinting. Phytophthology 89: 161-168.

Zink, F.W. 1992. Reaction of muskmelon germplasm to inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 2. Plant Disease 67: 1251-1255.

Zink, F.W. and Thomas, C.E. 1990. Genetics of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races 0, 1, and 2 in muskmelon line MR-1. Plant Disease 80: 1230-1232.

Zuniga, T.L., Zitter, T.A., Gordon, T. R., Schroeder, D.T. and Okamoto, D. 1997. Characterization of pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing Fusarium wilt of melon in New York. Plant Disease 81(6): 592-596.

Identification of dominant races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in neighboring parts of Tehran and Semnan provinces

F. Abedloo[1], M. Maleki[2*], D. Shahriari[3] and N. Kheradpir[2]

Received: 21 Oct., 2023 Accepted: 17 Dec., 2023

ABSTRACT

Molecular Fusarium wilt caused *by Fusarium oxysporum*. f. sp. *melonis* is one of the seed and soil-borne diseases of melons and cantaloupe. The epidemic of this disease can cause up to 100% destruction of melon and cantaloupe. The most damage usually appears after the emergence of flowers and the fruits formation, which causes yellowing, stopping growth, wilting and death of the plants. Chemical control methods or biological compounds have rarely been associated with success in reducing the disease. Therefore, the identification of isolates of this pathogen was investigated with the aim of identifying the level of pathogenicity and develop an efficient management plan. Infected plants from different areas of melon and cantaloupe cultivation in Varamin, Eyvanki and Garmsar cities was sampled and the pathogenic fungus was isolated. Pathogenicity was confirmed by immersing the roots of Samsuri Varamin (Niagara) seedlings in spore suspension. Investigating the pathogenic power and determining the identity of the isolates was done using differential numbers based on the five-level pattern. In this study, Taghan FO-VA-25 and Shah Sefid FO-SH-69 isolates from Varamin and Garmsar, respectively, with a disease severity index of 9.71 and 9.24, had the highest pathogenicity among the investigated isolates, and were identified under race 1.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, isolate, race, Varamin, Eyvanki, Garmsar

1. Former Msc. Student, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Research and Education Center for Agriculture and Natural Resources of Tehran Province, Varamin Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Varamin, Iran

Corresponding author: mojdehmaleki@yahoo.com