

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

سمانه تیموری\*<sup>۱</sup>، کامران رهنما<sup>۲</sup>، محمد حاجیان شهری<sup>۳</sup>، حمید افضلی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۶

### چکیده

به منظور شناسایی و ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ فوزاریوم مرتبط با پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی طالبی و خربزه طی سال‌های زراعی ۸۹-۱۳۸۸ 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 PDA کشت داده شدند. پس از خالص‌سازی جدایه‌ها، اثبات بیماری‌زایی آنها با روش فرو بردن ریشه‌ی گیاهچه‌های ۱۲ روزه در سوسپانسیون اسپور با غلظت ۱۰<sup>۶</sup> 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. در این تحقیق، قارچ‌های *F. acuminatum* و *F. equiseti* 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 بوده 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.

<sup>۱</sup> - دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران (بخشی از یافته‌های پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول).

<sup>۲</sup> - دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

<sup>۳</sup> - استادیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

<sup>۴</sup> - استادیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

\* نویسنده مسئول مقاله: Samaneh.teymoori@gmail.com

## مقدمه

خانواده کدوئیان (Cucurbitaceae) شامل چندین گونه از گیاهان اقتصادی بسیار مهم مانند 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 به علت 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, 2005). 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 فلسطین اشغالی جدایه‌های *F. solani* (Mart.) Sacc و *F. equiseti* (Corda) و *F. javanicum* Koord باعث پژمردگی در خیار، خربزه، هندوانه و کدو خورشیدی (*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، شامل *F. oxysporum*، *F. solani* و *F. proliferatum* هستند (Chehri et al., 2010). صفرنژاد (۱۳۸۳) عوامل قارچی بوته‌میری کدوئیان در منطقه‌ی سیستان را گونه‌های *Rhizoctonia*، *Macrophomina phaseolina* و *M. phaseolina*، *F. oxysporum* f.sp. *niveum*، *F. oxysporum* f.sp. *melonis* تشخیص داد که در این بین *M. phaseolina* مهم‌ترین عامل بوته‌میری کدوئیان در این منطقه بود.

استان خراسان رضوی به دلیل 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 هر ساله خسارت زیادی را به کشت و تولید این محصولات وارد می‌کنند، مبذول شود. آنچه به میزان چشمگیری باعث کاهش کمیت و کیفیت محصول در استان خراسان رضوی می‌گردد، بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *F. 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 در سطح 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.

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

#### بررسی ریخت‌شناسی جدایه‌ها و شناسایی گونه‌های فوزاریوم

شناسایی جدایه‌ها براساس ویژگی‌های ظاهری از قبیل نحوه‌ی رشد پراکنه، 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)<sup>۱</sup> 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 (root dip) انجام شد (Risser et al., 1976). برای تهیه‌ی مایه تلقیح، از کشت پنج روزه‌ی جدایه‌های کشت شده بر روی محیط PDA استفاده شد. از کشت خالص هر جدایه دو تا سه دیسک پنج میلی‌متری به ارلن‌های حاوی محیط کشت PDB<sup>۲</sup> (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 شدت ۱۲۰ تکان در دقیقه در شرایط آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس محتویات هر ارلن با استفاده از پارچه‌ی ململ سترون صاف شد و سوسپانسیون به دست آمده، به مدت 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 ۱۰<sup>۶</sup> اسپور در میلی‌لیتر برای هر ایزوله سوسپانسیون تعیین گردید (Burger et al., 2003).

#### مایه‌زنی گیاهان

بذور طالبی (رقم سمسوری) و خریزه (رقم خاتونی) پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون، در خاک اتوکلاو شده کشت گردید و در حرارت ثابت با شرایط دمایی ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه‌ی سانتی‌گراد در شب و تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. گیاهچه‌ها 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 ۱۰<sup>۶</sup> 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 پنج گیاهچه کشت گردید و هر دو روز یک بار آبیاری صورت می‌گرفت. برای هر جدایه سه تکرار (هر گلدان به‌عنوان یک تکرار) و برای گیاهچه‌های شاهد به جای سوسپانسیون اسپور، از آب مقطر استریل استفاده شد. اولین علائم چهار روز بعد از تلقیح مشاهده گردید و یادداشت برداری 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 (Perchepped and Pitrat, 2004) به پنج گروه تقسیم شدند (جدول

<sup>۱</sup> - Carnation Leaf Agar

<sup>۲</sup> - Potato Dextrose Broth

۱). 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

در این بررسی، برای اثبات وجود فرم اختصاصی *F. oxysporum* f.sp. *melonis* از مایه زنی گیاهان خیار (رقم Super dimenous)، هندوانه (رقم Crimpson sweet)، طالبی (رقم سمسوری)، خربزه (رقم خاتونی) و نخود (رقم جم) استفاده گردید (Jacobson and Gordon, 1988). کلیه ارقام در شرایط گلخانه و در مرحله‌ی گیاهچه‌ای با سوسپانسیون اسپور جدایه‌های بیماری‌زای *F. oxysporum* به طور 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 چهار گونه‌ی *F. solani*، *F. oxysporum*، *F. equiseti* و *F. acuminatum* بودند و از بین آن‌ها، گونه‌ی *F. solani* به عنوان 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
<i>Fusarium solani</i>	۵۰	۲۲
<i>F. oxysporum</i>	۳۱/۸۲	۱۴
<i>F. equiseti</i>	۱۱/۳۶	۵
<i>F. acuminatum</i>	۶/۸۲	۳

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

مشخصات	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>F. acuminatum</i>
میکروکنیدی	فراوان در روی میسلیم‌های هوایی، تک سلولی به ابعاد $4/5 (3-6) \times 11/5 (5/5-16/5)$ میکرومتر و گاهی دو سلولی، تخم مرغی تا کلیوی شکل به ابعاد $18/5 (13-25) \times (3-5)$ $4/2$ میکرومتر	فراوان در روی میسلیم‌های هوایی، عموماً تک سلولی و گاهی دو سلولی، بیضی شکل، تخم مرغی و کلیوی شکل با ابعاد $8/2 (6-11) \times 2/3 (2-3)$ 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 فرو رفته (پاشنه دار) با ابعاد $4/5 (3/5-5) \times 43/5 (38-50)$ 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 $3/5 (2/5-5) \times 34/5 (25-45)$ میکرومتر	بر روی اسپوردوکیوم نارنجی رنگ، داسی شکل دارای ۵-۴ دیواره به ابعاد $3/5 (3-5/5) \times 39 (32-51)$ میکرومتر، دارای انحنای پشتی - شکمی مشخص و سلول پایه حالت پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی باریک و طویل	بر روی اسپوردوکیوم نارنجی رنگ، داسی شکل و دیواره‌های طولی دارای خمیدگی غیر یکسان، سلول پایه به شکل پاشنه و سلول انتهایی باریک و نوک تیز، دارای ۶-۳ دیواره عرضی به ابعاد $3/5 (3-4) \times 38 (31-50)$ میکرومتر
کنیدیوفور	مونوفیالدهای طویل به طول ۱۲۰-۳۵ میکرومتر	مونوفیالدهای خیلی کوتاه به طول ۷-۱۸ میکرومتر	مونوفیالید	مونوفیالید
کلامیدوسپور	کروی تا تخم مرغی شکل به صورت منفرد و یا در زنجیره‌های دو تا سه تایی با ابعاد $9/5 (7-14) \times 7/8 (7-9)$ میکرومتر	انفرادی یا دو تایی و به شکل‌های کروی تا بیضوی و با ابعاد $11/5 (7/5-16) \times 8/7 (7-11/5)$ میکرومتر	زنجیری، منفرد یا جفتی به قطر $10/5 (8/5-13/5)$	انفرادی گاهی به صورت زنجیری به ابعاد $10/5 (8/5-13/5) \times 7/5 (6-12)$ میکرومتر
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

## آزمون بیماری‌زایی

جهت انجام آزمون بیماری‌زایی، از ۱۴ جدایه‌ی *F. oxysporum* استفاده شد که در این آزمون، پنج 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 *Fusarium oxysporum* در آزمون اثبات بیماری‌زایی

ردیف	کد جدایه	شهرستان	روستا	اندام گیاهی	شاخص بیماری
۱	FOM <sub>1</sub> *	مشهد	قرقی	ریشه	۱
۲	FOM <sub>2</sub>	مشهد	برقی	طوقه	۲
۳	FOk <sub>1</sub>	کاشمر	فرگ	ساقه	۴
۴	FOk <sub>2</sub>	کاشمر	رزق آباد	ساقه	۵
۵	FOk <sub>3</sub>	کاشمر	جردوی	ساقه	۴
۶	FOn <sub>1</sub>	نیشابور	بلقشه	ریشه	۲
۷	FOn <sub>2</sub>	نیشابور	بلقشه	ریشه	۱
۸	FOKh <sub>1</sub>	خواف	سلامی	ساقه	۵
۹	FOKh <sub>2</sub>	خواف	سلامی	ساقه	۴
۱۰	FOt <sub>1</sub>	ترت جام	صالح آباد	طوقه	۱
۱۱	FOf <sub>1</sub>	فریمان	جیم آباد	ساقه	۳
۱۲	FOM <sub>1</sub>	مهولات	شمس آباد	ساقه	۳
۱۳	FOM <sub>2</sub>	مهولات	همت آباد	ریشه	۱
۱۴	FOa <sub>1</sub>	جاده سرخس	آبروان	طوقه	۱

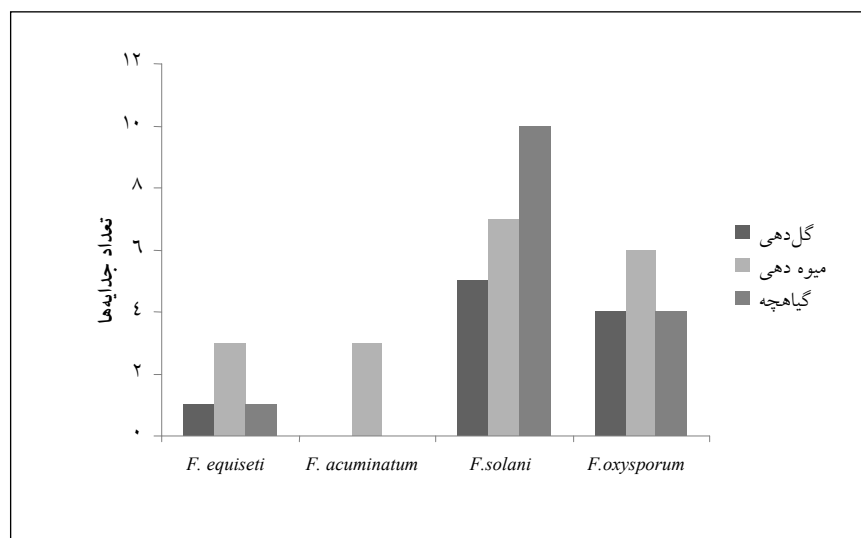
\* نام هر جدایه بر اساس نام اول شهرستانی که جداسازی صورت گرفته است، می‌باشد؛ به‌عنوان مثال: **FMI** = جدایه یک شهرستان مشهد.

از ۲۲ جدایه‌ی *F. solani* استفاده شده در این آزمایش، هشت جدایه بیماری‌زا نبوده و هیچ‌گونه علائم پوسیدگی و نکروز ریشه و طوقه را نشان ندادند. سایر جدایه‌ها پس از گذشت ۱۰-۱۲ 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 جدایه‌های مربوط به شهرستان‌های مختلف، درجات مختلف بیماری‌زایی از شدید تا ضعیف دیده شد (جدول ۵). بیش‌ترین جداسازی این قارچ از ناحیه‌ی ریشه بود که نشان‌دهنده‌ی فعالیت بیش‌تر این گونه در این قسمت گیاه می‌باشد. غیر بیماری‌زا بودن برخی جدایه‌ها در شرایط گلخانه، ممکن است به دلیل مقاومت رقم طالبی و خربزه‌ی مورد استفاده در آزمون بیماری‌زایی، تعلق جدایه به سایر فرم‌های اختصاصی بیمارگر 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 در نهایت 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 حالی که گونه‌های *F. solani* و *F. oxysporum* از تمام مراحل رویشی گیاهان از گیاهیچه تا میوه‌دهی قابل جداسازی بودند (شکل ۱).

جدول ۵- مقایسه‌ی شدت بیماری‌زایی *Fusarium solani* بر اساس شاخص چهار درجه‌ای (Roy, 1997)

ردیف	کد جدایه	شهرستان	روستا	اندام گیاهی	شاخص بیماری
۱	FSM <sub>1</sub>	مشهد	قرقی	ریشه	صفر*
۲	FSM <sub>2</sub>	مشهد	قرقی	ریشه	۱
۳	FSM <sub>3</sub>	مشهد	برقی	طوقه	۳
۴	FSM <sub>4</sub>	مشهد	طرق	ساقه	صفر
۵	FSN <sub>1</sub>	نیشابور	بلقشه	ریشه	۱
۶	FSN <sub>2</sub>	نیشابور	کارچیج	ریشه	۳
۷	FSN <sub>3</sub>	نیشابور	قبد	ریشه	صفر
۸	FSK <sub>1</sub>	کاشمر	تریقان	ریشه	صفر
۹	FSK <sub>2</sub>	کاشمر	تریقان	طوقه	۳
۱۰	FSK <sub>3</sub>	کاشمر	جردوی	ریشه	صفر
۱۱	FSK <sub>4</sub>	کاشمر	فرگ	طوقه	۲
۱۲	FSK <sub>5</sub>	کاشمر	رزق آباد	طوقه	۳
۱۳	FSKh <sub>1</sub>	خواف	سلامی	ریشه	۱
۱۴	FSKh <sub>2</sub>	خواف	سلامی	طوقه	صفر
۱۵	FSa <sub>1</sub>	جاده سرخس	آبروان	طوقه	صفر
۱۶	FSa <sub>2</sub>	جاده سرخس	آبروان	ساقه	۲
۱۷	FSm <sub>1</sub>	مهولات	شمس آباد	ریشه	۳
۱۸	FSm <sub>2</sub>	مهولات	شمس آباد	ریشه	۲
۱۹	FST <sub>1</sub>	ترت جام	نصر آباد	ریشه	صفر
۲۰	FST <sub>2</sub>	ترت جام	صالح آباد	طوقه	۳
۲۱	FSF <sub>1</sub>	فریمان	قلندرآباد	طوقه	۲
۲۲	FSF <sub>2</sub>	فریمان	جیم آباد	ریشه	۱

\* علامت بیماری در هر شاخص، صفر: غیر بیماری‌زا، ۱: نکرز اندک ریشه و طوقه، ۲: نکرز متوسط ریشه و طوقه، ۳: نکرز شدید ریشه و طوقه.



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



شکل ۲- علائم بیماری در گیاهان آلوده به *Fusarium 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 *Fusarium 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 آلودگی *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 برای اولین بار در این تحقیق 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 به خصوص در هنگام میوه دهی 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 به ترتیب باعث پژمردگی فوزاریومی و پوسیدگی فوزاریومی پایه و طوقه می‌گردند (Punja et al., 2001). گونه‌های دیگر فوزاریوم به عنوان 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 به نظر می‌رسد که این گونه نقش مهمی در کاهش محصول در سراسر استان را داشته باشد. گونه‌ی اشاره شده از جمله قارچ‌های بیماری‌زایی است که از نقاط مختلف دنیا به عنوان عامل پوسیدگی شناسایی شده است. این گونه در ایران به عنوان 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 گیاهچه-ی حبوبات (Gerlach and Nirenberg, 1982) و مرگ نونهال‌های سوزنی برگ (Herfehdoost et al., 2009) معرفی شده است.

*F. oxysporum* یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس فوزاریوم است که از نظر اقتصادی در کشاورزی بسیار مهم می‌باشد. این گونه دارای میزبان‌های بسیار زیادی است (Hanson et al., 1995). در ایران این قارچ به عنوان 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 محدوده‌ی 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 سازی 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 به عنوان 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 به عنوان عامل اصلی پوسیدگی خشک سیب زمینی نیز در استان اردبیل اهمیت دارد (Sharifi et al., 2008).

*F. acuminatum* به عنوان عامل پوسیدگی ریشه، طوقه، طبق و غده‌ی تعداد زیادی از گیاهان از جمله گندم، پیاز و سیب‌زمینی معرفی شده است (Sharifi et al., 2008). این گونه را قبلاً حاجیان و عبادی (۲۰۰۸) نیز از بذور خربزه جدا کرده و به عنوان عامل بوته میری 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، به کارگیری روش‌های مدیریت بیماری ضروری به نظر می‌رسد و همچنین مشخص شد که طالبی و خربزه در تمام فصل رویش در معرض حمله‌ی بیمارگرهای *F. oxysporum* و *F. solani* بوده و این قارچ‌ها نقش مهمی در کاهش تولید 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.

### References:

1. Adams GC, Gubler WD and Grogan RG. 1987. Seedling disease of muskmelon and mixed melons in California caused by *Fusarium equiseti*. Plant Disease 71: 370–374.
2. Agrios GN. 2005. Plant Pathology 5<sup>th</sup> ed. New York: Academic Press. 635 p.
3. Aigbe SO and Fawole B. 1999. A cowpea seed rot disease caused by *Fusarium equiseti* identified in Nigeria. Plant Disease 83: 964 (Abstract).
4. Alvarado-Casillas S, Ibarra-Sanchez S, Rodriguez-Garcia O, Martinez-Gonzales N and Castillo A. 2007. Comparison of rinsing and sanitizing procedures for reducing bacterial pathogens on fresh cantaloupes and bell peppers. Journal of Food Protection 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 Azarbaijan. Iranian Journal of Plant Pathology 30: 41–49.
6. Booth C. 1971. The Genus *Fusarium*. Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute Publishing. 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 determined by inoculation tests and molecular markers. Plant Pathology 52: 204–211.
8. Burgess LW, Summerell BA, Bullock S, Gott K and Backhouse D. 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* Research. 3rd ed. Sydney: 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: 1215–1223.
10. Chilosì G, Reda R, Aleandri MP, Camele I, Altieri L, Montuschi C, Languasco L, Rossi V, Agosteo GE, Macri C, Carlucci A, Lops F, Mucci M, Raimondo ML and Frisullo S. 2008. Fungi associated with root rot and collapse of melon in Italy. 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. A continuing challenge. Phytoparasitica 14: 251 (Abstract).

13. Gerlach W and Nirenberg H. 1982. The Genus *Fusarium*, A Pictorial Atlas. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin- Dahlem 209: 1–406.
14. Hajiyan Shahri M and Ebadi A. 2008. Seedborne pathogenic *Fusarium* species on melon. Paper presented at: 18<sup>th</sup> Iranian plant protection congress; 23–27 August; Hamedan, Iran.
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. Herfehdoost F, Rostami Shahraji T, Qhodskhah M and Khodaparast A. 2009. Investigation on the agent of conifer damping off in the forest nursery of Laka. Iranian Journal of Forest and Polar Research 17: 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.
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 on foot and root rot of honeydew melon in Khorasan provinces [MSc]. [Mashhad, Iran]: University of Ferdowsi Mashhad.
21. Karampour F and Hejaroud GA. 1993. *Fusarium solani* as the chickpea black root rot agent in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 29: 147–148.
22. Lesli JF and Summerell BA. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Ames, USA: Blackwell Publishing. 388 p.
23. Mirtalebi M and Banihashemi Z. 2010. Isolation and pathogenicity of some *Fusarium* species isolated from crown and root of melon. Paper presented at: 19<sup>th</sup> Iranian plant protection congress; 31 July–3 August; Tehran, Iran.
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 Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania, USA: Pennsylvania State University Press. 193 p.
26. Palti J and Joffe A Z. 1971. Causes of the *Fusarium* wilts of cucurbits in Israel and conditions favoring their development. Phytopathology 70: 31–42.
27. Perchepped 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 Z K, Parker M and Elmhirst JF. 2001. *Fusarium* wilt of field-grown muskmelon in British Columbia. Canadian Journal of Plant Pathology 23: 403–410.
29. Rai R P. 1979. *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. Causing dry rot of potato tubers – New report. Current Science 4823: 1043–1045.
30. Reuveni R. 1982. *Fusarium equiseti* – A new cause of cumin spice plant wilt in Israel. Plant Disease 66: 498–499.
31. 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.

32. Ritschel P S, Lins T C, Rodrigo Lourenço Tristan R L, Buso G S, Buso J A and Ferreira M E. 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 M R. 2004. Investigation root rot of cucurbits in Sistan region. Paper presented at: 16<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress; August 28–September 1; Tabriz, Iran.
35. Sharifi K, Zare R, Zamanizadeh H R and Arjmandiyan A. 2008. *Fusarium* species causing dry rot of potatoes in Ardabil, Tehran and Hamedan Provinces. *Plant Pests and Diseases* 762: 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 based on microbiological and molecular approaches. *Microbial Ecology* 512: 242–255.
38. Zare R and Ershad D. 1997. *Fusarium* species isolated from cereals in Gorgan area. *Iranian Journal of Plant Pathology* 33: 1–14.
39. Zitter T A, Hopkins D L and Claude E T. 1998. *Compendium of Cucurbit Diseases*. St. Paul Minnesota, USA: The American Phytopathological Society. 284 p.