دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال سوم، شماره اول، بهار و تابستان 1394
صص 73-63

بررسی تاثیرقارچ *Monosporascus cannonballus* روی شاخصه های رشدی بوته های طالبی و خربزه

ودیعه چراغعلی [1*]

تاریخ دریافت: 93/7/2 تاریخ پذیرش: 93/9/12

چکیده

بیماری پوسیدگی ریشه و زوال بوته‌های خربزه و طالبی بر اثر *Monosporascus cannonballus* از مهمترین بیماری‌های این گیاهان به ویژه در مناطق گرم و خشک کشور محسوب می گردد. این بیمارگر در اوایل فصل رشد بوته های طالبی و خربزه را آلوده نموده و باعث پوسیدگی ریشه و به دنبال آن کاهش وزن اندام‌های هوایی در بوته های حساس می شود. اگرچه میزان تاثیر این پوسیدگی‌ها در کاهش شاخصه های رشدی ژنوتیپ‌های مختلف طالبی و خربزه نیاز به بررسی بیشتری دارد. در این بررسی، زادمایه قارچ بر روی 10 ژنوتیپ مختلف خربزه و طالبی (سمسوری، جلال، سوسکی، شاه آبادی، احمدی، مینو، زرد محلی، مشهدی، گرمسار و ریش بابا) مایه‌زنی گردید. بوته‌های مایه زنی شده پس از 4 و 32 روز نگهداری در گلخانه در دمای 2±27 درجه سانتیگراد از خاک خارج و وجود یا عدم وجود قارچ در بوته‌های مایه‌زنی شده با استفاده از پرایمر اختصاصی این بیمارگر مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، وزن ریشه‌ها و اندامهای هوایی گیاهان مایه‌زنی شده نیز پس از 45 روز اندازه گیری شد. اگرچه وجود قارچ عامل بیماری در کلیه بوته‌های مایه‌زنی شده با استفاده از آغازگرهای اختصاصی محرز گردید، بین ژنوتیپ‌ها از نظر وزن ریشه و اندام‌های هوایی اختلاف معنی داری مشاهده شد. بیشترین کاهش وزن ریشه در ژنوتیپ‌های سوسکی، سمسوری، گرمسار و زرد محلی به ترتیب 72/05، 67/28، 62/43 و 54/60 درصد و کمترین آن در ژنوتیپ‌هایی مانند مینو و مشهدی با بترتیب 22/25 و 27/10 درصد بود. بیشترین کاهش وزن اندام های هوایی با 61/92، 58/64، 53/75 و 52/27 درصد به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های شاه آبادی، زرد محلی، احمدی و سوسکی بوده و کمترین کاهش در ژنوتیپ هایی مانند مینو و مشهدی با 15/56 و 21/20% اندازه گیری شد. بر اساس وزن تر ریشه‌ها، اندام‌های هوایی و نیز کل گیاه ژنوتیپ‌های مشهدی و مینو کمترین و ژنوتیپ‌های شاه آبادی و سوسکی بیشترین میزان آلودگی را داشتند.

واژه‌های کلیدی: زوال بوته، ارقام متحمل، خربزه، طالبی، *Monosporascus cannonballus*

---

[1]- مربی پژوهش، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، بخش تحقیقات بیماریهای گیاهی، تهران، ایران.

*- نویسنده مسئول مقاله: vcheraghali@yahoo.com

مقدمه

خربزه یکی از گیاهان حساس به بیماری‌های گوناگون می‌باشد و از زمان کاشت تا برداشت مورد حمله عوامل بیماریزای مختلف قرار می‌گیرد. سفیدک پودری و سفیدک کرکی از مهم‌ترین بیمارگرهای هوازاد و پژمردگی های آوندی، مرگ گیاهچه، بوته میری و ساق سیاه از مهمترین بیماری‌های مهم ریشه‌ای این محصول محسوب می شوند (Bruton *et al.*, 2000). در سال های اخیر، با توجه به تغییرات آب و هوایی بیماری‌های دیگری مانند پوسیدگی ریشه و زوال بوته بر اثر *Monosporascus cannonballus* در صیفی کاری های ایران گسترش بیشتری یافته است (Sarpeleh, 2008, Sarpeleh *et al.*, 2012). این بیماری در شرایط گرم و خشک و بویژه در سال‌های کم آب بصورت همه‌گیر در مزرعه ظاهر و باعث زوال بوته‌ها می‌شود (Cohen *et al.*, 2000). این بیماری برای نخستین‌بار از ایالت آریزونا (Troutman and Matejka, 1970) گزارش شد و عامل آن در سال 1974 به عنوان *Monosporascus cannonballus* شناسایی گردید (Pollack and Uecker 1974).

در ایران *M. cannonballus* اولین بار از روی طالبی و خربزه از مناطق زابل، گرمسار و ایوانکی گزارش شد (Sarpeleh and Sonbolkar, 2002). این بیماری امروزه در اکثر مناطق طالبی و خربزه کاری های ایران شیوع یافته است وخسارت قابل توجهی به این گیاهان می‌زند، شدت خسارت به گونه ایست که در برخی مناطق مزارع رها می‌گردند (Sarpeleh *et al.*, 2012). متعاقب آن بیماری پوسیدگی ریشه و زوال بوته بر اثر *M. cannonballus* از استان‌های فارس، اصفهان، سمنان، یزد و خراسان رضوی در ایران گزارش گردید (Sarpeleh *et al.* 2012).

علائم این بیماری به صورت زردی برگ های نزدیک به طوقه ظاهر و به سمت انتهای بوته پیشرفت می‌کند. برگ ها سپس نکروزه شده و در صورت بالا بودن دما و استرس خشکی تمام تاج گیاه ظرف مدت کوتاهی از بین می‌رود. روی ریشه‌ها بعضا لکه‌های مایل به قهوه‌ای ظاهر می‌شود که در شرایط خاص ساختارهای جنسی قارچ (پریتسیوم ها) روی آنها قابل مشاهده است (Pollack and Uecker, 1974).

M. cannonballus از قارچ های رده آسکومیست می‌باشد. این بیمارگر در مرحله رویشی به صورت میسلیومی بوده و فاقد اسپورهای غیرجنسی(کنیدیوم) است. در مرحله جنسی (تلومرف) تولید آسکوکارپی از نوع پریتسیوم می‌نماید. پریتسیوم حاوی آسک های فراوان و هر آسک حاوی یک آسکوسپور است (Pollack and Uecker, 1974). آسکوسپورها دارای دیواره ضخیم بوده که تا مدت ها در خاک دوام می‌آورند (Martyn and Miller, 1996).

روش های مختلفی برای کنترل *M. cannonballus* استفاده شده است از جمله روش های کنترل شیمیایی (Cohen *et al.*, 1999)، بیولوژیکی (Martyn, 2002)، آفتاب دهی (Cohen *et al.*, 2000)، پیوند زدن (Murata and Ohara, 1936) که با توجه به ساختار مقاوم آسکوسپورها در اکثر موارد نتایج رضایت بخشی حاصل نشده است. بعنوان مثال به کارگیری متیل بروماید، متیل یدید و کلرو پیکرین در کنترل بیماری مؤثر بوده‌اند ولی متام سدیم تأثیری نداشته است و 1و3 دی کلرو پروپن نیز چندان مؤثر واقع نشده است (Edelstein *et al.*, 1999). به کارگیری این ترکیبات با توجه به خطرات ناشی از این آفتکش ها برای محیط زیست و سلامت زارعین و نیز شرایط کشت خربزه و طالبی در ایران امکان‌پذیر نمی باشد. بررسی‌های بعمل آمده در کشور آمریکا و اسرائیل نشان می‌دهد که به

دلیل متحمل بودن این بیمارگر به گرمای شدید آفتاب دهی به تنهایی کارساز نیست (Cohen *et al*., 2000). استفاده از ایزوله‌های این قارچ که بیماریزایی تقلیل یافته دارند (Hyrpovirulent) در کنترل این بیماری قابل تحقیق است. کلنی جدایه‌های آلوده با RNA دو رشته‌ای به رنگ زرد، نارنجی و یا قـهوه‌ای بوده و اغـلب آلودگی کمتری را ایجاد می‌کنند. ولی ایـن نمونه‌ها قابلیت برگشت به سویه‌های بیماریزا را داشته و استفاده از آنها در مدیریت بیماری امکان پذیر نیست. سایر عوامل بیوکنترل مانند استفاده از قارچ *Chaetomium globosum* توانایی نسبی در کنترل این بیمارگر از خود نشان داده‌اند (Pivonia *et al*., 2010).

استفاده از توده های ژنوتیپی مقاوم و متحمل از بهترین و موثرترین راه های مدیریت بیماری های قارچی خاکزاد از جمله این بیماری می باشد. در ایران بیشتر از ژنوتیپ‌های بومی جهت تولید خربزه استفاده می‌شود. با توجه به سابقه طولانی کشت خربزه در ایران، اطلاعی در خصوص میزان مقاومت این ژنوتیپ‌ها در برابر *M. cannonballus* در دست نمی باشد. در این بررسی واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های خربزه و طالبی نسبت به این بیمارگر مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از انجام این آزمایش، ارزیابی مقاومت تعدادی از ژنوتیپ‌های طالبی و خربزه به بیماری پوسیدگی ریشه و زوال بوته بود تا بر اساس آن بتوان در آینده از منابع مقاومت آنها استفاده کرد و ارقام مناسبی برای کاشت تعیین نمود.

مواد و روش ها

ابتدا نمونه های *M. cannonballus* از بوتـه‌های خربزه و طالبـی آلوده و یا مشکوک به آلودگی از مزارع خربزه‌کاری استان‌های مختلف کشور شامل اصفهان، یزد، تهران، فارس، سمنان، مرکزی، خراسان رضوی، قزوین و سیستان و بلوچستان جمع آوری گردیدند.

برای جداسازی، نگهداری سویه‌ها و تشکیل اندام های باردهی قارچ، از محیط کشت های ذرت و سیب زمینی آگار (PDA و CMA) استفاده شد. جدایه ها را در تشتک های جداگانه حاوی محیط کشت‌های مذکور کشت و در دمای 27 درجه سانتیگراد تا 6 روز نگهداری شدند. برای تهیه زادمایه جدایه انتخابی، حدود 4/5 لیتر بذر جو به مدت 1 شبانه‌روز در آب خیسانده شدند. پس از شستشو و خروج آب اضافی 1/5 لیتر پرلیت به آن اضافه شده و با هم مخلوط و در فلاسک های 1 لیتری ریخته و تا حدود 60% فلاسک پر شدند. در صورت خشک بودن به هر فلاسک 100 سی سی آب مقطر اضافه و 3 روز متوالی در دمای 121 درجه سانتی‌گراد و فشار 1 اتمسفر به مدت 30 دقیقه اتوکلاو شدند. پس از خنک شدن به هر فلاسک 5 بلوک میسلیومی قارچ (از هر یک از جدایه ها) اضافه گردید. مشخصات هر جدایه روی فلاسک مربوط درج و فلاسک ها در دمای 27–25 درجه سانتی‌گراد به مدت 7–5 هفته نگهداری شده تا قارچ به طور یکنواخت تمام بستره را کلونیزه نمود. برای تعیین جمعیت تشتک های حاوی عامل بیماری در زادمایه، یک گرم از جو آلوده شده به قارچ عامل بیماری را با آب مقطر استریل به 10 میلی‌لیتر رسانده و رقیق‌سازی انجام گردید. سپس 200 میکرولیتر از سوسپانسیون حاصل روی محیط کشت PDA ریخته و پخش گردید. تشتک‌ها به مدت 48 ساعت در دمای 28 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پرگنه‌های حاصل بعد از

این مدت شمارش شدند. سپس مقداری از زادمایه که حدود100میلی لیتر حجم داشته را با خاک استریل گلدان‌های 4 لیتری مخلوط گردید تا 70 پروپاگول در گرم خاک حاصل شود. در این تحقیق از ارقام مشهدی، مشهدی مینو، زرد محلی، احمدی، گرمسار، سوسکی، جلال صادراتی، طالبی شاه آبادی، طالبی سمسوری و طالبی ریش بابا استفاده شد.

بذور ژنوتیپ های مذکور بعد از ضد غفونی سطحی درون پرلیت کشت و در مرحله نشاهای دو برگی (این عمل به سرعت رشد گیاهچه ها کمک می کند) به خاک آلوده شده درون گلدان منتقل شدند. برای این منظور نیمی از خاک گلدان‌های 4 لیتری را با زادمایه عامل بیماری به طور جداگانه مخلوط کرده و سطح خاک گلدان‌ها را صاف نموده برای هر ژنوتیپ سه گیاه در هر گلدان و سه تکرار در نظر گرفته شد (جمعا 9 گیاه). همچنین 9 گیاه (سه گلدان با سه گیاه) به عنوان شاهد (بدون مایه زنی) لحاظ گردید. برای آزمایش وجود و عدم وجـود بیماری با استفاده ازپرایمراختصاصی یک گلدان باسه گیاه از هر ژنوتیپ و یک گلدان بعنوان شاهد (بدون مایه زنی) در نظر گرفته شد و سپس گیاهچه‌های 2 برگی رقم خربزه زرد گرمسار داخل گلدان‌ها کاشته و گلدان‌ها آبیاری شدند. آبیاری گلدان ها هر چند روز یک بار با توجه به میزان رطوبت خاک انجام شد. نمونه‌هایی که برای کار با پرایمر اختصاصی در نظر گرفته شده بودند چهار روز و 32 روز بعد از مایه زنی جمع آوری و مورد بررسی‌های آزمایشگاهی قرارگرفتند. بقیه ی گلدان ها تا 45 روز در گلخانه در دمای 2±27 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و روزانه مورد بازدید قرار گرفته و آلودگی و عدم آلودگی آنها از نظر ظاهری یادداشت برداری شد. پس از گذشت 45 روز، ریشه گیاهان با احتیاط از خاک خارج و پس از انتقال به آزمایشگاه، قسمت ریشه و اندام های هوایی جدا شدند. جهت حذف خاک اطراف ریشه، ریشه‌ها داخل آب غوطه‌ور شده و شستشو داده شدند. میزان بیماری، درصد وقوع بیماری و شدت بیماری از فرمول‌های خاص خود که در ذیل به آن اشاره شده است محاسبه گردید.

برای تعیین درصد وقوع بیماری، از فرمول زیر استفاده شد

$$\text{درصد وقوع بیماری} = \frac{\text{تعداد گیاهان با علائم بیماری}}{\text{تعداد کل گیاهان}} \times 100$$

برای تعیین شدت بیماری از روش Crosby (2001) استفاده گردید که در این روش شاخص بیماری 1: سالم (بدون علایم)، 2: نکروزه کم ریشه، زخم های خرمایی کوچک، 3: نکروزه متوسط ریشه، زخم های خرمایی متوسط، 4: نکروزه شدید همه ریشه، کمی ریشه های سالم باقیمانده، زخم های خرمایی وسیع و 5: پوسیدگی کامل و قهوه‌ای شدن است.

$$\text{(Disease severity index) } DS=\frac{\Sigma(n_i\times v_i)}{V\times N}\times 100$$

n: تعداد بوته‌ها با نمره مشابه vi: نمره بیماری (1-5)

N: تعداد کل بوته ها V: بالاترین نمره بیماری(5)

به منظور شناسایی بیماری در داخل نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور از پرایمر اختصاصی *M. cannonballus* (Pico *et al.*, 2008) استفاده گردید. این آغازگر توسط شرکت سیناژن ساخته شد. مشخصات و توالی پرایمر مورد استفاده در جدول یک نشان داده شده است.

جدول 1- توالی پرایمر اختصاصی مورد استفاده در واکنش PCR

توالی پرایمر	محل قرار گرفتن پرایمر
F:5'-CTTACCTATGTTGCCTCGGCG-3'	57-37
R: 5'-AAGAGTTTAGATGGTCCACCGG-3'	148 -128

ناحیه تکثیر شده مربوط به ناحیه‌ی ITS1 بوده و طول قسمت تکثیر شده 112 جفت باز است.

وجود و عدم وجـود *M. cannonballus* در ریشه‌های گیاهان مایه‌زنی شده چهار روز بعد از مایه زنی با استفاده از آغازگر اختصاصی تعیین شد. برای این منظور استخراج DNA از ریشه‌ها طبق روش فنل- کلروفرم انجام و آزمایش PCR روی DNA استخراج شده از ریشه ها طبق روش پیکو و همکاران انجام گردید (Pico *et al.*, 2008). محصول PCR روی ژل آگارز الکتروفورز گردید.

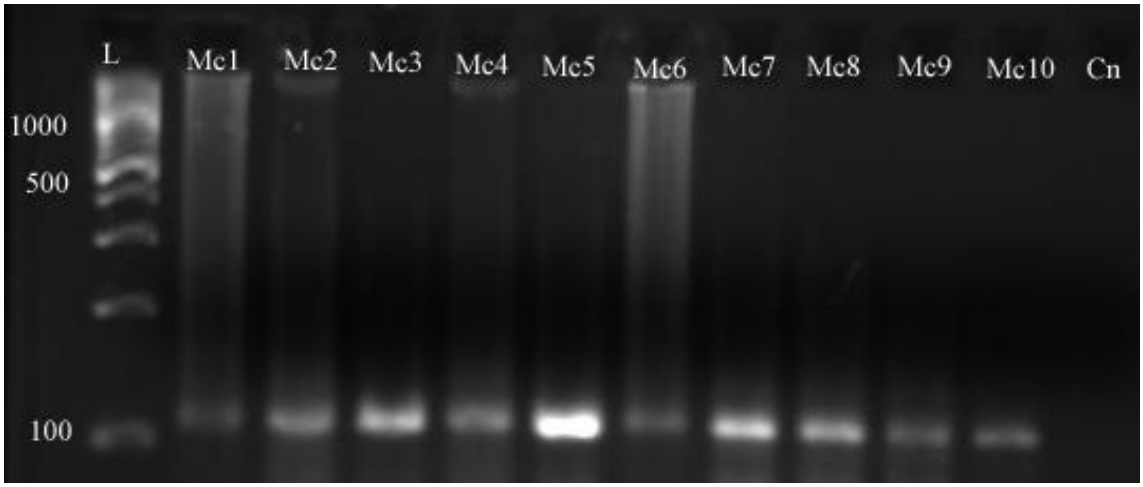
علاوه بر این، درصد آلودگی ژنوتیپ های مایه زنی شده محاسبه گردید. برای این منظور 32 روز پس از مایه زنی ژنوتیپ‌ها یک گیاهچه از هر یک از گلدان های آلوده شده و سالم (سه تکرار) انتـخاب شد، از خاک خـارج و به مدت ده دقیقه زیر جریان شیر آب قرار داده شد تا خاک اطراف ریشه ها شسته شود. توسعه بیشتر ریشه‌های جانبی برای افزایش مقاومت به این بیمـاری مهم می‌بـاشد چرا که به دستیابی گیاه بـه آب و مـواد غذایی از خاک کمـک بیشـتری می‌کند. وزن کل گیاه‌ها تعیین شده، سپس گیاه‌ها از محل طوقه جدا شدند و اندام های هوایی و ریشه‌ی هر کدام جداگانه وزن گردیدند و سرانجام تاثیر آلودگی بر کاهش وزن اندامهای هوایی و نیز کل گیاه ژنوتیپ‌های مختلف محاسبه و با یکدیگر مقایسه شدند. میزان کاهش وزن ریشه‌ها طبق فرمول زیر که توسط تین لاین (Tinlin, 1997) توصیف شده محاسبه گردید:

$$\text{کاهش وزن ریشه ها} = \frac{\text{وزن ریشه‌ی گیاه آلوده} - \text{وزن ریشه‌ی گیاه سالم}}{\text{وزن ریشه‌ی گیاه سالم}} \times 100$$

به منظور تجزیه و تحلیل آماری اعداد برای شاخص‌های مورد مطالعه از لحاظ نرمال بودن و منحنی توزیع یکنواختی و تجزیه واریانس از نرم افزار SAS استفاده گردید. برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون LSD (Least Significant Difference) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج محصول PCR از DNA بدست آمده از ریشه های ژنوتیپ‌های مختلف طالبی و خربزه که با *M. cannonballus* مایه زنی شده بودند وجود یک باند 112جفت بازی را بر روی ژل آگارز نشان داد که بیانگر نفوذ *M. cannonballus* به داخل ریشه تمامی ژنوتیپ های تحت آزمایش بود (شکل 1).



شکل 1- محصول PCR مربوط به DNA بدست آمده از ریشه‌های توده‌های ژنتیکی بومی خربزه و طالبی موجود در ایران با استفاده از آغازگرهای اختصاصی. ستون آخر از سمت چپ مربوط به مارکراستاندارد 1Kb، (Mc1): خربزه سمسوری، (Mc2): جلال صادراتی، (Mc3): سوسکی، (Mc4): شاه آبادی، (Mc5): احمدی، (Mc6): مشهدی مینو، (Mc7): زرد محلی، (Mc8): گرمسار، (Mc9): مشهدی، (Mc10): ریش بابا، Cn کنترل منفی.

از آنجائیکه این قارچ بر روی وزن ریشه ها تاثیر مستقیم دارد و مانع از ایجاد ریشه های فرعی می شود و در نتیجه وزن ریشه ها را در مقایسه با نمونه شاهد (بدون آلودگی) کمتر می‌کند. در نتایج حاصل از تجزیه واریانس بین رابطه میزان آلودگی و کاهش وزن ریشه های تیمارهای آزمایشی (توده های ژنی مختلف خربزه و طالبی) اختلاف معنی داری (در سطح احتمال یک درصد) وجود داشت (جدول 2).

جدول 2- تجزیه واریانس تیمارها برای میانگین وزن ریشه

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F value
تیمار	9	7469/59934	829/95548	5/79**
خطا	20	2869/1339	143/45670	
کل	29	10338/73327		

ضریب تغییرات (C.V.):25/2% **اختلاف معنی دار در سطح احتمال 1%

مقایسه میانگین درصد وقوع بیماری نشان داد که ژنوتیپ‌های مینو، مشهدی، ریش بابا، سمسوری، جلال، گرمسار، سوسکی، احمدی، زرد محلی و شاه آبادی به ترتیب با درصد وقوع بیماری 45/5، 45، 55/50، 60/95، 60، 64، 65/65، 85، 85 و 85 از مقاومت/ تحمل بالاتری برخوردار می‌باشند و مقایسه میانگین درصد شدت بیماری نشان داد که ژنوتیپ‌های مینو، مشهدی، احمدی، جلال، گرمسار، زرد محلی، ریش بابا، سمسوری، سوسکی و شاه آبادی به ترتیب با درصد شدت بیماری 0/30، 0/33، 0/35، 0/36، 0/40، 0/41، 0/43، 0/43، 0/47 و 0/49 از مقاومت/ تحمل بالاتری برخوردار می‌باشند.

تاثیر بیماری در کاهش وزن ریشه‌ی ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در جدول 2 نشان داده شده است. بیشترین کاهش وزن در ژنوتیپ‌های سوسکی، سمسوری، گرمسار و زرد محلی دیده شد. ژنوتیپ‌های مینو، مشهدی، جلال، شاه آبادی و ریش بابا کمترین تاثیرپذیری را از بیماری در خصوص کاهش وزن ریشه نشان دادند (جدول 3).

جدول 3- مقایسه میانگین کاهش وزن ریشه‌های ژنوتیپ‌های طالبی و خربزه مایه‌زنی شده با *Monosporascus cannonballus*.

ژنوتیپ‌های طالبی و خربزه	درصد کاهش وزن*	گروه‌بندی**
سوسکی	72/050	A
سمسوری	67/287	AB
گرمسار	62/463	ABC
زرد محلی	54/600	ABCD
احمدی	49/683	BCD
ریش بابا	42/287	CDE
شاه آبادی	39/523	DE
جلال	38/767	DE
مشهدی	27/107	E
مینو	22/253	E

* وزن ریشه ژنوتیپ‌های مختلف پس از مایه زنی با عامل بیماری اندازه گیری شده و به عنوان ملاکی برای میزان آلودگی مورد استفاده قرار گرفت.

** تیمارهایی که دارای یک حرف مشترک می‌باشند طبق آزمون LSD و در سطح 5%، از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

بر اساس وزن سبزینه‌ی (تاج) ژنوتیپ‌های تحت بررسی، ژنوتیپ شاه آبادی بیشترین کاهش وزن را نشان داد در حالیکه تیمارهای مشهدی و مینو کمترین کاهش وزن تاج را نشان داده و شاخص آلودگی آنها بر این اساس به ترتیب 21/20 و 15/56 بود، البته این دو ژنوتیپ تفاوت معنی داری با ژنوتیپ‌های سمسوری، ریش بابا و جلال نداشتند (جدول 4).

جدول 4- مقایسه‌ی میانگین وزن تاج ژنوتیپ‌های مختلف خربزه و طالبی پس از آلودگی با قارچ *Monosporascus cannonballus* بر اساس حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح 5%

ژنوتیپ‌ها	میانگین کاهش وزن تاج گیاه (گرم) *	گروهبندی **
شاه آبادی	61/92	A
زرد محلی	58/64	AB
احمدی	53/75	ABC
سوسکی	52/27	ABC
گرمسار	41/92	ABCD
جلال	36/70	BCDE
ریش بابا	30/96	CDE
سمسوری	28/19	DE
مشهدی	21/20	DE
مینو	15/56	E

* وزن تاج ژنوتیپ‌های مختلف پس از مایه زنی با عامل بیماری اندازه گیری شده و به عنوان ملاکی برای میزان آلودگی مورد استفاده قرار گرفت.

** تیمارهایی که دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

تاثیر آلودگی قارچ *M. cannonballus* بر روی کاهش وزن کل ژنوتیپ های تحت آزمایش در جدول 5 آورده شده است. مقایسه میانگین درصد آلودگی وزن کل ژنوتیپ ها نشان داد که ژنوتیپ شاه آبادی بیشترین کاهش وزن بوته (61/5) را داشته و نسبت به سایر ژنوتیپ ها حساس‌تر می باشد. ژنوتیپ های مینو ومشهدی به ترتیب با کاهش وزن 21 و 16 درصدی نسبت به شاهد، کمترین کاهش وزن را نشان داده و بعنوان ژنوتیپ های نسبتا مقاوم نسبت به سایر ژنوتیپ ها می‌باشند (جدول 5).

جدول 5- مقایسه‌ی میانگین کاهش وزن کل ژنوتیپ‌های مختلف خربزه و طالبی پس از آلودگی با قارچ *Monosporascus cannonballus* بر اساس حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) درسطح 5%

ژنوتیپ‌ها	میانگین کاهش وزن کل گیاه (گرم) *	گروه بندی **
شاه آبادی	61/400	A
زرد محلی	58/430	A
احمدی	53/523	AB
سوسکی	52/647	ABC
گرمسار	42/363	ABC
جلال	36/617	BCD
سمسوری	33/130	BCD
ریش بابا	31/920	CD
مشهدی	21/330	D
مینو	16/067	D

*وزن کل ژنوتیپ‌های مختلف پس از مایه‌زنی با عامل بیماری اندازه‌گیری شده و به عنوان ملاکی برای میزان آلودگی مورد استفاده قرار گرفت.

** تیمارهایی که دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

در جدول (4) تاثیر قارچ *M. cannonballus* بر روی کاهش وزن تاج تیمار های مختلف نشان داده شده و با توجه به گروه‌بندی انجام شده، تیمارها به پنج گروه آماری تقسیم شده‌اند. تیمار شاه آبادی از نظر کاهش وزن اندام هوایی گیاه که تقریبا 62 درصد می‌باشد در گروه اول قرار گرفته است و بعنوان ژنوتیپ حساس نسبت به بقیه می‌توان معرفی کرد و تیمار های مینو و مشهدی با کاهش 21و 15 درصدی مجددا در گروههای آخر قرار گرفته اند و مجددا بعنوان ژنوتیپ های مقاوم نسبت به بقیه تیمارها معرفی می‌شوند. در گروه بندی تیمارها، از نظر تاثیر قارچ بر روی کاهش وزن کل تیمارها شش گروه ایجاد گردید که تیمار شاه آبادی از بین تیمارها از نظر کاهش وزن بیشترین کاهش (61/5) را داشته است و از آن بعنوان ژنوتیپ حساس نسبت به سایر ژنوتیپ ها می توان نام برد و تیمارهای مینو ومشهدی با قرار گرفتن در پایین ترین گروه (D) که کاهش وزن حدودا 22 و 16 درصدی را داشتند عنوان ژنوتیپ نسبتا مقاوم نسبت به سایر ژنوتیپ ها معرفی شدند. با توجه به بررسی منابع مختلف در مورد تشابه با این آزمایش، مقایسه وزن قسمت‌های مختلف نمونه ها نشان از تفاوت عکس‌العمل آنها نسبت به پیشرفت بیماری داشت. ژنوتیپ‌های شاه آبادی و سوسکی بیشترین میزان کاهش وزن گیاه را نشان دادند و جزو تیمارهای حساس در نظر گرفته شدند درحالیکه ژنوتیپ های مینو و مشهدی به دلیل کمترین میزان کاهش وزن گیاه بعنوان تیمارهای نسبتا مقاوم طبقه بندی شدند. در ارزیابی مقاومت ارقام طالبی و خربزه در آزمایشی که در جنوب تگزاس انجام شد بدین روش ارقام حساس و مقاوم به این بیمارگر معرفی شدند (Crosby, 2000). شبیه این نوع آزمایشات در مزرعه وگلخانه انجام شد که بعضی ارقام از کراس دو رقم دیگر حاصل شده بودند. نتایج حاصل ازگلخانه نشـان داد که

رقم Deltex و رقم هایی که از کراس دادن این رقم حاصل شده بودند میزان مقاومت بالایی نسبت به بقیه داشتند و در نتایج حاصل ازمزرعه رقم PI 403994 و Deltex به بعنوان ارقام مقاوم و Caravelle بعنوان حساس معرفی شدند. بعنوان مثال در جنوب تگزاس هشت رقم مختلف تلاقی داده شدند که از بین آنها خسارت ناشی از این بیماری در رقم Deltex و نسل حاصل از آن کم بود. تحقیق حاضر ثابت کرد که یک رابطه معقولی بین مقاومت به *M. cannonballus* و ساختار ریشه وجود دارد. رقم‌های Deltex، PI 403994 و Doblon مقاوم و Perlita، Magnum و Caravelle حساس معرفی گردیدند (Crosby, 2000). از تلاقی بین دو رقم مقاوم نتایج حاصل از نسل اول نشان داد که ریشه‌های حاصل مقاومتر از هر یک از والدین خود بودند. این بررسی نشان داد که برای بالا بردن مقاومت به این بیماری نیاز به کراس بین والدین مقاوم می‌باشد. همچنین کراس بین رقم مقاوم و حساس در کنترل بیماری نیز موثر بود. بالا بودن مقاومت نژادهای مقاوم نسبت به حساس به سیستم ریشه‌ای آن بر می‌گردد که به قوی بودن و انتشار آن بستگی دارد (Wolf *et al*., 1998). توسعه بیشتر ریشه‌های جانبی برای افزایش مقاومت به این بیماری مهم می‌باشد، چرا که به دستیابی گیاه به آب و مواد غذایی از خاک کمک بیشتری می‌کند (Cohen *et al*., 2000). استفاده از ارقامی که دارای مقاومت چند ژنی هستند تا حدی در کنترل این بیماری موثر می باشند با شناسایی ژنوتیپ‌های بومی حساس و مقاوم به این بیمارگر و با استناد به الگویی از شرایط ژنتیکی و شدت بیماریزایی این قارچ در مناطق مورد بررسی شرایط تولید و معرفی ارقام مقاوم متناسب با هر منطقه را می‌توان فراهم نمود. با وجودی که ایران سابقه طولانی در کشت طالبی و خربزه دارد، تاکنون رقم مقاوم با شاخصه های زراعی مناسب در دسترس نمی باشد. با توجه به در دسترس نبودن ارقام مقاوم خارجی تمرکز بر روی ژنوتیپ‌های بومی و اصلاح آنها از نظر مقاومت به این بیمارگر قابل توجه می‌باشد. علاوه بر استفاده از ارقام مقاوم، در برنامه های مدیریتی کنترل این بیماری سایر روشهای به زراعی نیز بایستی در الگوی کار قرار گیرند. این امر با اعمال روشهایی از جمله استفاده از اعمال تناوب زراعی و از بین بردن بقایای گیاهی که نقش عمده ای در کاهش زاد مایه قارچ دارند میسر می گردد.

سپاسگزاری

از همکاران محترم جناب آقایان دکتر سرپله و مهندس کسری شریفی که در انجام این تحقیق مرا یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

References

1. Bruton B D, Garcia-Jimenez J, Armengol J and Popham, T W. 2000. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. Plant Disease 84: 907–913.
2. Cohen R, Pivonia S, Shtienberg D, Edelstein M, Raz D, Gerstl Z and Katan J. 1999. Efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus* the causal agent of sudden wilt of melons. Plant Disease. 83: 1137–1141.
3. Cohen R, Pivonia S, Burger Y, Edelstein M, Gamliel A and Katan J. 2000. Towards intergrated management of *Monosporascuse* wilt of melon in Israel. Plant Disease 84: 496–505.
4. Crosby K M. 2000. Impact *of Monosporascuse cannonballus* on root growth of diverse melon varieties and their F1 progeny in the field. Subtropical plant Science 52: 8–11.
5. Crosby K M. 2001. Screening *Cucumis melo* L.*agrestis* germplasm for resistance to *Monosporascus cannonballus* Subtropical plant Science 53: 24–26.
6. Edelstein M, Cohen R, Burger Y, Shriber S, Pivonia S and Shtienberg D. 1999. Integrated management of sudden wilt in melons, caused by *Monosporascus cannonballus*, using grafting and reduced rates of methyl bromide. Plant Disease 83: 1142–1145.
7. Martyn R D and Miller M E. 1996. *Monosporascus* root rot and vine decline: An emerging disease of melons worldwide. Plant Disease 80: 716–725.
8. Martyn R D. 2002. *Monosporascus* root rot and vine decline of melons. The Plant Health Instractur. D0I:10.1094/PHI-I-2002-0612-01
9. Murata J and Ohara K. 1936. Prevention of watermelon Fusarium wilt by grafting Lagenaria [in Japanese]. Japanese Journal of Phytopathology 6: 183–189.
10. Pico B, Roig C, Fita A and Nuez F. 2008. Quantitative detection of *Monosporascus cannonballus* in infected melon roots using real-time PCR. European Journal of plant pathology 120: 147–156.
11. Pivonia S, Gerstl Z, Maduel A, Levita R, Cohen R. 2010. Management of *Monosporascuse* sudden Wilt of melon by soil application of fungicides. European Journal of plant pathology 128: 201–209.
12. Pollack F G and Uecker F A. 1974. *Monosporascus cannonballus* an unusual ascomycete in cantaloupe roots. Mycologia 66: 346–349.
13. Sarpeleh A and Sonbolkar A. 2002. Isolation of *Monosporascuse Cannonballus* from cantaloupe and musekmelon in Iran. Paper Presented at: 15th Iranian Plant Protection Congress; 26–30 september; Kermanshah, Iran.
14. Sarpeleh A, Cheraghali V and Razavi M. 2012. Detection of *Monosporascus cannonballus* from melon plants using PCR. Crop Protection 1: 349–359.
15. Sarpeleh A. 2008. The role of *Monosporascus cannonballus* in melon collapse in Iran. Australasian Plant Disease Notes 3: 162–164.
16. Tinlin R D. 1997. Multiple infection of subcrown internodes of wheat (*Triticum aestivum*) by common root rot fungi. Canadian Journal of Botany 55: 30–34.
17. Troutman J L and Matejka, J C. 1970. Three fungi associated with cantaloupe roots in Arizona. Phytopathology 60: 1317.
18. Wolf D and Miller M. 1998. Tolerance to *Monosporascus* root rot and vine decline in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm . Hortsciencem 33: 287–290.

Impact of *Monosporascus cannonballus* on growth parameters of melon plants

V. Cheraghali [1]

Abstract

In hot and arid areas, root rot and vine decline of melon plants caused by *Monosporascus cannonballus* is considered as one of important diseases in Iran. The pathogen infects melon plants at early growth stages and causes root rot followed by a decrease in root and vine weight in susceptible melons. However, the effect of the pathogen on plant growth parameters needs further research. In this study, one of pathogenic isolate of *M. cannonballus* was inoculated to 10 different genotypes of muskmelon and cantaloupe locally named: Samsoori, Jalal, Sooski, Shahabadi, Ahmadi, Minoo, Zard-e-Mahali, Mashhadi, Garmsar and Rish baba. The inoculated plants were kept at 27 ± 2 ℃ for 4 and 32 days before they were examined for the existence of the pathogen using species specific primers. In addition, root and vine fresh weights of inoculated plants were measured after 45 days. Although the pathogen was detected in all samples using molecular markers, a significant difference was observed in the weight of root and vine of the genotypes. Root weight reduction maxima were recorded for Sooski, Samsoori, Garmsar and Zard-e-Mahali as 72.05, 67.28, 62.46 and 54.60% respectively and the minima were recorded for Minoo and Mashhdi as 22.25 and 27.10% respectively. The vine reduction weight of Shahabadi, Zard-e-Mahalli, Ahmadi and Sooski were 61.92, 58.64, 53.75 and 52.27 and those of Minoo and Mashhadi were measured as 15.96 and 21.20%. Based on the fresh weight of root, shoot and total plant, Mashhadi and Minoo genotypes were more resistant compared with Shah Abadi and Suski genotypes.

Keywords: vine decline, Resistant cultivars, muskmelon, cantaloupe, *Monosporascus cannonballus*.

[1]- Research Instructor, Plant Pathology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

*Corresponding author: vcheraghali@yahoo.com