مقایسه شدت بیماری‌زایی، جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerium* از مناطق مختلف ایران و تأثیر آنها بر شاخص‌های رشد خیار

Comparison of virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices-cucumerinum* isolates from different regions of Iran and their impact on vegetative growth of cucumber

فرزانه لک[۱]، پیمان کرمانی[۲]* و سید حبیب شجاعی[۲]

دریافت: ۱۴۰۰/۹/۱ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۸

چکیده

پژمردگی و پوسیدگی ریشه و طوقه خیار بر اثر *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum* از بیماری‌های مهم و متداول این گیاه در ایران و دیگر کشورها محسوب می‌شود. در این تحقیق بررسی تفاوت شدت بیماری‌زایی جدایه‌های این قارچ بیماری‌زا و میزان تأثیر هر یک از آنها بر رشد رویشی گیاه مورد بررسی قرار گرفت. بیماری‌زایی ۵۰ جدایه که از بوته‌های خیار با علائم پژمردگی و زردی از مناطق مختلف ایران جداسازی شده بودند، بر روی خیار رقم نگین مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان مایه‌زنی شده و شاهد تا ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. درصد وقوع بیماری با علائم پژمردگی و یا زردی و نیز درصد شدت بیماری و شاخص‌های رشدی شامل وزن ریشه و اندام‌های هوایی ۱۰ روز پس از مایه‌زنی تعیین گردید. بین جدایه‌های مناطق مختلف، از نظر درصد وقوع بیماری، شدت بیماری و شاخص‌های رشدی در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیشترین درصد وقوع بیماری در بوته‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های F-111-2، F-133-2 و H8 مشاهده شد و بیشترین شدت بیماری توسط جدایه‌های F-111-2، F-160-12 و F-111-5 ایجاد گردید. جدایه‌های F-111-5، F-160-12 و F-121-4 بیشترین تأثیر را در کاهش وزن ریشه و همچنین جدایه‌های F-160-12، F-121-4 و F-111-10 بیشترین تأثیر را روی کاهش وزن تاج داشتند. بنابراین می‌توان جدایه F-160-12 را با اثربخشی بر روی وزن تاج و ریشه و با بیشترین شدت بیماری به‌عنوان بیماری‌زاترین جدایه معرفی نمود.

واژگان کلیدی: شدت بیماری‌زایی، *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-cucumerinum*، شاخص‌های رشدی

۱- مدرس دانشگاه فنی و حرفه‌ای، دانشکدهٔ فنی و حرفه‌ای شریعتی، تهران، ایران

۲- مدرس دانشگاه فنی و حرفه‌ای، دانشکدهٔ فنی و حرفه‌ای دماوند، دماوند، تهران، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: kermani.payman@gmail.com

مقدمه

خیار *Cucumis sativus* گیاهی است از گیاهان یکساله جالیزی، متعلق به خانواده کدوئیان Cucurbitacae. طبق آخرین آمار موجود، سطح زیر کشت خیار در کل کشور ۴۷۲۹۳ هکتار بوده است که مهم‌ترین استان‌های تولیدکننده این محصول در ایران، همدان، هرمزگان، کرمان، ایلام، خوزستان و کردستان می‌باشند (آمارنامه کشاورزی، ۱۴۰۰).

بیماری پژمردگی و پوسیدگی ریشه و طوقه خیار ناشی از فرم‌های تخصص یافته *Fusarium oxysporum* از مهمترین بیماری‌های خیار در کشت این محصول می‌باشد. این بیماری به‌صورت پژمردگی، زردی و پوسیدگی ریشه و طوقه شروع و با پیشرفت پوسیدگی به سمت انتهای ساقه تمام بوته ظرف مدت کوتاهی از بین می‌رود. عامل پژمردگی فوزاریومی خیار قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* است که یک قارچ خاکزاد مهم می‌باشد. این بیماری اولین بار روی بوته‌های خیار آلوده در یونان مشاهده شده است (Vakalounakis, 1996). این بیماری اهمیت زیادی در ایران دارد؛ برای مثال از روش‌های مولکولی برای تشخیص دقیق این بیمارگر بر روی خیار گلخانه‌ای استفاده شد (Nosrati *et al.*, 2017). در عین حال همچنان اطلاعات کافی در ارتباط با جدایه‌های مختلف این بیمارگر در دسترس نیست؛ نجفی‌نیا و همکاران (۱۳۹۷) تنوع ژنتیکی و شدت بیماری‌زایی این بیمارگر را در منطقه کهنوج و جیرفت بر روی محصول خیار مورد بررسی قرار دادند. با وجود روش‌های مختلف مبارزه با این بیماری از قبیل شیمیایی، بیولوژی و زراعی هنوز تحقیقات در جهت یافتن بهترین روش برای کنترل این بیماری در ایران ادامه دارد (الهی‌نیا، ۱۳۸۷). در مطالعه‌ای اثربخشی جدایه‌های مختلف قارچ *Trichoderma harzianum* برای مدیریت بیولوژیک *F. oxysporum* f. sp. *radiacis cucumerinum* مورد بررسی قرار گرفت (Javanshir Javid *et al.*, 2016). یوسفی و همکاران (۱۳۹۰) از تلفیق اسید سالیسیلیک و *Bacillus subtilis* برای مدیریت این بیمارگر استفاده نمودند. نجفی‌نیا و میرزاده آبگرمی (۱۳۹۹) نشان دادند که می‌توان از طریق پیوندزنی بوته‌های خیار بر روی پایه‌های مقاوم سایر کدوئیان سبب کاهش شدت بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه خیار گلخانه‌ای شد. علیزاده و سالاری (۱۳۹۵) توانستند با استفاده از جدایه‌های مختلفی از سودوموناد‌ها و ترکودرما باعث ایجاد مقاومت القایی در گیاه میزبان و در نتیجه کاهش سطح بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه و ساقه خیار شوند. با توجه به تنوع گسترده جدایه‌های این بیمارگر، شناخت هر چه بیشتر عامل بیماری کمک زیادی به کارگیری روش مناسب‌تری برای کنترل آن می‌کند.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های مورد بررسی در این مطالعه از کلکسیون بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی سبزی و صیفی موسسهٔ تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور استفاده شده است. در این تحقیق جدایه‌های *F. oxysporum* از استان‌های ایلام (شش جدایه)، یزد (شش جدایه)، همدان (هفت جدایه)، کرمان (هشت جدایه)، تهران (پنج جدایه)، کهگیلویه‌وبویراحمد (شش جدایه)، لرستان (پنج جدایه) و خوزستان (هفت جدایه) و در مجموع ۵۰ جدایه از استان‌های مختلف کشور انتخاب گردید (جدول ۱).

جداسازی، خالص‌سازی جدایه‌های *Fusarium oxysporum*

برای تجدید کشت و شناسایی نمونه‌های فوزاریوم تهیه شده از کلکسیون موسسهٔ تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، از محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار Potato Dextrose Agar (PDA)، محیط کشت آب-آگار Water Agar (WA)، محیط کشت برگ میخک و آگار Carnation Leaf Agar (CLA) استفاده شد.

بررسی ریخت‌شناسی جدایه‌ها و شناسایی گونه‌های فوزاریوم

شناسایی جدایه‌ها از لحاظ مشخصات مورفولوژیکی از نظر رشد، رنگ کلونی، اسپورهای میکرو و ماکروکنیدی‌ها، فیالید و کلامیدوسپور طبق کلید شناسایی معتبر انجام شد (Nelson *et al.*, 1983).

جدول۱- مشخصات کامل جدایه‌های مورد استفادهٔ قارچ *Fusarium oxysporum* در این تحقیق روی گیاه خیار

Table 1. Complete characteristics of *Fusarium oxysporum* isolates studied in this research on cucumber

کد Code	Sampling area		محل جمع‌آوری نمونه		شماره جدایه Number
	County	شهرستان	Province	استان	
F-160-11					1
F-111-5					2
H-13					3
H-35	Darreh Shahr	دره شهر	Ilam	ایلام	4
F-133-2					5
F-160-6					6
F-111-10					7
H-21					8
F-111-22					9
F-121-11	Eshkezar	اشکذر	Yazd	یزد	10
F-160-1					11
F-160-14					12
H-11					13
H-8					14
H-9					15
H-17	Nahavand	نهاوند	Hamedan	همدان	16
H-37					17
F-160-13					18
H-19					19
F-121-1					20
F-111-17					21
F-111-33	Varamin	ورامین	Tehran	تهران	22
F-111-56					23
F-160-10					24
H-29					25
F-111-29					26
H-16	Jiroft	جیرفت	Kerman	کرمان	27
H-15					28
F-111-2					29
F-160-18					30
F-111-42	Kahnouj	کهنوج			31
F-160-9					32
F-111-23					33
F-111-30					34
F-160-12			Kohgilouyeh and Bouyer Ahmad	کهگیلویه و بویراحمد	35
F-121-4	Basht	باشت			36
F-111-34					37
F-160-7					38
H-31					39
H-23					40
F-111-12	Poldokhtar	پلدختر	Lorestan	لرستان	41
F-160-23					42
F-121-14	Boroujerd	بروجرد			43
H-20					44
F-121-31	Dezfoul	دزفول			45
F-111-1					46
F-121-9					47
H-22	Behbahan	بهبهان	Khouzestan	خوزستان	48
F-160-3					49
F-111-67	Ramhormoz	رامهرمز			50

جهت تعیین میزان رشد روزانه، رنگ و شکل کلونی و فیالیدها از محیط کشت PDA و جهت تعیین خصوصیات کلیدی مورفولوژیکی از جمله ماکرو و میکروکنیدی‌ها و کلامیدوسپور از محیط کشت CLA استفاده شد.

ابتدا هر جدایهٔ قارچ روی محیط های کشت PDA و CLA کشت شد. بعد از هشت روز خصوصیات مورفولوژیکی قارچ شامل شکل، رنگ و خصوصیات پرگنه و ویژگی‌های میکروکنیدی‌ها، کلامیدوسپورها و فیالیدها مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین سرعت رشد قارچ هر دو روز یک‌بار یادداشت‌برداری انجام می‌شد.

اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها

بر طبق روش سینگلتون و همکاران (Singleton *et al.*, 1992)، مایهٔ قارچ در بستر گندم تهیه شد. بدین صورت‌که از کشت ۱۰ روزه قارچ استفاده شد و در داخل ارلن‌های حاوی گندم‌های استریل شده توسط اتوکلاو هشت دیسک از قارچ انداخته شد و ارلن‌ها در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از گذشت ۱۰ روز گندم‌ها کاملاً با قارچ آغشته شده و آماده مایه‌زنی شدند.

به ازای هر جدایه ۱۲ بذر خیار رقم نگین تهیه گردید. بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و سپس با آب مقطر سترون شستشو داده شدند و در ۴ پتری سترون ۹ سانتی‌متری حاوی کاغذ صافی سترون پخش گردیدند و بعد از آن بذرها داخل سینی کشت که حاوی پیت‌ماس سترون شده بودند، کاشته شدند تا به مرحلهٔ دو برگی رسیدند (بنی‌هاشمی، ۱۳۸۹). سینی‌های کشت در گلخانه با دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد.

بعد از رشد تا مرحله دو برگی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های یک کیلوگرمی حاوی خاک و پیت‌ماس استریل به نسبت ۱:۲ و مایهٔ قارچ (۱۰ گرم گندم آغشته به قارچ به ازای هر گیاهچه) منتقل شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای هر جدایه ۴ گلدان (هر گلدان به‌عنوان یک تکرار) و در هر گلدان ۳ گیاهچه قرار داده شد و یک گلدان به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد؛ در گلدان شاهد به جای گندم آغشته به مایهٔ قارچ، به همان میزان گندم‌های استریل شده استفاده شد (Singleton *et al.*, 1992).

پس از مایه‌زنی، گلدان‌ها بلافاصله آبیاری شدند. مشخصات هر جدایه همراه با تاریخ مایه‌زنی روی گلدان‌ها نوشته شد و در اتاق کشت با دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و یک روز بعد از مایه‌زنی گلدان‌ها مجدداً آبیاری شدند. بعد از آن هر ۴ تا ۵ روز یک بار آبیاری صورت گرفت. علائم معمولاً از روز چهارم ظاهر شده و یادداشت‌برداری‌ها زمانی‌که بیشترین علائم در بوته‌ها ظاهر شدند، آغاز گردید.

جداسازی مجدد قارچ از گیاهچه‌های بیمار

بوته‌های مایه‌زنی شده با علائم پژمردگی و یا زردی جمع‌آوری، و پس از انتقال به آزمایشگاه برای جداسازی مجدد *Fusarium oxysporum* روی محیط PDA کشت داده شدند. بدین منظور از هر جدایه یکی از گیاهانی که پژمرده شده بودند از قسمت بالای طوقه جدا گردید و در آزمایشگاه در زیر هود و کنار شعله، از قسمت‌های مرز بین بافت آلوده و سالم، ۴ قطعه جدا و پس از ضدعفونی با محلول کلراکس ۱۰ درصد به‌مدت یک دقیقه شستشو با آب مقطر روی کاغذ صافی خشک گردیده و در پتری حاوی محیط PDA اسیدی (pH= ۴/۵) کشت و در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. بعد از رشد پرگنه قارچ روی محیط کشت، شناسایی انجام گرفت.

جدول ۲- شاخص شدت بیماری پوسیدگی طوقه و خیار (Perchepied and Pitrat, 2004)

Table 2. Disease severity index of cucumber root and stem (Perchepied and Pitrat, 2004)

شاخص شدت بیماری Disease severity index	علائم بیماری	Symptoms
1	بدون علائم بیماری	No symptoms
2	زردی و پژمردگی کوتیلدون و برگ‌های اولیهٔ گیاه	Discoloration and wilt of cotyledons and first leaves
3	زردی و پژمردگی در دو برگ اولیهٔ گیاه	Discoloration and wilt of two first leaves
4	زردی و پژمردگی در سه و یا تعداد بیشتر برگ‌ها	Discoloration and wilt in three or more leaves
5	مرگ گیاهچه	Dead seedling

ارزیابی شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها

بعد از تعیین شدت بیماری طبق الگو (Perchepied and Pitrat, 2004)، جدایه‌های بیماری‌زا جداسازی و برای تفکیک کردن، به آنها کد شناسایی داده شد. سپس شدت آلودگی داده‌ها آنالیز شده و با آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. جدایه‌ها از نظر شدت بیماری‌زایی بر اساس جدول ۲ و فرمول زیر تفکیک شدند.

درصد شدت آلودگی با فرمول زیر محاسبه می شود:

$$\text{درصد شدت آلودگی} = \frac{\sum(ni \times vi)}{N \times V} \times 100$$

n_i: تعداد نمونه‌های با درجهٔ آلودگی مشابه

v_i: درجهٔ بیماری مربوط به هر نمونه

N: تعداد کل نمونه مربوط به هر تکرار

V: حداکثر درجه آلودگی

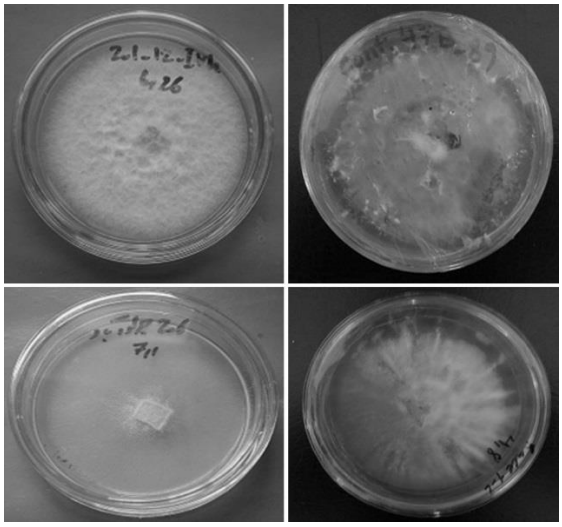
اندازه‌گیری وزن ریشه و تاج گیاهچه‌های آلوده

به منظور ارزیابی تأثیرعامل بیماری بر روی ریشه و تاج گیاه، وزن تر ریشه و تاج اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

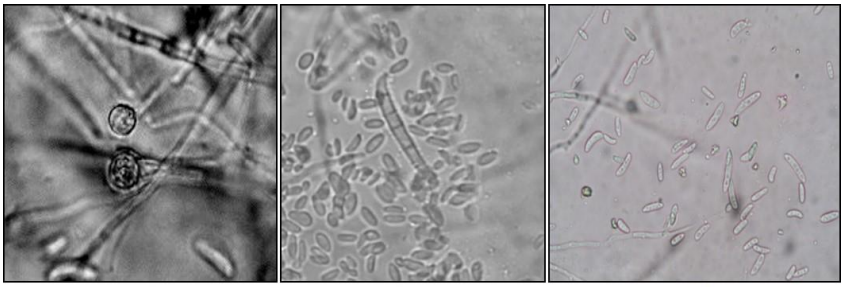
شناسایی قارچ عامل بیماری

پس از جداسازی و خالص‌سازی قارچ روی محیط کشت PDA اسیدی، پرگنه‌هایی با رشد پنبه‌ای و متراکم به رنگ‌های سفید، کرم، ارغوانی، صورتی تا بنفش تشکیل شد (شکل ۱). پس از بررسی میکروسکوپی اندام‌های زایشی شامل ماکروکنیدی‌ها، فیالیدها و کلامیدوسپورها در محیط‌های کشت مربوط به عنوان *Fusarium oxysporum* تشخیص داده شدند. رشد هر جدایه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس سریع بود؛ به‌طوری‌که در مدت ۶ تا ۸ روز به قطر ۹ سانتی‌متر رسید. به منظور اسپورزایی بیشتر، قارچ مذکور به محیط CLA منتقل شد. پس از اسپورزایی و تهیه اسلایدهای میکروسکوپی، میکروکنیدی‌های تک حجره‌ای و بیضی شکل خمیده روی منوفیالیدهای کوتاه در اطراف هیف به‌صورت سر دروغی و نیز ماکروکنیدی‌های داسی شکل، خمیده و هلالی دارای دو سر باریک و کمی خمیدگی با سه تا پنج دیواره و همچنین کلامیدوسپورها با سطح صاف یا ناصاف به صورت تکی مشاهده شدند (شکل ۲). بر اساس خصوصیات یاد شده و کلید نلسون، ۵۰ جدایه مورد بررسی به‌عنوان گونه *F. oxysporum* شناسایی شدند (Nelson *et al.*, 1983).



شکل۱- مشخصات ماکروسکوپی پرگنه قارچ *F. oxysporum* از نظر شکل و رنگ روی محیط کشت PDA

Fig. 1. Macroscopic characteristics of the fungal colony of *F. oxysporum* according to the shape and color on PDA



(ج) (ب) (الف)

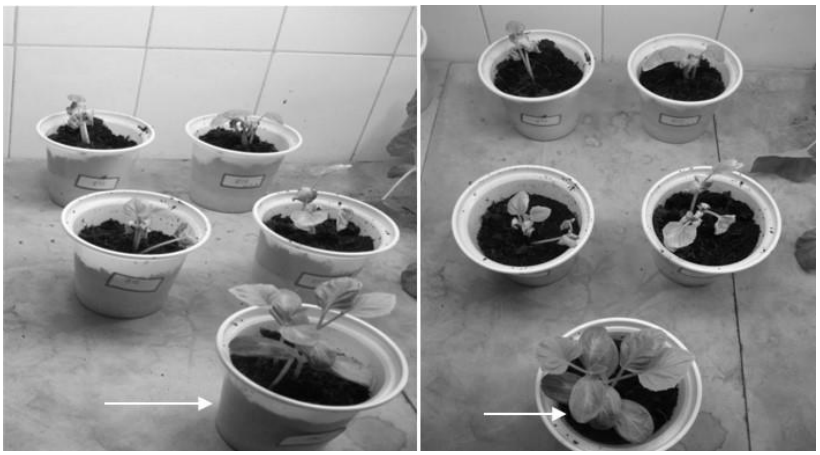
شکل۲-(الف) میکروکنیدی‌های قارچ، (ب) ماکروکنیدی قارچ، (ج) کلامیدوسپور قارچ

Fig. 2. (A) Fungal microconidia, (B) Fungal macroconidia, (C) Fungal chlamydospore

آزمون اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های *F. oxysporum* روی گیاهچه‌های خیار

در آزمون اثبات بیماری‌زایی مایه تلقیح ۵۰ جدایه خالص شده از قارچ *F. oxysporum*، تهیه شد. علائم پژمردگی تدریجی اندام‌های هوایی و زرد شدن آن‌ها ۵-۴ روز پس از مایه‌زنی مشهود بود. ابتدا قسمتی از برگ‌های آلوده به زرد کم‌رنگ، تغییر رنگ داده و سپس زردی برگ‌ها گسترده‌تر و پررنگ‌تر و سپس نکروزه شدند. میزان پژمردگی برای جدایه‌های مختلف متفاوت بود. در تیمار شاهد هیچ قارچی رشد نکرده و بوته‌ها کاملاً سالم بودند و رشد آنها بیشتر از انواع مایه‌زنی شده بود (شکل ۳).

ارزیابی میزان آلودگی ایجاد شده به‌وسیله جدایه‌های قارچی مختلف، برحسب میزان پژمردگی ایجاد شده توسط هر جدایه صورت گرفت. ریشه‌ها کمتر علائم پوسیدگی را نشان می‌دادند. تنها نسبت به ریشه‌های سالم تنک‌تر شده و انشعابات کمتری داشتند (شکل ۴). بعد از نگهداری گلدان‌ها به مدت چهار هفته مشخص گردید که ۵۰ جدایه مورد بررسی، بیماری‌زا بودند. از کشت مجدد بافت‌های آوندی بوته‌های بیمار روی محیط کشت PDA، عامل بیماری جداسازی گردید.



شکل ۳- علائم روی گیاهچه خیار (رقم نگین) مایه‌زنی شده با قارچ *F. oxysporum*، (فلش‌ها=گیاه شاهد)

Fig. 3. Disease symptoms of cucumber seedlings, Negin cultivar treated by *F. oxysporum* (arrows= control plants)

اختلاف بین ایزوله‌ها در تمام صفات بررسی شده (شدت بیماری‌زایی، درصد وقوع بیماری، وزن ریشه و وزن تاج) در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، این نشان‌دهندهٔ وجود تنوع از نظر صفات مورد ارزیابی در بین ایزوله‌ها می‌باشد. خلاصهٔ تجزیه واریانس در جدول ۳ آمده است.

.

شکل ۴- علائم روی ریشه گیاهچه خیار (رقم نگین) مایه‌زنی شده با قارچ *F. oxysporum* (فلش=ریشه سالم)

Fig. 4. Disease symptoms on the roots of cucumber seedling, Negin cultivar treated by *F. oxysporum* (arrow= control plant)

جدول ۳- تجزیه واریانس درصد بیماری، شدت بیماری و شاخصه‌های رشد ریشه و تاج

Table 3. Variance analysis of disease percentage, disease severity and root and crown growth indicators

وزن ریشه Root weight	وزن تاج Crown weight	درصد بیماری Disease incidence	شدت بیماری Disease severity	درجه آزادی df.	منابع تغییرات SOV.	
0.045**	0.303**	4.197**	6.233**	48	Isolate	جدایه
0.006	0.0109	0.903	1.402	195	Error	خطا
45.33	19.56	20.92	12.83			ضریب تغییرات Coefficient of Variance
0.51	0.865	0.605	0.59			ضریب تبیین مدل Coefficient of determination

** اختلافات معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱≥p

Significant differences in probability level of p≤0.01

مقایسهٔ میانگین صفات مورد ارزیابی

شدت بیماری‌زایی

اختلاف بین ایزوله‌های مورد آزمایش از نظر شدت بیماری بسیار معنی‌دار بود. مقایسه میانگین تیمارها به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که جدایه‌های F-111-2، F-160-12 و F-111-5 با میانگین ۱۰ بالاترین شدت بیماری را داشتند و در گروه A قرار گرفتند؛ در حالی‌که جدایه‌های F-111-33، H-21 و H-29 به ترتیب با میانگین شاخص بیماری‌زایی ۶/۸۴، ۶ و ۵۲/۸۵ کمترین شدت بیماری در گروه آماری L، L و LK قرار گرفتند (جدول ۴).

درصد وقوع بیماری

اختلاف بین ایزوله‌های مورد ارزیابی از نظر درصد وقوع بیماری معنی‌دار بود. مقایسهٔ میانگین تیمارها به روشن دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که جدایه‌های F-111-2، F-133-2 و H8 با میانگین ۵ بیشترین درصد وقوع بیماری را داشتند و در گروه A قرار گرفتند؛ در حالی‌که جدایه‌های F-111-33، F-160-1 و H-29 به ترتیب با میانگین شاخص بیماری‌زایی ۳/۲۲، ۳/۲۹ و ۱/۲۵ پایین‌ترین درصد وقوع بیماری را نشان دادند و در گروه D قرار گرفتند (جدول ۴).

وزن تاج

اختلاف بین ایزوله‌های مورد ارزیابی از نظر تأثیر روی وزن تاج گیاهچه معنی‌دار بود. مقایسهٔ میانگین تیمارها به روشن دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که ایزوله‌های جدایه‌های F-160-12، F-121-4 و F-111-10 به ترتیب با میانگین شاخص ۰/۲، ۰/۲ و ۰/۲۱ بیشترین تأثیر را روی وزن تاج داشتند و در گروه A قرار گرفتند. ایزوله‌های H-29، F-111-33 و H-21 به ترتیب با میانگین ۰/۸، ۰/۹۶ و ۱/۰۰ کمترین تأثیر را روی وزن تاج گیاهچه‌ها داشتند و در گروه N قرار گرفتند (جدول ۴).

وزن ریشه

اختلاف بین ایزوله‌های مورد ارزیابی از نظر تأثیر روی وزن ریشه معنی‌دار بود. مقایسهٔ میانگین تیمارها به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که جدایه‌های F-111-5، F-160-12 و F-121-4 با میانگین ۰/۱ بیشترین تأثیر را روی کاهش وزن ریشه داشتند و در گروه I قرار گرفتند.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی به روش دانکن در سطح احتمال P≤۰/۰۱

Table 4. Comparison of the average traits evaluated by Duncan's method at the probability level P ≤0.01

وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن اندام‌های هوایی Shoot fresh weight (g)	درصد وقوع بیماری Disease incidence (%)	شدت بیماری Disease severity (%)	جدایه‌ها Isolate
0.22 e-l	0.35 k-n	4.88 ab	9.72 ab	F-160-9
0.20 e-l	0.52 g-j	5.00 a	10.00 a	F-111-2
0.10 i	0.32 k-n	4.94 ab	10.00 a	F-111-5
0.10 i	0.20 n	4.88 ab	10.00 a	F-160-12
0.10 i	0.20 n	4.92 ab	9.85 ab	F-121-4
0.43 a	0.45 h-l	5.00 a	9.64 ab	F-133-2
0.14 i	0.22 m-n	4.89 ab	9.70 ab	F-111-17
0.12 i	0.21 n	4.75 ab	9.35 ab	F-111-10
0.16 i	0.45 h-l	5.00 a	9.82 ab	H-8
0.13 ghi	0.33 k-n	4.79 ab	9.10 ad	F-111-22
0.21 e-i	0.52 g-j	4.65 ab	9.10 ad	F-121-11
0.15 ghi	0.38 j-m	4.94 ab	9.00 a-e	H-9
0.15 ghi	0.38 j-m	4.91 ab	9.00 a-e	H-11
0.14 ghi	0.32 k-n	4.85 ab	8.96 a-f	F-111-29
0.15 ghi	0.38 j-m	4.77 ab	9.00 a-e	F-121-1
0.14 ghi	0.32 k-n	4.84 ab	8.96 a-f	F-160-18
0.15 ghi	0.38 j-m	4.90 ab	9.00 a-e	H-17
0.14 ghi	0.32 k-n	4.69 ab	8.96 a-f	H-16
0.17 ghi	0.43 i-l	4.77 ab	8.69 a-g	H-15
0.22 e-i	0.61 d-i	4.75 ab	8.63 a-g	F-111-23
0.11 h-i	0.33 k-n	3.75 abc	8.61 a-g	F-111-30
0.26 c-h	0.74 b-e	4.24 abc	8.41 a-g	F-160-6
0.14 ghi	0.88 a-b	4.77 ab	8.31 a-h	F-160-14
0.20 e-i	0.38 j-m	4.70 ab	8.13 a-h	F-111-42
0.42 ab	0.59 e-i	4.31 abc	7.69 c-i	F-160-11
0.22 e-i	0.52 g-j	4.67 ab	7.57 d-j	H-13
0.24 d-i	0.58 e-i	3.48 abc	7.45 d-j	H-35
0.26 c-h	0.74 b-e	3.29 abc	8.41 a-g	F-160-1
0.34 a-c	0.96 a	3.22 bc	6.84 h-l	F-111-33
0.39 a-d	1 a	3.78 abc	6 i-l	H-21
0.33 a-f	0.80 b	1.25 d	5.85 kl	H-29
۰0.13 ghi	0.45 h-l	4.77 ab	8.41 a-g	H-37
0.12 i	0.38 j-m	4.94 ab	7.57 d-j	F-111-34
0.14 ghi	0.59 e-i	4.65 ab	8.67 a-g	F-111-56
0.20 e-l	0.45 h-l	3.78 abc	8.41 a-g	H-23
0.14 ghi	0.38 j-m	4.77 ab	8.14 a-h	F-160-7
0.22 e-i	0.88 a-b	4.91 ab	9.00 a-e	H-31
0.12 i	0.32 k-n	4.79 ab	8.96 a-f	F-121-31
0.15 ghi	0.36 j-m	4.24 abc	9.00 a-e	F-111-1
0.34 a-c	0.59 e-i	4.67 ab	7.57 d-j	H-22
0.20 e-l	0.39 j-m	4.94 ab	8.90 a-f	F-160-3
0.11 hi	0.45 h-l	4.77 ab	8.41 a-g	F-160-23
0.15 ghi	0.74 b-e	3.78 abc	8.17 a-h	F-121-14
0.14 ghi	0.53 g-j	4.93 ab	7.57 d-j	H-20
0.24 d-i	0.43 i-l	4.65 ab	8.71 a-g	F-111-12
0.22 e-i	0.30 k-n	4.26 abc	8.41 a-g	H-19
0.13 ghi	0.59 e-i	4.79 ab	9.06 a-e	F-121-9
0.20 e-l	0.45 h-l	4.94 ab	7.59 d-j	F-160-

اما جدایه‌های F-133-2، F-160-11 و H-21 به ترتیب با میانگین ۰/۴۳، ۰/۴۲ و ۰/۳۹ کمترین تأثیر را روی کاهش وزن تاج داشتند و در گروه‌های A، A و AB قرار گرفتند (جدول ۴).

در مطالعه مشابهی لک و همکاران (۱۳۹۷) تنوع ژنتیکی ۵۰ جدایه *F. oxysporum* f. sp. *melonis* را بر روی طالبی و خربزه مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که جدایه‌های مختلف این بیمارگر علاوه بر تفاوت‌های ژنتیکی، باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در وزن تر اندام‌های هوایی گیاه، وزن ریشه گیاهچه و همچنین درصد وقوع بیماری می‌گردد. نجفی‌نیا و همکاران (۱۳۹۷) ضمن بررسی ۴۵ جدایه از بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* جمع‌آوری شده از جیرفت و کهنوج، نشان دادند که جدایه‌ها دارای نشابه ژنتیکی بسیار بالا و در عین حال قدرت بیماری‌زایی قابل ملاحظه‌ای بودند که با یافته‌های این تحقیق در ارتباط با جدایه‌های استان کرمان مطابقت دارد.

در این تحقیق ۵۰ جدایه بیماری‌زای *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* برای بررسی فاکتورهایی نظیر شدت بیماری‌زایی، درصد وقوع بیماری، وزن ریشه و اندام‌های هوایی انتخاب شدند. مشخص شد بین جدایه‌هایی که شدت بیماری‌زایی بیشتری داشتند و تأثیری که روی وزن ریشه و تاج گیاه می‌گذارند ارتباط وجود دارد. ایزوله‌هایی که دارای شدت بیماری‌زایی و درصد وقوع بیماری بیشتری بودند، بیشترین تأثیر را روی کاهش وزن تاج و ریشه داشتند. همچنین شدت بیماری‌زایی با درصد وقوع بیماری نیز مرتبط بود و جدایه‌هایی که شدت بیماری‌زایی بیشتری داشتند، درصد وقوع بیماری بالایی را نیز نشان دادند. اما بین فاکتورهای مورد بررسی و منطقه جغرافیایی این جدایه‌ها نیز ارتباط مشخصی وجود نداشت. در کل بنابر داده‌های به‌دست آمده می‌توان جدایه F-160-12 جمع‌آوری شده از استان کهگیلویه‌و بویراحمد، شهرستان باشت را به دلیل بیشترین کاهش وزن ریشه (۰/۲ گرم) و تاج گیاه (۰/۱ گرم) و نیز بالاترین میزان شاخص بیماری‌زایی (۴/۸۸) و شدت بیماری (۱۰) به‌عنوان بیماری‌زاترین جدایه از بین جدایه‌های مورد بررسی معرفی نمود.

منابع References

الهی‌نیا، ع. ۱۳۸۷. بیمای‌شناسی گیاهی و شناخت قارچ‌ها و سایر عوامل بیماری‌زا در گیاهان. انتشارات دانشگاه گیلان.

بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۸۹. واکنش طالبی به نژادهای *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. بیماری‌های گیاهی ۴۶(۱):۲۲-۱۱.

سرپله، الف. اسماعیل‌زاده حسینی، ع. و نجفی‌نیا، م. ۱۳۸۲. پراکنش و شناسایی بیماری‌های قارچی خاکزاد خیار گلخانه‌ای. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، ۲۱ صفحه.

علیزاده، ح. ر. و سالاری، خ. ۱۳۹۵. القای مقاومت علیه پوسیدگی فوزاریومی ریشه و ساقه خیار به‌وسیله جدایه‌های ترکودرما و سودوموناد‌های فلورسنت جدا شده از ریزوسفر خیار. پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۵(۲): ۲۱۵- ۲۲۵.

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 ایران ۷(۱): ۶۹-۸۳.

نجفی‌نیا، م. و میرزاده آبگرمی، ز. ۱۳۹۹. پیشگیری از بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه خیار ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* با پیوندزنی روی پایه‌های کدوئیان. آفات و بیماری‌های گیاهی ۸۸(۱): ۷۷-۸۷.

نجفی‌نیا، م.، شهابی، ا. و رضائی، س. ۱۳۹۷. بررسی جدایه‌های عامل بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه فوزاریومی خیار گلخانه‌ای با استفاده از آزمون بیماری‌زایی، گروه‌های سازگاری رویشی و نشانگر مولکولی. پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران ۳۲(۱): ۴۹-۵۷.

یوسفی، ح.، صاحبانی، ن.، فرآورده، ل. و مهدوی، و. ۱۳۹۰. تلفیق سالیسیلیک اسید و *Bacillus subtilis* در کنترل پوسیدگی ساقه و ریشه خیار ناشی از *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices-cucumerinum* و بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز. دانش گیاهپزشکی ایران ۴۲(۲): ۳۵۱-۳۳۹.

Javanshir Javid, K., Mahdian, S., Behboudi, K. and Alizadeh, H. R. 2016. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* by some *Trichoderma harzianum* isolates. Archives of Phytopathology and Plant Protection 49: 471-484.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O.1983. Fusarium species: an Illustrated manual for identification. Pennsylvania state University press, university park. 193 p.

Nosrati, S., Zamanizadeh, H. R., Morid, B. and Eslami, G. 2017. The use of scar markers to identify *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum.* Moderm Genetics Journal 12(3): 477-482.

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

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.

Vakalounakis, D. J. 1996. Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* f. sp. nov. Plant Disease 80: 313-316.

Comparison of virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* isolates from different regions of Iran and their impact on vegetative growth of cucumber

F. Lak[1], P. Kermani [2*] and S. H. Shojaei[2]

Received: 22 Nov., 2021 Accepted: 9 Mar., 2022

ABSTRACT

Fusarium wilt on cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* is an important and common disease of cucumber in Iran. In this study, differences of pathogenicity between several isolates and their impact were assessed on the plant growth parameters. The pathogenicity of 50 isolates collected from cucumber plants with wilting and yellowing symptoms from different geographic areas of Iran, were examined on cucumber, Negin cultivar. The inoculated and control plants were placed at 25°C for 14 days. Disease severity and the weight of root and crown were measured 10 days post-inoculation. Studied factors showed significant difference at 1% level among isolates of *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*. The maximum percentage of disease was observed in plants treated by F-111-2, F-133-2 and H8; while the highest disease severity induced in plants treated by F-111-2, F-160-12 and F-111-5. F-111-5, F-160-12 and F-121-4 incited the most decrease in root weight. The crown weight decrease in the presence of F-160-12, F-121-4 and F-111-10 isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* correspondingly. Totally, due to the results, it could be concluded that f-160-12 can be considered as the most severe pathogenic isolate.

Key words: Disease severity, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, growth parameters

1. Teacher of Technical and vocational university, Shariati Technical and Vocational College, Tehran, Iran.
2. Teacher of Technical and vocational university, Technical and Vocational College, Damavand Branch, Damavand, Tehran, Iran.

Corresponding author: kermani.payman@gmail.com