گیاهپزشکی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۴۱ شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷

ارزیابی مقاومت برخی توده‌های خربزه و طالبی به نژاد ۲-۱ نسبت به *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* عامل پژمردگی فوزاریومی

مهرداد حنیفه‌ئی[۱]، حمید دهقانی[۲*]، رجب چوکان[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- ***نویسنده مسوول:** استاد گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (dehghanr@modares.ac.ir)

۳- استاد پژوهشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۱۵

چکیده

پژمردگی آوندی خربزه و طالبی ناشی از *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (*Fom*) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های این گیاه در دنیا می‌باشد. به منظور ارزیابی واکنش توده‌های خربزه و طالبی نسبت به این بیماری، ۵۷ توده بومی و خارجی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در یک آزمایش گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. ریشه‌های زخمی شده گیاهچه‌های یک تا دو برگی ۱۵ روزه با سوسپانسیون اسپور قارچ مایه‌زنی و به سینی‌های کشت برگردانده شدند. میزان فنل کل، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، شدت بیماری، درصد گیاهان مرده و دوره نهفتگی در آن‌ها تعیین و یادداشت‌برداری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برای همه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود که بیانگر وجود تنوع گسترده برای همه صفات مورد مطالعه در این توده‌ها می‌باشد. ژنوتیپ ایزابل مقاومت بالایی به بیماری نشان داد و تمام توده‌های ایرانی خربزه و طالبی به بیماری حساسیت نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای، توده‌ها را در پنج گروه متفاوت طبقه‌بندی کرد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین توده‌های گروه‌های دوم و پنجم به دست آمد. بر این اساس و با انجام تلاقی بین توده‌های گروه‌های دوم و پنجم می‌توان جمعیت‌های پایه‌ای برای انجام مطالعه نحوه عمل و شناسایی ژن(های) موثر در تحمل به پژمردگی آوندی فوزاریومی تشکیل داد.

***کلید واژه‌ها:** پژمردگی آوندی، فنل کل، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، شدت بیماری، دوره نهفتگی، مقاومت، تجزیه خوشه‌ای.*

مقدمه

جالیزکاری در نیم قرن اخیر در دنیا گسترش یافته و یکی از زراعت‌های مهم و اقتصادی محسوب می‌شود. ارزش غذائی گیاهان جالیزی مربوط به انواع قندها و ویتامین‌های موجود در آن‌ها است. از نظر متخصصان تغذیه انواع مختلف کدوییان به عنوان میوه‌های کم کالری محسوب می‌شوند و برای تغذیه انسان‌ها بسیار مناسب هستند. تعداد و مقدار اسیدهای آمینه آن‌ها کم است و قسمت عمده‌ی میوه‌ی آن‌ها را آب تشکیل می‌دهد. هیدرات‌های کربن در این میوه‌ها در درجه دوم قرار دارند و وجود مواد معدنی در آن‌ها نیز حائز اهمیت است (Poostchi, 2001). تنوع در ارقام *Cucumis melo* شاید بیشتر از سایر کدوییان در ایران

باشد. کدوییان شامل خربزه (*C. melo* var. *inodorus*)، طالبی (*C. melo* var. *cantalupenses*)، گرمک (*C. melo* var. *reticulatus*)، خیار چنبر (*C. melo* var. *flexusus*) و دستنبو (*C. melo* var. *dudaims*) است. اکثر دانشمندان معتقدند که ملون مثل بقیه زیر جنس‌های Melo از آفریقا منشا یافته است (Robinson and Decker-Walters, 1997). با این حال برخی معتقدند مرکز کدوییان در مراکز تمدن‌های قدیمی یعنی هند، چین، ایران و ترکیه بوده است (Keinath, 2011). با توجه به میزان کشت و کار بالای این این گیاه جالیزی در سال ۲۰۱۵ میزان تولید انواع ملون در کشور ۱/۲ میلیون تن بوده است (Anonymous, 2015).

پژمردگی آوندی با عامل *F. oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *melonis* (*Fom*) به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خاکزاد ارقام *C. melo* در نقاط معتدله و سردسیر شایع است و هر ساله خسارات جبران ناپذیری به محصول آن‌ها در مزرعه و همچنین به محصول آن‌ها در گلخانه وارد می‌کند. این بیماری اولین بار در سال ۱۹۳۳ از شمال آمریکا گزارش شد. سپس در سال ۱۹۳۸ توصیف و در سال ۱۹۴۰ اختصاصی بودن آن به گونه *Cucumis melo* L. اثبات شد (Banihashemi, 1968a). طبق گزارش‌های فراوان محققین، در حال حاضر این بیماری در مناطق وسیعی از جهان از جمله ایتالیا (Belisario, 2000)، آمریکای شمالی و مرکزی (Zuniga et al., 1997)، اروپا (Gomez Vasquez and Tello Marquina, 2000)، آسیا (Erzurum et al., 1999)، و همچنین در آفریقا (Schreuder et al., 2000) شیوع دارد. عامل بیماری به صورت غیر یکنواخت در نواحی پرورش خربزه وجود دارد. قارچ عامل این بیماری به ارقام دیگری از قبیل گرمک و خیار چنبر نیز حمله می‌کند اما روی خیار، هندوانه و انواع کدو بیماری‌زا نیست. علائم بیماری روی گیاهان، ممکن است با علائم مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه که توسط سایر قارچ‌ها ایجاد می‌شود، اشتباه گردد (Etebarian, 2002).

عامل بیماری باعث زردی، کوتولگی، پژمردگی و در نهایت مرگ گیاه می‌شود. علائم بیماری معمولاً بعد از ظهور گل و تشکیل میوه ظاهر می‌شود ولی در مزارع با آلودگی بالا در مرحله چند برگی نیز دیده شده است، که در این حالت باعث زردی، توقف رشد، پژمردگی و از پا افتادگی بوته‌های جوان می‌شود (Banihashemi, 1989).

ایجاد مقاومت در یک ژنوتیپ مستلزم شناخت تیپ‌های بیماریزا و ژنهای مقاومت و اثرات ژنی در مورد مقاومت‌های کمی است. چهار نژاد شناخته شده این بیماری، برای اولین بار با ملاحظه واکنش جدایه‌های قارچ روی ژنوتیپ‌های شارنته تی[1]، ایزوبلون[2]، ایزوواک[3] و مارگوت[4] تعریف شده‌اند که شامل نژادهای صفر، یک، دو و ۲-۱ می‌باشند (Risser et al., 1976; Mas et al., 1981). در ایران اولین بار در سال ۱۳۴۴ عامل بیماری از خربزه از حومه مشهد در استان خراسان رضوی جداسازی گردید (Banihashemi, 1968a, 1968b) و روی ارقام *C. melo* اثبات بیماری‌زایی شد. در ایران تاکنون نژادهای ۱ از مشهد و گرمسار (Banihashemi, 1989) و نژاد ۲-۱ از استان فارس و اصفهان (Zakeri and Banihashemi, 1996) و کاشان (Banihashemi, 2010) گزارش شده است.

فنل‌ها ترکیباتی با وزن مولکولی پایین می‌باشند که پس از حمله عوامل بیماری‌زا میزان آن‌ها در گیاه افزایش پیدا می‌کند. این ترکیبات با ترکیبات سلول‌های دیواره اتصال دارند و در پاسخ به آلودگی آن‌ها آزاد شده،

1- Charentais T
2- Isoblon
3- Isovac
4- Margot

به سرعت در محل آلودگی تجمع یافته، باعث غیر فعال شدن آنزیم‌های قارچ شده و یا ترکیبات ساختمانی گیاه را تقویت می‌کنند. تغییرات مقدار ترکیبات فنلی و نقش آن‌ها در ایجاد مقاومت در گیاهان مبتلا به بیماری‌ها مورد مطالعه محققان قرار گرفته و گزارش‌های این محققان نشان می‌دهد که تجمع مواد فنلی اغلب در ارتباط با واکنش مقاومت است. بررسی تغییرات کمی ترکیبات فنلی روی ارقام مقاوم کاهو و حساس در ۳، ۶، ۱۰ و ۲۰ روز بعد از مایه‌زنی نشان داد که در سه روز بعد از مایه‌زنی مقدار کل فنل در بافت آلوده در رقم مقاوم نسبت به رقم حساس افزایش معنی‌داری دارد. در صورتیکه در سایر مراحل مقدار کل فنل در بافت‌های رقم حساس یک روند افزایشی شدیدی در مقایسه با ارقام مقاوم دارد (Dehghani et al., 2001). افزایش غلظت ترکیبات فنولیک در بافت کاکل ارقام مقاوم ذرت با مقاومت آنها به قارچ *Fusarium graminearum* مرتبط است (Reid et al., 1992).

ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی برای برنامه‌های اصلاح‌نباتات و حفاظت از ذخایر توارثی و یا انتقال مقاومت به پایه‌های دارای خصوصیات مطلوب کاربرد زیادی دارد. آگاهی از تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی برای انتخاب والدین مناسب در جهت حصول دورگ‌های ارزشمند و با کیفیت و پیش‌بینی بنیه دورگ به ویژه در محصولاتی که دورگ آن‌ها ارزش تجاری دارند، بسیار مهم است. روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی وجود دارد. از آنجایی که روش‌های آماری چند متغیره به طور همزمان چندین صفت را مد نظر قرار می‌دهند، لذا در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بر پایه داده‌های مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی کاربرد وسیعی دارند. استفاده از روش‌های تجزیه و تحلیل چند متغیره برای طبقه‌بندی ژرم‌پلاسم و تجزیه و تحلیل روابط ژنتیکی موجود بین مواد اصلاحی امری الزامی می‌باشد. تجزیه خوشه‌ای یکی از روش‌های مناسب برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها است که به طور وسیعی برای تجزیه الگوی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی مورد استفاده قرار می‌گیرد، به طوری‌که در به‌نژادی گیاهی هدف اصلی از تجریه خوشه‌ای، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و یا جمعیت‌هایی است که بیشترین فاصله را با هم دارند (Mazinani et al., 2012).

مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی برخی توده‌های بومی کدوییان استان‌های مرکزی و شمالی ایران، با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی نشان داد که تنوع زیادی در نمونه‌های مورد مطالعه وجود داشت (Feyzian et al., 2007).

انجام برنامه اصلاحی برای آزاد نمودن یک یا چند رقم مقاوم به بیماری پژمردگی آوندی ضروری به نظر می‌رسد. از آنجایی که توده‌های بومی همه از لحاظ ژنتیکی ناهمگن هستند، به عنوان یک منبع تنوع زیستی زراعی مهم، هم به دلیل ارزش زراعی محصولات آن‌ها و هم به دلیل صفات مفید آنها برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی و به ویژه به خاطر سازگاری با تغییرات اقلیمی و شرایط آب و هوایی جدید از اهمیت زیادی برخوردار هستند (Mazinani et al. 2012).

طراحی برنامه های به نژادی نیازمند بررسی وجود تنوع در بین جمعیت‌هاست، لذا در این تحقیق واکنش پنجاه و هفت توده خریزه و طالبی نسبت به قارچ عامل پژمردگی آوندی در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت تا ارقام مقاوم در برنامه‌های به‌نژادی برای تولید ارقام دورگ شناسایی شوند.

مواد و روش‌ها

جدایه مهارلو فوم ۲-۱ از بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه شد. اثبات بیماریزایی با استفاده از لاین اینبرد شارنته تی (شاهد حساس) انجام شد.

بذرهای توده‌ای مختلف *C. melo* شامل خربزه و طالبی به همراه ارقام افتراقی که از نظر ظاهری سالم بودند از واحد سبزی و صیفی بخش مرکز تحقیقات کشاورزی استان تهران و موسسه اینرا[1] (فرانسه) تهیه شد (جدول ۱). بذور ارقام *C. melo* پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلرید سدیم (۵٪) به مدت ۵-۳ دقیقه و آبکشی با آب لوله (سه مرتبه) در سینی‌های کشت حاوی خاک سترون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. خاک مورد استفاده در سینی‌های کشت شامل دو قسمت خاک مزرعه، یک قسمت پیت ماس و یک قسمت پرلیت بود. خاک در ۸۰ °C به مدت سه ساعت در سه روز متوالی پاستوریزه و پس از سرد شدن در گلخانه استفاده شد. سینی‌های کشت با خاک پر شدند و در هر سینی تعداد ۱۸ عدد بذر از هر توده قرار داده شد. بذرهای جوانه زده هر روز تا رسیدن به مرحله دو برگی آبیاری شدند.

نگهداری و کشت مجدد جهت تکثیر جدایه مهاجم در دو مرحله صورت پذیرفت. در مرحله اول به هر تشتک پتری حاوی محیط کشت عصاره سیب زمینی دکستروز آگار[2] (PDA) (عصاره ۳۰۰ گرم سیب زمینی + ۲۰ گرم دکستروز + ۱۶ گرم آگار) یک قرص از کشت خالص و تازه جدایه فوم ۲-۱ اضافه شد. تشتک‌ها در ژرمیناتور °C ۲۵ نگهداری شدند. در مرحله دوم جهت بازیابی و افزایش قدرت بیماری‌زایی جدایه فوم ۲-۱، ابتدا ماسه و کاه گندم به نسبت (۱:۹) مخلوط و در اتوکلاو در °C ۱۲۱ و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند سپس کنیدیوم‌های تولید شده با روش بالا با مخلوط ماسه و کاه گندم سترون مخلوط گردید. برای تولید اندام مقاوم کلامیدوسپور ابتدا به مدت یک ماه در °C ۲۰ و سپس به مدت ۶-۴ ماه در °C ۴ نگهداری شد تا جمعیت فوم به حد ثابت برسد (Banihashemi and de Zeeuw, 1975).

برای تهیه زادمایه قارچ عامل بیماری دو گرم از مخلوط ماسه و کاه گندم حاوی کلامیدوسپور به داخل تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA اضافه شد و در داخل ژرمیناتور °C ۲۵ زیر نور فلورسنت به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند. جهت تهیه زادمایه سوسپانسیون کنیدیوم‌ها (غالبا میکروکنیدیوم) از کشت‌های ۱۲ روزه قارچ عامل بیماری بر روی محیط کشت PDA استفاده شد. سطح محیط کشت با ۴ تا ۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون و با استفاده از لام شیشه‌ای سترون شسته شد. به منظور جداسازی محیط کشت، سوسپانسیون از پارچه ململ دو لایه سترون عبور داده شد. شمارش اسپور سوسپانسیون با لام گلبول شمار (هماسیتومتر) صورت گرفت و با آب مقطر سترون رقیق سازی شد تا رقت معادل با ۱×۱۰^{۶} اسپور در میلی‌لیتر به دست آمد. پس از ۱۵ روز و رسیدن به مرحله یک تا دو برگ حقیقی، ۱۵ گیاهچه هر توده از خاک بیرون آورده شد و ریشه آن‌ها با آب مقطر سترون به طور کامل شسته شد. سپس ریشه‌ها به مدت سه تا چهار دقیقه در ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور با رقت معادل ۱×۱۰^{۶} اسپور در میلی‌لیتر قرار گرفت. ریشه سه گیاهچه شاهد نیز در آب مقطر سترون قرار گرفت. گلدان‌های حاوی گیاهچه‌ها به گلخانه با دمای متوسط روزانه °C ۲۸-۲۲ و دمای متوسط شبانه °C ۱۷-۱۲ (۱۶ ساعت) منتقل شده و هر روز آبیاری شدند.

در مورد آزمون بیماری‌زایی با استفاده از ژنوتیپ شارنته تی (شاهد حساس) در شرایط گلخانه با روش فرو بردن ریشه در سوسپانسیون کنیدیوم (۱×۱۰^{۶}) بیماری‌زایی جدایه فوم ۲-۱ به اثبات رسید (شکل ۱). پس از گذشت دو هفته قسمت انتهایی ساقه (نواحی نزدیک به مریستم) ژنوتیپ شارنته تی که دارای نشانه‌های بیماری بودند، جداسازی و در محیط PDA کشت گردید. قارچ به دست آمده با

1- Institut National de la Recherche Agronomique
2- Potato Dextrose Agar

مشخصات میکروسکوپی قارچ به کار رفته در آزمون مطابقت داشت.

تعیین نژاد تکمیلی روی لاین‌های شارنته تی، شارنته F_1، شارنته F_2، ویرگوس، CM17-187 و ایزابل و ملاحظه واکنش ناسازگاری روی لاین اینبرد ایزابل صورت گرفت (شکل ۱).

جدول ۱- شماره، نام و منشأ توده‌های خربزه و طالبی مورد آزمایش

Table 1. Numbers, names and origins of melon landraces used in this study

No.	Genotype	origin	No	Genotype	origin
1	Ghasri1	Khorasan	30	Zard-Eyvanakey	Garmsar
2	Shadegani	Khorasan	31	Charentais Fom1	INRA
3	Dastanboo atashi	Khorasan	32	Tashkandi2	Khorasan
4	Ananasi	Market	33	Mashhadi	Khorasan
5	Gorgab-e –bozorg	Esfahan	34	Isablle	INRA
6	Japalizi1	Khorasan	35	Behta minoo	Market
7	Jalali	Semnan	36	Ananasi2	Market
8	Charentais Fom2	INRA	37	PI124112	INRA
9	Poost zard	Seman	38	Vrgous	INRA
10	Suski	Seman	39	Biarjmand	Shahrud
11	PMR-5	INRA	40	Bandar Abbas	Bandar bas
12	Tashkandi1	Khorasan	41	Zydri-Shahrud	Shahrud
13	Khaghani	Khorasan	42	Robati	Semnan
14	Jarjoo	Gonbad	43	Sabz	Isfahan
15	Sooski2	Semnan	44	Makhrooti-Zard	Semnan
16	Ghasri2	Khorasan	45	Rahmanlo	Tabriz
17	Japalizi2	Khorasan	46	Khaghani-Gerd	Khorasan
18	Khaghani2	Khorasan	47	Dargazi tashkandi	Khorasan
19	Chakherje	Gonbad	48	Gorgabe koochak	Isfahan
20	Haj mashalahi	Khorasan	49	Khaghani-moshabak	Khorasan
21	Charentais T	INRA	50	Hybrid delovro	Market
22	Khatoni sang bas	Neyshabur	51	Sefidak	Zabol
23	Gilan	Gilan	52	Bahar	Hamedan
24	Shadegani2	Khorasan	53	Ajabshir	Ajab shir
25	PI414723	INRA	54	Hector melon	Market
26	Jarjoo2	Gonbad	55	Magasi	Neyshabur
27	Samsoori	Varamin	56	CM17187	INRA
28	Zard-Ghanari	Market	57	Talebi-Saveh	Saveh
29	Honeydew	Market			

شکل ۱- واکنش ارقام افتراقی خربزه و طالبی سه هفته پس از آلودگی به نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. رقم مقاوم ایزابل بدون علائم و بروز علائم (خشکیدگی یا مردگی) در سایر ارقام حساس.

Figure 1. Response of differential cultivar of melons three weeks after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2. Isablle resistance cultivar is asymptomatic but susceptible cultivars are dead or dying.

صفات مورد ارزیابی مرتبط با تحمل به بیماری

پس از مایه‌زنی مصنوعی، تاریخ مایه‌زنی ثبت و تاریخ ظهور اولین علائم روی بوته‌ها یادداشت شده و گسترش علائم در روی بوته‌ها هر روز در یک نوبت و در مدت زمان نه روز متوالی مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد بوته‌های مرده یادداشت و درصد گیاهان مرده در مقایسه با گیاهچه‌های ژنوتیپ شاهد حساس (شارنته تی) محاسبه شد (Rezaei and Alizadeheh, 1999; Hayat-moghaddam et al., 2011). صفت دوره نهفتگی (کمون) بیماری، بر اساس تعداد روز از زمان مایه‌زنی تا ظهور اولین علائم بیماری در گیاهچه‌های مورد ارزیابی اندازه‌گیری شد.

واکنش ارقام مورد بررسی بر اساس شدت بیماری تعیین شد. نمره امتیاز دهی براساس علائم بیماری برای بوته کاملا سالم و بدون علائم زردی ، نکروز یا پژمردگی، نمره ۱؛ زردی لپه‌ها یا اولین برگ حقیقی نمره ۲؛ زردی یا پژمردگی دو برگ حقیقی اول نمره ۳؛ زردی یا پژمردگی ۳ برگ حقیقی یا بیش از آن و قهوه ای شدن ساقه نمره ۴؛ خشکی کامل و مرگ گیاه نمره ۵ داده شد (Perchepied and Pitrat, 2004). بر اساس روش

Chikh-Rouhou et al. (2007) با اندکی تغییر، توده‌های با شدت بیماری با نمره یک، جزو توده‌های خیلی مقاوم؛ توده‌های با نمره ۲-۱/۱ مقاوم؛ توده‌های با نمره ۳-۲ نیمه مقاوم؛ توده‌های با نمره ۴-۳ حساس و توده‌های با نمره بیشتر از ۴ جزو توده‌های خیلی حساس طبقه بندی شدند.

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری[1] (AUDPC) طبق رابطه پیشنهادی Campbell and Madden (1990) محاسبه گردید:

$$AUDPC = \Sigma_i[(x_i + x_{i+1})/2](t_{i+1} - t_i)$$

در رابطه فوق؛ x_i، میانگین نمره بیماری گیاه در روز iام؛ x_{i+1}، میانگین نمره بیماری در روز i + 1ام و $t_{i+1} - t_i$، فاصله دو زمان نمونه‌برداری می‌باشد.

برای اندازه‌گیری میزان فنل کل نمونه‌برداری از ریشه تعدادی گیاهچه در هر واحد آزمایشی در چهار نوبت به فاصله دو روز بعد از مایه‌زنی انجام گرفت. سپس نیم گرم ریشه تازه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ در هاون کاملا له و عصاره‌گیری شد. مخلوط حاصل از پارچه ململ دو لایه عبور داده شد و باقیمانده بافت له شده داخل هاون و بافت چسبیده به پارچه ململ دو بار و هر بار با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ شسته شد و صاف گردید و به عصاره اول اضافه شد. نهایتا عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول قسمت فوقانی لوله برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار کل مواد فنلی در عصاره ریشه‌ها با استفاده از معرف فولین اندازه‌گیری گردید (Swain and Hillis, 1959). نیم میلی‌لیتر عصاره با هفت میلی لیتر آب مقطر در یک لوله آزمایش ریخته و محتوی لوله خوب مخلوط گردید. آنگاه نیم میلی‌لیتر معرف فوق به لوله اضافه و سپس لوله کاملا تکان داده شد. پس از سه دقیقه یک میلی لیتر کربنات سدیم اشباع به محتوی لوله اضافه و مجددا خوب مخلوط گردید. پس از یک ساعت مقدار جذب رنگ با طول موج ۷۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (اسپکتوفوتومتر مدل Jenway, UV-6505) خوانده شد. همچنین لوله خالی با معرف تنها استفاده گردید و برای هر نمونه عصاره، میانگین سه قرائت در محاسبات منظور گردید.

داده‌های یادداشت برداری شده قبل از تجزیه آماری برای همگنی واریانس‌ها و نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی از طریق آزمون کولموگروف-سیمروف[2] (Lilliefors, 1967) بررسی شدند. تبدیل داده‌ها به روش جذری ($\sqrt{X+0.5}$) برای صفاتی که از شمارش حاصل شده بود و یا به صورت درصدی بودند، انجام گرفت. سپس برای داده‌ها بر اساس مدل آماری طرح بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه واریانس Repeated measures انجام شد (Kirk, 1995). آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 (SAS Institute Inc. 2004) و MINITAB (Minitab, 2007) انجام شد. مقایسه میانگین توده‌ها برای صفات مختلف به روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار[3] (LSD) در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و تجزیه خوشه‌ای به روش وارد[4] با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ (SPSS, 2010) انجام شد.

نتایج

نتایج تکمیلی تعیین نژاد روی ارقام افتراقی در جدول ۲ نشان داده شده است. ارقام شارنته تی، شارنته F_2، شارنته F_1، ویرگوس، CM17-187 و ایزابل به ترتیب دارای بیشترین شدت بیماری بودند که نشان دهنده واکنش ناسازگاری روی لاین اینبرد ایزابل بود.

1- Area Under Disease Progress Curve

2- Kolmogorov-Smirnov

3- Least Significant Difference

4- Ward

جدول ۲- نمره علائم بیماری ۱(کاملا سالم) تا ۵ (مرده) در ارقام افتراقی مایه‌زنی شده با نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Table 2. Scored symptoms ranging from 1 (no symptoms) to 5 (dead plant) in the differential cultivars inoculated with race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Differential cultivar	Race	Symptom severity scale/No. of plants scored					
		1	2	3	4	5	Mean value
Charentais T	1.2	-	-	-	-	30	5.00
Charentais F_2	1.2	-	-	11	8	11	4.00
Charentais F_1	1.2	-	-	9	13	8	3.96
Virgous	1.2	-	1	14	5	11	3.96
CM17-187	1.2	-	-	16	7	7	3.70
Isablle	1.2	30	-	-	-	-	1.00

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف توده‌های مورد مطالعه برای همه صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳) که بیانگر وجود تنوع گسترده برای همه صفات مورد مطالعه در این توده‌ها می‌باشد. بوته‌های خربزه و طالبی در روزهای مختلف پس از مایه‌زنی در اثر حمله قارچ عامل بیماری دچار مرگ‌ومیر شدند ولی در گیاهان شاهد هیچ گونه آلودگی مشاهده نشد.

میانگین صفات دوره نهفتگی، درصد گیاهان مرده، شدت بیماری، AUDPC و فنل کل درجدول ۴ درج شده است. با توجه به میانگین درصد گیاهان مرده، جز ژنوتیپ ایزابل هیچ یک از توده‌های خربزه و طالبی‌های ایرانی مقاومتی به فوم ۲-۱ نشان ندادند و شدیدا به آن حساس بودند. برخی از ارقام خارجی مانند شارنته در مقابل فوم۱ (۶۸/۷۸) مقاومت ضعیفی از خود نشان دادند ولی رقم ایزابل (۲۰) مقاومت بیشتری به عامل بیماری داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین شدت بیماری بر اساس روش Chikh-Rouhou et al. (2008) در شرایط گلخانه نشان داد که توده ایزابل دارای کمترین شدت آلودگی (۱/۰۷) و جزو توده‌های خیلی مقاوم قرار می‌گیرد. توده‌های جاپالیزی۱، پوست زرد، سوسکی، مگسی، زرد ایوانکی، شارنته فوم۱، تاشکندی، بهتا مینو، رباتی، خربزه سبز و گرگاب کوچک در گروه نیمه مقاوم قرار گرفتند. توده‌های قصری۱، دستنبو آتشی، جلالی، شارنته فوم۲، پی‌ام‌آر-۵، تاشکندی۱، قصری۲، خاقانی۲، چاخرجه، حاج ماشالهی، گیلان، جارجو۲، سی‌ام 17-187، طالبی ساوه، سمسوری، زرد قناری، هانی دیو، مشهدی، آناناسی۲، پی‌آی 124112، ویرگوس، بیارجمند، بندرعباس، زیدری، مخروطی زرد، رحمانلو، خاقانی گرد، درگزی، خاقانی مشبک، هیبرید دل‌اورو، سفیدک، عجب شیر و ملون هکتور در گروه حساس و شادگانی۱، آناناسی۱، گرگاب بزرگ، شارنته‌تی، خاقانی۱، جارجو۱، سوسکی۲، جاپالیزی۲، خاقانی سنگ بست، شادگانی۲، پی‌آی 414723 و بهار در گروه بسیار حساس قرار گرفتند.

طولانی‌ترین میانگین صفت دوره نهفتگی متعلق به توده شارنته فوم۱ با ۱۲/۸۱ روز و کوتاه‌ترین آن متعلق به توده‌های حساس شادگانی۲ و سوسکی۲ با ۷ روز بود و برای سایر توده‌ها از ۷ روز تا ۱۳ روز در سایر توده‌ها متغیر بود. مقایسه میانگین داده‌های برای سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نشان داد که کمترین مقدار سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مربوط به رقم ایزابل و بیشترین مقدار مربوط به توده شادگانی۲ بود. در تحقیقی (2008) Chikh-Rouhou et al. با مقایسه جمعیت‌های F_1 حاصل از تلاقی BG-5384 × Piel de Sapo و والدین مربوط گزارش کردند که هر چه میزان سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری کمتر باشد توده‌ها مقاومت بیشتری به فوم ۲-۱ نشان می‌دهند. مقایسه میانگین مقادیر فنل کل نشان داد که بیشترین و کمترین میزان فنل تولید شده به ترتیب در توده‌های ایزابل و خاتونی سنگ بست بود.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فنل کل، AUDPC، شدت بیماری، درصد گیاهان مرده و دوره نهفتگی در توده‌های خربزه و طالبی آلوده به نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Table 3. Analysis of variance for phenol compound, AUDPC, disease severity, percentage of dead plants and latent period in melon landraces inoculated with race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

S.O.V	df.	Mean Square	df	Mean Square			
		PCs		AUDPC	Disease severity	Percentage of dead plants	Latent period
Replication	2	253.03**	2	3.68**	5.15**	0.03*	48.93**
Genotype	56	45.12**	56	0.28**	1.31**	0.03**	6.64**
Time (T)	4	940.61**	-	-	-	-	-
Replication(T)	8	19.87**	-	-	-	-	-
Genotype (T)	224	3.54ns	-	-	-	-	-
Error	560	3.20	112	0.06	0.20	0.009	1.55
CV%		12.99		1.20	12.88	9.98	12.79

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: Significant at 5%, 1% probability levels and non-significant, respectively.

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات فنل کل، AUDPC ، شدت بیماری، درصد گیاهان مرده و دوره نهفتگی در توده‌های خربزه و طالبی آلوده به نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Table 4. Mean comparison of phenol compound, AUDPC, disease severity, percentage of dead plants and Latent period traits in melon landraces inoculated with race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Genotype	PCs (mg/g)	AUDPC	DSI	P.D.P (%)	L.P (Day)	Genotype	PCs (mg/g)	AUDPC	DSI	P.D.P (%)	L.P (Day)
Ghasri 1	8.45	24.96	3.67	100.00	9.18	Samsoori	8.28	29.12	3.94	100.00	8.56
Shadegani	8.11	27.48	4.10	100.00	8.21	Zard –Ghanari	8.56	26.32	3.70	95.83	9.14
Dastanboo atashi	8.58	28.45	3.61	100.00	9.29	Honeydew	8.76	24.01	3.44	100.00	9.91
Ananasi	8.13	25.48	4.11	96.30	7.69	Zard-Eyvanekey	9.75	23.30	2.68	93.33	11.88
Gorgab bozorg	8.10	26.72	4.26	100.00	8.09	Charentais Fom1	9.83	22.81	2.23	68.78	12.81
Japalizi1	9.87	25.01	2.71	100.00	11.54	Tashkandi 2	9.58	26.68	2.81	95.83	11.44
Jalali	9.03	26.93	3.16	100.00	10.38	Mashhadi	8.94	25.31	3.26	100.00	10.27
Charentais Fom2	8.88	24.08	3.32	91.67	10.13	Isablle	9.87	10.29	1.08	20.00	12.78
Poost zard	9.68	18.62	2.62	80.00	12.41	Behta minoo	9.68	22.68	2.65	100.00	12.17
Suski	9.21	24.82	2.99	85.71	10.93	Ananasi2	8.68	26.84	3.41	100.00	9.96
PMR-5	8.68	24.69	3.61	94.44	9.16	PI 124112	8.64	24.47	3.48	100.00	10.11
Tashkandi 1	8.37	27.41	3.80	100.00	8.79	Virgous	9.10	26.12	3.14	89.68	10.42
Khaghani	8.20	27.15	4.01	100.00	8.52	Biarjmand	9.40	28.00	3.14	100.00	10.46
Jarjoo	8.05	26.42	4.22	100.00	7.70	Bandar Abbas	8.53	29.91	3.57	100.00	9.39
Sooski 2	7.88	28.24	4.56	100.00	7.00	Zydri-Shahrud	8.48	25.21	3.68	88.89	8.85
Ghasri 2	9.11	27.35	3.08	100.00	10.80	Robati	9.46	22.48	2.87	83.33	11.33
Japalizi 2	7.97	28.18	4.47	100.00	7.42	Sabz	9.36	23.73	2.87	93.33	11.38
Khaghani 2	8.43	27.96	3.73	100.00	9.30	Makhrooti-zard	9.04	27.67	3.19	95.24	10.40
Chakherje	8.78	27.04	3.37	100.00	9.86	Rahmanlo	8.94	26.31	3.31	100.00	10.25
Magasi	9.78	20.35	2.54	86.67	12.13	Khaghani-Gerd	8.70	25.35	3.65	91.67	9.07
Haj mashalahi	8.60	27.24	3.52	100.00	9.63	Dargazi tashkandi	8.92	26.82	3.32	100.00	10.30
Charentais T	7.96	29.99	4.43	100.00	7.17	Gorgabe koochak	9.58	22.49	2.97	88.57	10.71
Khatoni sangbast	7.83	29.30	4.69	100.00	7.31	Khaghani-moshabak	8.70	24.94	3.45	100.00	9.80
Gilan	8.68	27.62	3.67	96.30	9.37	Hybrid delovro	8.47	26.55	3.78	100.00	8.77
Shadegani 2	7.90	30.75	4.98	100.00	7.00	Sefidak	9.13	26.19	3.18	100.00	10.59
PI 414723	8.08	28.07	4.15	100.00	7.61	Bahar	8.01	26.57	4.28	100.00	8.06
Jarjoo 2	8.60	28.51	3.49	100.00	9.65	Ajabshir	9.02	25.23	3.20	100.00	10.48
CM 17187	8.55	27.00	3.97	100.00	8.83	Hector melon	8.94	21.70	3.29	100.00	10.56
Talebi-Saveh	8.54	22.57	3.53	100.00	9.78						
LSD %5	0.611	0.40	0.71	0.15	2.01	LSD %5	0.611	0.40	0.71	0.15	2.01
LSD %1	0.801	0.52	0.94	0.20	2.65	LSD %1	0.801	0.52	0.94	0.20	2.65

PCs= فنل کل، AUDPC= سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، DSI= شدت بیماری، P.D.P= درصد گیاهان مرده و L.P= دوره کمون

PCs= Phenol Compounds, AUDPC= Area Under Disease Progress Curve, DSI= Disease severity index, P.D.P= Percentage of dead plants and L.P= Latent period

برای تعیین دوری و نزدیکی توده‌ها و همچنین گروه‌بندی آن‌ها بر مبنای صفات مورد بررسی، تجزیه خوشه‌ای با روش وارد به دلیل اینکه بالاترین مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک را در بین سایر روش‌ها نشان داد و با استفاده از مربع فاصله اقلیدوسی انجام شد (r = ۰/۸۹). تعیین نقطه برش و تعیین تعداد خوشه‌ها بر مبنای آماره ویلکس لامبدای (Λ) تجزیه واریانس چند متغیره انجام شد. در این روش تعداد خوشه‌ها در هر نقطه برش به عنوان تیمار و توده‌های درون هر تیمار به عنوان تکرارهای آن تیمار برای تمام صفات در نظر گرفته شد. سپس در هر نقطه برش، تعداد خوشه تعیین و آماره محاسبه‌ای ویلکس لامبدا حاصل از تجزیه واریانس چند متغیره طرح کاملا تصادفی نامتعادل بدست آمد و در دو مرحله متوالی که اختلاف بین دو آماره ویلکس لامبدای بیشترین مقدار بود(Λ_{K-1}- Λ_K=Max) نقطه برش نهایی تعیین گردید و توده‌ها در پنج خوشه با مقاومت متفاوت قرار گرفتند (Johnson and Wichern, 1992) (جدول ۵، شکل ۲). به طوری که در کلاستر اول یک توده، در کلاستر دوم شش توده، در کلاستر سوم دوازده توده، در کلاستر چهارم نوزده و در کلاستر پنجم نوزده توده قرار گرفتند. برای تعیین فاصله ژنتیکی بین خوشه‌های به دست آمده، از فاصله ماهالانوبیس (D^2) استفاده شد. مقایسه جفتی بردارهای میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از آماره T^2 هتلینگ انجام شد (جدول ۶) و نتایج حاصل نشان داد که بردارهای میانگین گروه‌های به دست آمده در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری داشتند که موید وجود بیشترین اختلاف بین گروه‌ها و کمترین اختلاف در درون گروه‌های حاصل بود. مقایسه دو به دوی صفات مختلف گروه‌های حاصل نیز با استفاده آماره t-student انجام گردید و اختلاف بین صفات مختلف گروه‌ها مشاهده شد (جدول ۷). خوشه اول با داشتن یک ژنوتیپ بیشترین میزان میانگین مربوط به صفات دوره نهفتگی و فنل کل را به خود اختصاص داده و از نظر سایر صفات پائین‌تر از میانگین کل بود. توده‌های خوشه دوم نیز با دارا بودن مقادیر بیشتر فنل کل و دوره نهفتگی و مقادیر کمتر AUDPC، شدت بیماری و درصد گیاهان مرده در گروه نیمه مقاوم قرار گرفتند. خوشه سوم و چهارم بترتیب شامل دوازده و نوزده توده بود که از لحاظ AUDPC و شدت بیماری کمتر از میانگین کل و از لحاظ دوره نهفتگی، درصد گیاهان مرده بالاتر از میانگین کل بودند. بنابراین توده‌های این خوشه‌ها به دلیل داشتن AUDPC، شدت بیماری متوسط جز توده‌های حساس قرار می‌گیرند. خوشه پنجم نیز شامل نوزده توده بود که با دارا بودن بیشترین میزان میانگین مربوط به صفات AUDPC، شدت بیماری، درصد گیاهان مرده و کمترین مقدار دوره نهفتگی و فنل کل در گروه بسیار حساس قرار گرفتند (جدول ۸).

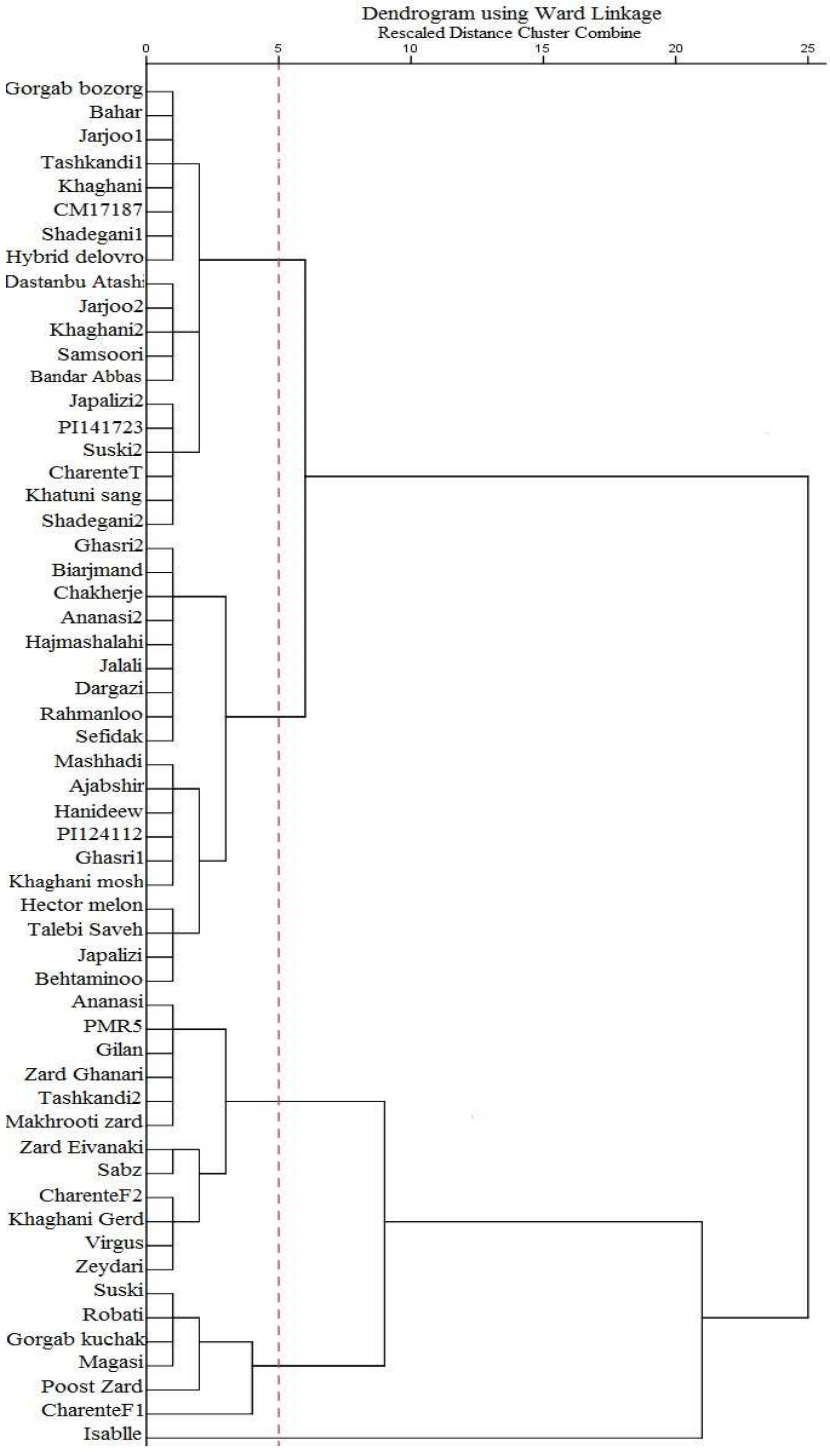
جدول ۵- تجزیه واریانس گروه‌ها بر اساس صفات مورد بررسی در توده‌های خربزه و طالبی آلوده ببه نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Table 5. Groups analysis of variance based on studied traits in melon landraces inoculated with race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Trait	Between group variance
df.	4
PCs	3.04**
AUDPC	8.36**
DSI	4.45**
P.D.P	6.41**
L.P	20.46**

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

** Significant at 1% probability levels



شکل ۲- دندروگرام حاصل از روش Ward صفات مختلف در توده‌های خربزه و طالبی آلوده به نژاد ۲-۱ Fusarium oxysporum f. sp. melonis

Figure 2. Cluster analysis of different traits in melon landraces inoculated by Fusarium oxysporum f. sp. melonis race 1.2 using Ward method

جدول ٦- مقایسه بردار میانگین و فواصل ماهالانوبیس گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌های خربزه و طالبی آلوده به نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Table 6. Comparison of mean vectors and Mahalanobis distances between clusters obtained from cluster analysis in melon landraces inoculated with race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2

Distance between clusters (D^2)	T^2 Hotelling	Clusters
9.55	2197.01*	First G. vs† Second G.
8.51	121.75**	First G. vs Third G.
26.88	115.80**	First G. vs Fourth G.
72.67	46.10**	First G. vs Fifth G.
18.01	1.60*	Second G. vs Third G
36.41	2.27**	Second G. vs Fourth G.
82.16	10.86**	Second G vs Fifth G.
18.41	0.46ns	Third G. vs Fourth G.
64.31	2.37**	Third G. vs Fifth G.
46.04	2.63**	Fourth G. vs Fifth G.

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: Significant at 5%, 1% probability levels and non-significant respectively.

†: در برابر

بحث

بیماری پژمردگی و زردی *C. melo* ناشی از *F. oxysporum* f. sp. *melonis* در غالب کشورها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. عامل بیماری مختص ارقام *C. melo* از جمله خربزه، طالبی، گرمک، خیار چنبر و دستنبو است و در سایر جنس‌ها و گونه‌های کدوییان بیماری‌زا نیست. تحقیقات وسیعی روی عامل بیماری در آمریکای شمالی مخصوصا ایالات متحده آمریکا و جنوب کانادا صورت گرفته است (Wensley and Mckeen, 1963; Reid, 1957; Jacobson and Gordon, 1990).

وجود دو ژن غالب اختصاصی جهت مقاومت به این بیماری گزارش شده است (Risser, 1973). ژن فوم-۱ در رقم دوبلون و ژن فوم-۲ در رقم سی‌ام 187-17. ژن فوم-۱ مقاومت بر علیه نژادهای صفر و ۲ و ژن فوم ۲ مقاومت بر علیه نژادهای صفر و ۱ داشت (Risser et al., 1976; Zink, 1992). نژاد ۲-۱ بر دو ژن فوم-۱ و فوم-۲ غلبه پیدا می‌کند که خود شامل واریانت زردی و پژمردگی است. دامنه گسترش نژادهای ۱ و ۲-۱ در ایران وسیع‌تر گشته است چنانکه نژاد یک در حال حاضر از مشهد و گرمسار و نژاد ۲-۱ در استان فارس و حومه اصفهان جدا سازی شده است (Mirtalebi et al., 2013). به جز برخی ارقام چینی مانند Ogon no 9 و ژاپنی مانند Golden Crispy بقیه

جدول ۷- مقایسه صفات مختلف بردارهای میانگین در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌های خربزه و طالبی آلوده به نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Table 7- Comparison of mean vectors in different trait in clusters derived of cluster analysis of melon landraces inoculated with race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Trait	آماره t محاسبه‌ای									
	First C. vs Second C.	First C. vs Third C.	First C. vs Fourth C.	First C. vs Fifth C.	Second C. vs Third C.	Second C. vs Fourth C.	Second C. vs Fifth C.	Third C. vs Fourth C.	Third C. vs Fifth C.	Fourth C. vs Fifth C.
PCs	0.28^{ns}	0.96^{ns}	0.92^{ns}	1.66^{**}	0.67^{**}	0.63^{**}	1.38^{**}	-0.04^{ns}	0.70^{**}	0.74^{**}
AUDPC	-11.69^{ns}	-15.23^{*}	-15.16^{*}	-17.80^{**}	-3.53^{*}	-3.46^{**}	-6.10^{**}	0.07^{ns}	-2.57^{**}	-2.64^{**}
DSI	-1.62^{**}	-2.28^{**}	-2.19^{**}	-3.02^{**}	-0.66^{**}	-0.56^{*}	-1.40^{**}	0.09^{ns}	-0.73^{**}	-0.83^{**}
P.D.P	-50.00^{ns}	-68.25^{*}	-63.10^{ns}	-74.68^{**}	-18.24^{**}	-13.09^{ns}	-24.67^{**}	5.14^{ns}	-6.43^{ns}	-11.57^{**}
L.P	1.06^{ns}	2.86^{*}	246^{ns}	4.53^{**}	1.80^{**}	1.40^{*}	3.47^{**}	-0.40^{ns}	1.66^{**}	2.07^{**}

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: Significant at 5%, 1% probability levels and non-significant, respectively.

جدول ۸- بردار میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌های خربزه و طالبی آلوده به نژاد ۲-۱ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Table 8- Group mean vector derived from cluster analysis of melon landraces inoculated with race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

Trait	Mean					
	First C.	Second C.	Third C.	Fourth C	Fifth C	Total
Number	1	6	12	19	19	57
PCs (mg/g)	9.87	9.58	8.91	8.95	8.20	8.77
AUDPC	10.29	21.98	25.52	25.45	28.09	25.71
DSI	1.08	2.70	3.36	3.27	4.10	3.47
P.D.P	0.20	0.70	0.88	0.83	0.95	0.86
L.P	12.78	11.72	9.91	10.31	8.24	9.73

تحمل چندانی به نژاد ۲-۱ ندارند. تلاش جهت تولید ارقام مقاوم *C. melo* به نژاد ۲-۱ صورت گرفته است (Perchepied and Pitrat, 2004).

با توجه به اینکه مقاومت به نژاد ۲-۱ به صورت چند ژنی می‌باشد به صورت مقاومت جزئی بیان شده است. واکنش ارقام به نژادهای فوم رابطه مستقیمی با میزان مایه قارچ یا پتانسیل اینوکولوم دارد که در مقاومت چند ژنی با اهمیت می‌باشد. در تحقیقاتی که روی نژاد یک و دو فوم صورت گرفت حساسیت ارقام بستگی به میزان مایه قارچ دارد (Banihashemi and De Zeeuw, 1975). در این پژوهش عکس العمل ۵۷ توده بومی خربزه و طالبی ایرانی به همراه ارقام افتراقی به نژاد ۲-۱ بیماری با توان مایه 10^6 مورد بررسی قرار گرفت. توده‌های مورد بررسی بر اساس فنل کل، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، شاخص شدت بیماری، درصد گیاهان مرده و دوره نهفتگی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

بررسی موجود توانسته است اطلاعات نسبتا مفیدی را در خصوص وضعیت مقاومت یا حساسیت برخی از توده‌های خربزه و طالبی بومی ایرانی و تعدادی ارقام با منشا خارجی و هم‌چنین لاین‌های تقریبا ایزوژن در مقابل بیماری پژمردگی آوندی در اختیار قرار دهد. تفاوت واکنش توده‌های مختلف خربزه و طالبی در مقابل فوم ۲-۱ حاکی از وجود ژن‌های متفاوت در میزبان می‌باشد. واکنش توده‌ها در مقابل فوم ۲-۱ نشان داد که توده‌ها در چهار دسته مقاوم، نیمه حساس (نیمه مقاوم)، حساس و بسیار حساس قرار می‌گیرند. این پدیده می‌تواند حاکی از وجود ژن‌های مقاومتی با اثرات کوچک در بعضی از توده‌های خربزه و طالبی باشد که منجر به کاهش نرخ توسعه بیماری روی برگ‌ها در توده‌ها می‌گردد، هر چند گاهی اثر این ژن‌ها با ژن‌های بزرگ‌اثر پوشیده می‌گردد. تعداد بسیار زیادی از توده‌ها در مقابل نژاد ۲-۱ عامل پژمردگی آوندی در شرایط گلخانه واکنش حساسیت نشان دادند که این پدیده نشان‌دهنده این است که این توده‌ها فاقد ژن‌های مقاومت عمده‌ای هستند که در مقابل نژاد ۲-۱ ایجاد مقاومت می‌نمایند. در این تحقیق مقاومت به نژاد ۲-۱ در توده‌های محلی ایران مشاهده نشد و اغلب توده‌ها شدیدا به آن حساس می‌باشند. به جز ژنوتیپ ایزابل بقیه تحمل چندانی به نژاد ۲-۱ بیماری نشان ندادند. Banihashemi (2010)، مقاومت توده‌های خربزه و طالبی را نسبت به نژادهای صفر، ۱، ۲ و ۲-۱ پژمردگی آوندی (*F. oxysporum*) بررسی و گزارش کرد غالب ارقام محلی خربزه و طالبی ایرانی به نژاد ۲-۱ شدیدا حساس می‌باشند.

یکی از جنبه‌های مهم دفاعی گیاه میزبان در برابر

عوامل بیماری‌زا، دفاع بیوشیمیایی و واکنشهای پیچیده مربوط به آن است (Steiner and Schonbeck, 1995). در این پژوهش، مقدار فنل کل توده‌های خربزه و طالبی آلوده به فوم ۲-۱ از طریق اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد. در نتایج مطالعه انجام شده در این خصوص افزایش مقدار فنل کل در توده‌هایی که مقاومت بیشتری به فوم ۲-۱ نشان دادند مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی‌های انجام شده با گزارش Dehghani et al. (2001) مطابقت دارد. آنها هم در مایه‌زنی ارقام مختلف کاهو با قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucum* نشان دادند که مقدار فنل کل در بافتهای آلوده یک روند افزایشی نشان می‌دهد. در بررسی واکنش لوبیا چشم بلبلی به قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* مشخص شد که بیشترین میزان افزایش فنل کل در رقم مقاوم JG-62 مشاهده شد (Mandavia et al., 1997). در بررسی Davis et al. (1953) مشخص شد که فنل موجود در شیره آوندی در بوته‌های آلوده به فوزاریوم افزایش می‌یابد. همچنین Beckman et al. (1974) معتقدند که روند بیماریزایی، عمدتًا بواسطه زمان و مدت وقوع واکنشها تعیین می‌شود. ازجمله واکنشهای مهم گیاهی در برابر عامل بیماریزا، تولید و افزایش مواد فنلی می‌باشد. صدمه سریع به سلولها می‌تواند به آزاد شدن سریع و فعالیت این ترکیبات فنلی که تمر کز یافته‌اند منجر شده و باعث جلوگیری موثر از نفوذ عامل بیماری شود. در ارتباط با افزایش مواد فنلی دراثر حمله عوامل بیماریزا نتایج مطالعات Matta et al. (1969) نشان داد که مایه‌زنی فرم‌های غیر بیماری‌زا *F. oxysporum* موجب افزایش ناگهانی ترکیبات فنلی و افزایش تنفس و در نهایت تحریک حفاظت گیاه تربچه می‌گردد. بررسی‌های Madadkhah et al. (2012) در توده‌های خربزه آلوده به نژاد یک فوم نشان داد که میزان فنل کل در توده‌های مقاوم به میزان بالایی افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری با توده‌های حساس داشت.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، توده‌های مورد بررسی در پنج خوشه قرار گرفتند. با توجه به اینکه توده‌های قرار گرفته در خوشه اول دارای مطلوب‌ترین صفات مرتبط با اجزای مقاومت بودند لذا در صورتیکه در سایر گروه‌ها به ویژه گروه پنجم توده‌هایی یافت شوند که از نظر سایر صفات مانند عملکرد، زودرسی و یا عطر و طعم از مطلوبیت فوق العاده‌ای برخوردار بوده ولی حساس به این بیماری باشند، می‌توانند برای ایجاد ژنوتیپ‌های مقاوم همراه با این صفات مطلوب به عنوان والدین برای تولید جمعیت‌های پایه دارای صفات مطلوب مقاومت به بیماری و صفات آروماتیک و عملکرد بالا مورد استفاده قرار گیرند. همچنین برای بهره برداری و استفاده از هتروزیس و در صورت عدم وجود تنوع برای ایجاد آن می‌توان از توده‌های خوشه اول و پنجم که بیشترین فاصله را با یکدیگر دارند در یک برنامه تلاقی در قالب یکی از طرح‌های تلاقی یک برنامه اصلاحی تدوین و از آن‌ها استفاده نمود.

مطالعات متعددی در زمینه ارزیابی مقاومت به نژادهای مختلف فوم در ژنوتیپ‌های خربزه و طالبی صورت گرفته است. در مطالعه Madadkhah et al. (2012) واکنش ۴۵ توده بومی به نژاد یک مورد بررسی قرار گرفت که نشان دهنده وجود مقاومت در توده‌های بومی ایرانی در مقابل نژاد یک است. در بررسی جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب به فوم ۲-۱ توسط Perchepied et al. (2005) هیچ یک از لاین‌های نوترکیب حاصل از تلاقی دو والد مقاوم و حساس ایزابل و ودرانتایس مقاومت نشان ندادند و تنها والد ایزابل دارای سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری پایین بود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در مطالعه انجام گرفته در اسرائیل آلوده‌سازی گیاهچه‌ها با توان مایه $۱۰^{۶}$ ژنوتیپ بیز با ۱۰ درصد آلودگی به عنوان

ژنوتیپ مقاوم شناخته شد (Herman and Perl-Treves, 2007). مجموع این مطالعات نشان می‌دهد که منبع مقاومت به نژاد ۲-۱ کم می‌باشد و اکثر توده‌های ژنتیکی که کشت و کار آن‌ها در دنیا رایج است، به این نژاد حساس می‌باشند.

با توجه به این‌که ارزیابی مقاومت توده‌ها در شرایط کنترل شده و تحت شرایط مایه‌زنی سنگین انجام گرفت و با توجه به این‌که چنین شرایطی به ندرت در مراحل اولیه آلودگی در مزارع رخ می‌دهد، ممکن است شدت و درصد آلودگی به نژاد ۲-۱ در شرایط طبیعی پایین‌تر باشد. از این‌رو لازم است تحمل نمونه‌هایی که در این تحقیق تحمل نشان دادند در شرایط مزرعه و آلودگی طبیعی نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین بررسی میزان کاهش عملکرد محصول ناشی از آلودگی به فوم ۲-۱ در شرایط مزرعه پیشنهاد می‌شود. متاسفانه با توجه به خزانه ژنی بسیار غنی ملونها در کشور ایران، در مورد مقاومت به نژاد ۲-۱ بیماری پژمردگی آوندی تحقیق مدونی انجام نشده است. از سوی دیگر، امکان شکستن مقاومت در مکانهای ژنی فوم ۱ و فوم ۲ پایین است، اما همواره این نگرانی وجود دارد که نژاد ۲-۱ به نژاد غالب کشور تبدیل شود. علاوه بر آن، افزایش مقاومت به نژاد ۲-۱، مقاومت نسبی در برابر نژاد شایع یک را نیز بطور پایداری افزایش می دهد. با توجه به این‌که در این بررسی تنها واکنش توده‌های *C. melo* (طالبی – خربزه) به نژاد ۲-۱ مورد بررسی قرار گرفت بررسی مقاومت سایر اعضای تیره کدو نیز ضروری به نظر می‌رسد. اصلاح ارقام مرغوب و رایج در منطقه با دورگ گیری با ارقام معرفی شده در این گزارش می‌تواند یکی از راه‌های اصولی مدیریت این بیماری باشد.

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که در بین توده‌های بومی خربزه و طالبی جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران تنوع ژنتیکی قابل توجهی در مقاومت بر علیه قارچ عامل پژمردگی آوندی وجود دارد. علاوه بر این رقم ایزابل تحمل بیشتری به قارچ عامل بیماری پژمردگی آوندی خربزه و طالبی در مقایسه با توده‌های دیگر نشان داد. این نتایج می‌تواند مورد استفاده متخصصان اصلاح نباتات برای انتخاب رقم ایزابل به عنوان منبع دارای مقاومت به بیماری پژمردگی آوندی و انتقال این صفت به ارقام مورد نظر قرار گیرد تا یکی از راه‌های اصولی مدیریت این بیماری باشد.

REFERENCES

Anonymous. 2015. Statistics Agriculture Letter. The first volume in arable crops. 87p. (In Farsi).

Banihashemi, Z. 1968a. The Biology and Ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Soil and Root Zones of host and Non Host plants. Thesis for Ph. D. degree, Michigan State University, USA. 114p.

Banihashemi, Z. 1968b. The existence of Fusarium wilt of melon in Iran. In Proceeding of the 13th Iranian Congress on Plant Protection, Iran, 47-48. (In Farsi).

Banihashemi, Z. 1989. The existence of race 1 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* on long melon in Garmsar and its virulence to different cultivars of *Cucumis melo*. Proceeding of the 9th Iranian Congress on Plant Protection, Mashhad, Iran. P. 91.

Banihashemi, Z. 2010. Reaction of cucumis melo cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* the cause of melon vascular wilt. Iranian Journal of Plant Pathology, 46(1): 11-22. (In Farsi with English Summary).

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

Beckman C. H., Muller W. C., and Mace M. E. 1974. Effect of phenolic compound of extracellular enzymes of fungus. Phytopathology, 64: 1214-1219.

Belisario, A. 2000. Indagini su popolazioni di *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Italia. Colture Protette: Orticoltura e Floricoltura, 29(3): 87-89.

Campbell C. L., and Madden, L. V. 1990. Temporal analysis of epidemics I: description and comparison of disease progress curves. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons, Inc. New York. 161-202.

Chikh-Rouhou, H., Álvarez, J., and González-Torres, R. 2007. Differential interaction between melon cultivars and race 1.2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 72(4): 825-829.

Chikh-Rouhou, H., Gonzalez Torres, R., and Alvarez, J. M. 2008. Characterization of the resistance to Fom race 1.2 in *Cucumis melo* 'BG-53841', cloning and expression in response to wounding and herbivory. Plant Physiology, 124: 285-295.

Davis, D., Waggoner, P. E., and Dimond, A. E. 1953. Conjugated phenolic in the fusarium wilt syndrome. Nature, 172: 959-961.

Dehghani, A., Etebarian, H. R., and Alizadeh, A. 2001. Histopathological study of resistant and susceptible lettuce cultivars during the development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucum*. Iranian Journal of Agriculture Science, 3(1): 9-24. (In Farsi with English Summary).

Erzurum, K., Taner, Y., Secer, E., Yanmaz, R., and Maden, S. 1999. Occurrence of Races of *Fusarjum oxysporum* f. sp. *melonis* Causing Wilt on Melon in Central Anatolia. Journal of Turkish Phytopathology, 28(3): 87-98.

Etebarian, H. 2002. Vegetable diseases and their control. Tehran University Publish., Second print. 600 pp. (In Farsi with English Summary).

Feyzian, E., Javaran, M. J., Dehghani, H., and Zamyad, H. 2007. Analysis of the genetic diversity among some of Iranian melon (*Cucumis melo* L.) landraces using morphological and RAPD molecular markers. JWSS-Isfahan University of Technology, 11(41): 151-163 (In Farsi with English Summary).

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

Hayat Moghaddam, M., Bakhtiar, F., Bozorgipour, R., and Nikkhah, H. R. 2011. Evaluation of resistance to powdery mildew and some agronomic trails of barley doubled haploid lines. Seed and Plant Improvment Journal, 27(3): 441-443.

Herman, R., and Perl-Treves, R. 2007. Characterization and inheritance of a new source of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 in *Cucumis melo.* Plant Disease, 91: 1180-1186.

Jacobson, D. J., and Gordon, T. R. 1990. Further investigations of vegetative compatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Canadian Journal of Botany, 68(6): 1245-1248.

Johnson R. A., and Wichern D. W. 1992. Applied multivariate statistical analysis. Third edition, the Iowa State University Press, Iowa, USA. 597 pp.

Keinath, A. P. 2011. From native plants in Central Europe to cultivated crops worldwide: the emergence of Didymella bryoniae as a cucurbit pathogen. HortScience, 46: 532-535.

Kirk, R. E. 1995. Experimental Design: Procedures for the Behavioral Sciences. Third edition, SAGE Publications, California, USA. 1056 pp.

Lilliefors, H. W. 1967. On the Kolmogorov-Smirnov Test for Normality with Mean and Variance Unknown. Journal of the American Statistical Association, 62: 399-402.

Madadkhah, E., Lotfi, M., Nabipour, A., 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: 171-176.

Mandavia, M. K., Patel, C. M., Maravia, G. V., and Parameswaran, M. 1997. Role of phenolic compounds in resistance to Fusarium wilt in chickpea. Indian Journal of Agriculture Biochemistry, 10: 11-13.

Mas, P., Molot, P. M., and Risser, G. 1981. Fusarium wilt of muskmelon. In: Nelson, P. E., Toussen, T. A. and Cook, R. J. (Eds). Fusarium, Disease, Biology and Taxonomy. Pennsylvania state university press. USA. pp 169-177.

Matta, A., Gentile, I., and Ciai, I. 1969. Accumulation of phenols in tomato plants infected by different forms of *Fusarium oxysporum*. Phtopathology, 59(4): 512-513.

Mazinani, M. A., Moghaddam, M., Alavikia, S. S., Shakiba, M. R., Mehrabi, A. A., and Pouraboughaddareh, A. R. 2012. Study of genetic diversity in T. boeoticum populations under normal and water deficit stress conditions. Cereal Research, 2(1): 17-30. (In Farsi with English Summary).

Mirtalebi, M., Banihashemi, Z., and Linde, C. C. 2013. Phylogenetic relationships of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Iran. European journal of plant pathology, 136(4): 749-762.

Minitab. 2007. Minitab 15. Users Guied. Pennsylvania, USA.

Perchepied, L., Dogimont, C., and Pitrat, M. 2005. Strain specific and recessive QTLs involved in the control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 in a recombinant inbred line population of melon. Theoretical and Applied Genetics, 111: 65-74.

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

Poostchi, I. 2001. Cucumbers and Their Cultures. Islamic Azad University Press, Tehran, Iran. 523 pp.

Reid, J. 1957. Studies of Fusarium Which Cause wilt in Melons. Doctoral Dissertation, University of Toronto, Canada.

Reid, L. M., Bolton, A. T., Hamilton, R. I., Woldemariam, T., and Mather, D. E. 1992. Effect of silk age on resistance of maize to *Fusarium graminearum*. Canadian Journal of Plant Pathology, 14(4): 293-298.

Rezaei, S., and Alizadeh, A. 1999. Root rot of soybean caused by *Phytophthora sojae* in Lorestan province. Iranian Journal of Plant Pathology, 34(4): 122-143.

Risser, G. 1973. Etude de la heredite de la resistance du melon (*Cucumis melo*) aux races et 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis.* In Annales de l'Amélioration des Plantes, 23: 259-263.

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*. Phytopatology, 66: 1105-1106.

Robinson, R. W., and Decker-Walters, D. S. 1997. Cucurbits. CAB international, New York, USA. 226 p.

SAS Institute Inc. 2004. SAS version 9.1.3 for windows. SAS Institute, Cary, North

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

SPSS INC. 2010. SPSS 19. Users guied. SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 635 pp.

Steiner, U., and Schönbeck, F. 1995. Induced disease resistance in monocots. Induced Resistance to Disease in Plants, 4: 86-110.

Swain, T., and Hillis, W. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L. The quantitative analysis of phenolic constituents. Journal of the science of Food and Agriculture, 10 (1): 63-68.

Wensley, R. N., and Mckeen, C. D. 1963. Populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and their relation to the wilt potential of two soil. Canadian Journal of Microbiology, 9: 237-249.

Zakeri, A., and Banihashemi, Z. 1996. The role of weeds in cultivated and virgin on activity and perpetuation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Fars province. Iranian Journal of Plant Pathology, 32(1-2): 22-25.

Zink, F. W. 1992. Genetics of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 0 and 2 in muskmelon cultivars Honey Dew, Iroquois and Delicious 51. Plant Disease, 76: 162-166.

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.

Evaluating the resistance of some melon landraces to race 1.2 of melon vascular wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis)*

M. Hanifei[1], H. Dehghani[2*] and R. Chookan[3]

1. Former M.Sc. Student, Plant Breeding Faculty, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. ***Corresponding Author:** Professor, Plant Breeding Faculty, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (dehghanr@modares.ac.ir)
3. Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran

Received: 18 November 2017 Accepted: 5 May 2018

Abstract

Background and Objectives

Fusarium wilt of melon (*Cucumis melo* L.), caused by *Fusarium oxysporum* Schlechtend: Fr. f. sp. *melonis* W.C. Snyder & H. N. Hans., (*Fom*), inflicts important yield losses in melon crops worldwide. Fusarium wilt is difficult to control even if long crop rotations are used because *Fom* colonizes the roots of a broad taxonomic range of plants. Genetic diversity of plants determines their potential for improved efficiency and hence their use for breeding, which eventually may result in enhanced disease resistance. One of the important approaches to resistance to *Fom* race 1.2 is hybridization and subsequent selection. Parents' choice is the first step in plant breeding program through hybridization. In order to benefit transgressive segregation, genetic distance between parents is necessary. The higher genetic distance between parents, the higher heterosis in progeny can be observed. The main objective of this study was to capture the potential genetic diversity between melon genotypes by using cluster analysis. The results of present study have been used in selection of appropriate parents for breeding program

Materials and Methods

In this study, 57 Iranian endemic melon genotypes were screened against race 1.2 of *Fom*. Artificial inoculations were performed with a suspension of 1×10^6 conidia/ml at one to two true leaf stage. Disease reactions of the genotypes were scored using a 1 to 5 scale. Five traits including phenol compounds (PCs), area under disease progress curve (AUDPC), disease severity, Percentage of dead plants and latent period were assessed.

Result

Analysis of variance showed significant differences between genotypes for all the traits. The highest and lowest AUDPC were observed in Shadegani-2 and Isablle, respectively. According to PCs results, the highest and lowest PCs were observed in Isablle and Khatoni sang bas, respectively. Also, based on cluster analysis, the genotypes were classified into five groups.

Discussion

On the basis of the greenhouse experiments, significant genetic diversity among melon genotypes, and resistant and susceptible ones were recognized. The results revealed that resistant genotype(s) of melon demonstrate increased accumulation of PCs in response to Fom 1.2 isolate Maharloo. The highest genetic distance was observed between genotypes of second and fifth groups. Accordingly, the crossing between genotypes with maximum distance can form the basic population for the study of action and identify the gene(s) involved in tolerance to Fusarium wilt.

Keywords: Fusarium wilt, Total phenol, Area under disease progress curve, Disease severity, Latent period, Resistance, Cluster analysis.