

## بررسی تنوع توده‌های خربزه و طالبی (*Cucumis melo* L.) برای مقاومت به پژمردگی فوزاریومی بر مبنای فعالیت آنزیم‌های بیوشیمیایی

مهرداد حنیفه‌بی<sup>۱</sup>، حمید دهقانی<sup>۲\*</sup> و رجب چوکان<sup>۳</sup>

۱ و ۲. کارشناس ارشد و دانشیار اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

۳. استاد پژوهش مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۲۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۶/۲۳)

### چکیده

بیماری پژمردگی فوزاریومی، نوعی بیماری محدودکننده کشت خربزه‌بیان در جهان و همچنین در ایران است. یکی از روش‌های کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم خربزه و طالبی است. در این تحقیق، ۵۷ توده خربزه و طالبی در شرایط گلخانه برای تعیین وضعیت مقاومت در مقابل بیماری پژمردگی آوندی فوزاریومی و روند تغییرات در فعالیت بیوشیمیایی در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار ارزیابی شد. در این مطالعه، ریشه‌های زخمی شده گیاهچه‌های یک تا دوبرگی ۱۵ روزه در ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی اسپور *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* با غلظت  $1 \times 10^6$  در میلی‌لیتر به مدت سه تا چهار دقیقه قرار گرفتند و مایه‌زنی شدند و سپس به سینی‌های کشت منتقل گردیدند. سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و شدت بیماری به همراه پنج صفت فیزیولوژیک اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین توده‌ها برای همه صفات تحت مطالعه اختلاف معناداری وجود داشت. مقادیر ضریب همبستگی بین صفات مختلف نشان داد که سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و شدت بیماری با میزان پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل کل، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز همبستگی منفی و معناداری داشت. برای تعیین دوری و نزدیکی توده‌ها و همچنین خوشه‌بندی آنها بر مبنای صفات تحت مطالعه، از تجزیه خوشه‌ای با روش Ward استفاده شد و با استفاده از معیار مربع فاصله اقلیدوسی توده‌ها در سه خوشه مجزا شامل مقاوم، نیمه‌مقاوم و حساس خوشه‌بندی شدند. در این آزمایش دورترین فاصله (۲۸/۶۷) میان توده‌های ایزابل و شادگانی ۲ به‌دست آمد و به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین توده‌ها به بیماری شناخته شدند. به نظر می‌رسد که با توجه به فاصله بین آنها، با انجام تلاقی و بهره‌گیری از پدیده هتروزیس، می‌توان به نتایجی دست یافت که دارای مقاومت بیشتری نسبت به توده‌های تحت بررسی باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پژمردگی فوزاریومی، تجزیه خوشه‌ای، خربزه و طالبی، همبستگی

### مقدمه

سطح زیر کشت سبزیجات در کشور است (Anonymous, 2011). تنوع در ارقام *Cucumis melo* بیشتر از سایر کدوییان در ایران است. *C. melo* شامل خربزه (*C. melo* var *inodorus*)، طالبی (*C. melo* var )

گیاهان جالبی، از جمله خربزه و طالبی نقش مهمی در زراعت صیفی کشور و درآمد ملی دارند (Poostchi, 1972). سطح زیر کشت کدوییان بیش از ۵۰ درصد

برنامه‌های اصلاحی است، زیرا این مرحله از مطالعات امکان طبقه‌بندی دقیق نمونه‌های تحت ارزیابی از نظر مقاومت را فراهم می‌آورد و اصلاح‌گر را در تشخیص مواد ژنتیکی مورد نیاز خود برای برنامه‌های بعدی و پیشبرد سریع‌تر اهداف اصلاحی یاری می‌کند (Mohammadi & Prasanna, 2003).

یکی از صفات بسیار مهم در ارزیابی برای مقاومت به بیماری، محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) است که بر پایه چند نوبت یادداشت‌برداری برای همه توده‌ها و نمره ثبت‌شده آنها بر اساس روش Campbell & Madden (1990) محاسبه می‌شود. بر این اساس، در تحقیقی Chikh-Rouhou *et al.* (2008)، با مقایسه جمعیت‌های F<sub>1</sub> حاصل از تلاقی BG-5384 × Piel de Sapo و والدین مرتبط، نشان دادند که هر چه میزان سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری کمتر باشد، توده‌ها مقاومت بیشتری به فوم ۱،۲ نشان می‌دهند. Chikh-Rouhou *et al.* (2008) بر اساس روش خود، با اندکی تغییر، توده‌های با شدت بیماری با نمره ۱ را جزو توده‌های خیلی مقاوم؛ توده‌های با نمره ۲-۱،۱ را مقاوم؛ توده‌های با نمره ۳-۲ را نیمه مقاوم؛ توده‌های با نمره ۴-۳ را حساس و توده‌های با نمره بزرگ‌تر از ۴ را جزو توده‌های خیلی حساس طبقه‌بندی کردند.

از جنبه بیوشیمیایی، در ارتباط با فعل و انفعالات مقاومت نقش بسیاری از ترکیبات در گیاه برجسته شده‌اند که از آن جمله، آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پلی‌فنل اکسیدازها، پراکسیدازها و ترکیبات فنلی از عوامل اصلی اجزای مقاومت به بیماری در گیاه شناسایی شدند (Morkunas & Gemerek, 2007). از جمله ترکیباتی که در واکنش دفاعی گیاه در مقابل بیمارگرها دخیل بوده و دارای اهمیت اند، ترکیبات فنلی از قبیل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین‌اند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات که هم از رشد قارچ و هم از تولیدات میکوتوکسین جلوگیری می‌کند، در همه گیاهان وجود دارد و نقش مهمی در مقاومت به بیماری ایفا می‌کند (Friend,

*cantalupenses*، گرمک (*C. melo var reticulatus*)، خیار چنبر (*C. melo var flexus*) و دستنبو (*C. melo var dudaims*) است. حساسیت این گروه از گیاهان خانواده کدویان به تعدادی از بیماری‌ها باعث از بین رفتن گیاه و در نهایت، کاهش عملکرد می‌شود. یکی از مهم‌ترین این بیماری‌ها، پژمردگی آوندی خربزه است که توسط عامل بیمارگر قارچی *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *melonis* (Fom) ایجاد می‌شود. در ایران، در بعضی از سال‌های همه‌گیری این بیماری، خسارت بیماری حتی به صددرصد بالغ می‌گردد (Banhashemi, 1989). عامل بیماری اولین بار در سال ۱۹۳۳ از شمال آمریکا گزارش شد و در سال ۱۹۳۸ توصیف و در سال ۱۹۴۰ اختصاصی بودن آن به گونه *Cucumis melo* L. اثبات شد و تعیین نژاد گردید (Banhashemi, 1968a). گیاهان در تمام مراحل رشدی ممکن است مورد حمله واقع شوند. علائم بیماری معمولاً بعد از ظهور گل و تشکیل میوه ظاهر می‌گردد. ریشه گیاهان آلوده دارای پوسیدگی خشک می‌شود و ریشه‌های فرعی از بین می‌رود (Banhashemi, 1982; Sherf & MacNab, 1986).

Risser *et al.* (1976)، بر اساس ژن‌های شناخته‌شده برای مقاومت در ارقام، نژادهای *Fom* را به نژادهای صفر، ۱، ۲ و ۱،۲ تقسیم‌بندی کردند. دو ژن مقاوم به نام‌های *Fom1* و *Fom2* به ترتیب توسط نژاد ۲ و نژاد ۱ و هر دو ژن توسط نژاد ۱،۲ مورد حمله قرار گرفتند. در ایران، تاکنون نژادهای ۱ از مشهد و گرمسار (Banhashemi, 1969 & 1989) و نژاد ۱،۲ از استان فارس و اصفهان (Banhashemi, 1982) و کاشان (Banhashemi, 2010) گزارش شده است. مقاومت به نژاد ۱،۲ به صورت کمی است و مقاومت قطعی به این نژاد، تاکنون در هیچ‌یک از منابع و جمعیت‌ها گزارش نشده است (Perchepied & Pitrat, 2004). با توجه به اینکه مقاومت به نژاد ۱،۲ به صورت پلی‌ژنیک است، شناسایی صفات مهم مرتبط با بیماری در گیاه و همبستگی بین آنها، دارای اهمیت ویژه‌ای است. شناخت میزان تنوع موجود در ساختار ژنتیکی یکی از اولین مراحل بررسی انتقال مقاومت در

در واکنش‌های تدافعی و فوق حساسیت که سبب مقاومت به قارچ‌ها می‌شود، شرکت دارد (Ray *et al.*, 1998). کاتالاز نیز به عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با تجزیه  $H_2O_2$  به آب و اکسیژن در کاهش پراکسید هیدروژن نقش دارد (Preston *et al.*, 2002; Bloch *et al.*, 2007).

بر این اساس، در طراحی هر برنامه به‌نژادی برای مقاومت به بیماری‌ها، متخصصان بایستی اقدام بسیار مهم‌گزینه‌ش والدین را برای برنامه تلاقی، به منظور تولید جمعیت پایه در برنامه مطالعه قرار دهند. بدین منظور، استفاده از روش‌های تجزیه چندمتغیره برای خوشه‌بندی ژرم‌پلاسم و تحلیل روابط ژنتیکی موجود بین مواد گیاهی ضروری است (Mohammadi & Prasanna, 2003). در بین روش‌های مختلف تجزیه‌های چندمتغیره، تجزیه خوشه‌ای عمل خوشه‌بندی را بر پایه قرابت و دوری مواد ژنتیکی با استفاده از فرمول‌های ریاضی انجام می‌دهد (Moghaddam *et al.*, 2009) و مبنای صحیحی از گزینه‌ش والدین در اختیار محقق قرار می‌دهد.

این پژوهش با استفاده از اندازه‌گیری ویژگی‌های مهم بیوشیمیایی در توده‌های خربزه و طالبی آلوده به فوزاریوم نژاد ۱،۲ با هدف بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین قابلیت توارث، همبستگی ژنوتیپی و فنوتیپی بین این صفات، برای ارزیابی مقاومت به پژمردگی آوندی فوزاریومی و گزینه‌ش والدین مناسب به منظور استفاده در برنامه‌های اصلاحی در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به انجام رسید.

## مواد و روش‌ها

### مواد ژنتیکی

بذرهای ارقام مختلف *C. melo* شامل خربزه و طالبی، اغلب از مرکز تحقیقات کشاورزی استان تهران و گروه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، به همراه ارقام افتراقی که از مؤسسه INRA<sup>۱</sup> کشور فرانسه بود، تهیه گردیدند (جدول ۱).

تغییرات در مقدار ترکیبات فنلی و نقش آنها در ایجاد مقاومت در گیاهان آلوده به بیماری‌های مختلف، موضوع مطالعه محققان متعددی قرار گرفت و گزارش‌های این محققان نشان می‌دهد که تجمع مواد فنلی اغلب در ارتباط با واکنش مقاومت است (Goodman *et al.*, 1986). در این میان، افزایش پراکسیدازها در واکنش میزبان-پارازیت ممکن است با مقاومت میزبان در برابر بیماری همراه باشد (Yamamoto, 1995). در تحقیقی که Macko *et al.* (1968)، به انجام رساندند، دخالت مستقیم پراکسیداز در واکنش‌های دفاعی گیاه گزارش شد؛ به طوری که افزایش پراکسیداز از رشد عامل بیماری‌زا ممانعت به عمل می‌آورد. پراکسیدازها در برخی اعمال فیزیولوژیک، شامل اکسیداسیون الکل‌های هیدروکسی سینامیل به واسطه تولید رادیکال‌های آزاد، اکسیداسیون فنل، ارتباط با پلی‌ساکاریدها و اتصال مونومرهای اکستنسین که سبب مقاومت گیاه به بیمارگرها می‌شوند، نقش دارند (Hrubcova *et al.*, 1992). مقادیر بالای فعالیت پراکسیداز در ارقام مقاوم در مقایسه با ارقام حساس، در موز (Aguilar *et al.*, 2000)، گوجه فرنگی (De Vecchi & Matta, 1988) و سیب‌زمینی شیرین (Uritani, 1965) گزارش شده است. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، فرایند کاهش رادیکال‌های  $O_2^-$  به مولکول‌های هیدروژن پراکسید و اکسیژن را کاتالیز می‌کند (Baek & Skinner, 2003). هیدروژن پراکسید از طریق جلوگیری از جوانه‌زنی اسپورها و ایجاد اختلال در تولید رادیکال‌های فنوکسیل در دیواره سلولی نقش مهمی در مکانیسم دفاعی گیاهان دارد. افزایش مقاومت در بیماری قارچی پژمردگی نخود، ناشی از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ریشه ارقام مقاوم گزارش شده است (Garcia-Limonos *et al.*, 2002). فعالیت آنزیم دیگر، یعنی کاتالاز همراه با مقاومت القا شده گیاه گوجه فرنگی در مقابل پژمردگی فوزاریومی در ارقام مقاوم گزارش شد (Morkunas & Bednarski, 2008). پلی‌فنل اکسیداز سبب اکسیده شدن پلی‌فنل‌ها به کوئین‌ها (ترکیبات ضد میکروبی) و لیگنینی شدن دیواره سلول‌های گیاهی طی آلودگی‌های میکروبی می‌شود و همچنین

1. Institute National de la Recherche Agronomique

جدول ۱. اسامی و شماره توده‌های خریزه و طالبی آلوده شده به فوزاریوم ۱،۲

شماره	گروه	توده	محل جمع‌آوری	شماره	گروه	توده	محل جمع‌آوری	شماره	گروه	توده	محل جمع‌آوری
۱		قصری ۱	خراسان	۲۰		حاج ماشااللهی	خراسان	۳۹		بیارجمند	شاهرود
۲		شادگانی ۱	خراسان	۲۱		Tشارننه	INRA	۴۰		بندر عباس	بندرعباس
۳		دستنبو آتشی	خراسان	۲۲		خاتونی سنگ بس	نیشابور	۴۱		زیدری	شاهرود
۴		آناناسی	بازار	۲۳		گیلان	گیلان	۴۲		رباتی	سمنان
۵		گرگاب بزرگ	اصفهان	۲۴		شادگانی ۲	خراسان	۴۳		سبز	اصفهان
۶		جاپالیزی	خراسان	۲۵		پی آی ۱۴۱۷۲۳	NRA	۴۴		مخروطی زرد	سمنان
۷		جلالی	سمنان	۲۶		جارجو ۲	گنبد	۴۵		رحمانلو	سمنان
۸		شارننه F <sub>2</sub>	INRA	۲۷	خریزه	سمسوری	ورامین	۴۶	خریزه	خاقانی گرد	خراسان
۹		پوست زرد	سمنان	۲۸		زرد قناری	بازار	۴۷		درگزی	خراسان
۱۰	خریزه	سوسکی	سمنان	۲۹		هانی دیو	بازار	۴۸		گرگاب کوچک	اصفهان
۱۱		پی ام آر ۵	INRA	۳۰		زرد ایوانکی	گرمسار	۴۹		خاقانی مشبک	خراسان
۱۲		تاشکندی ۱	خراسان	۳۱		F <sub>1</sub> شارننه	INRA	۵۰		همبرید دل اووو	بازار
۱۳		خاقانی	خراسان	۳۲		تاشکندی ۲	خراسان	۵۱		سفیدک	زابل
۱۴		جارجو	گنبد	۳۳		مشهدی	خراسان	۵۲		بهار	همدان
۱۵		سوسکی ۲	سمنان	۳۴		ایزابل	INRA	۵۳		عجب شیر	عجب شیر
۱۶		قصری ۲	خراسان	۳۵		بهتا مینو	بازار	۵۴		هکتور ملون	بازار
۱۷		جاپالیزی ۲	خراسان	۳۶		آناناسی ۲	بازار	۵۵		مگسی	نیشابور
۱۸		خاقانی ۲	خراسان	۳۷		پی آی ۱۲۴۱۱۲	INRA	۵۶	طالبی	سی ام ۱۷۱۸۷	INRA
۱۹		چاخرحه	گنبد	۳۸		ویرگوس	INRA	۵۷		طالبی ساوه	ساوه

## تهیه مایه قارچ

جدایه عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی خریزه از دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه شد (Banihashemi, 2010)، سپس آزمون و تأیید بیماری‌زایی روی لاین اینبرد شارننه‌تی (شاهد حساس) بر اساس روش فرو بردن ریشه در سوسپانسیون کنیدیوم انجام گرفت.

تعیین نژاد تکمیلی روی لاین‌های ویرگوس و ایزابل و ملاحظه واکنش ناسازگاری روی لاین اینبرد ایزابل در شرایط کنترل شده صورت گرفت. برای نگهداری جدایه مهاجم<sup>۱</sup> در تشتک پتری حاوی محیط کشت عصاره سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA)<sup>۲</sup> (عصاره ۳۰۰ گرم سیب‌زمینی + ۲۰ گرم دکستروز + ۱۶ گرم آگار)، یک قرص میسلومی از کشت خالص و تازه جدایه فوم ۱،۲ قرار گرفت. تشتک‌ها در ژرمیناتور

با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس کنیدیوم‌های تولیدشده با مخلوط ماسه و کاه گندم سترون مخلوط گردید. برای تولید اندام مقاوم، کلامیدوسپور ابتدا به مدت یک ماه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت چهار تا شش ماه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا جمعیت *Fom*<sup>۳</sup> به حد ثابت برسد (Banihashemi & Dezeew, 1975). زادمایه قارچ عامل بیماری با اضافه کردن دو گرم از مخلوط ماسه و کاه گندم حاوی کلامیدوسپور به داخل تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA به عمل آمد و در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد زیر نور فلورسنت به مدت ۱۲ روز نگهداری شد. تهیه سوسپانسیون اسپور نیز 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.

1. Aggressive
2. Potato Dextrose Agar

3. *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

(CAT)<sup>۳</sup>، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)<sup>۴</sup> و فنل کل (PCs)<sup>۵</sup> بودند. نیم گرم بافت ریشه نمونه‌های برداشت‌شده از تمام قسمت‌های ریشه به فاصله دو روز پس از مایه‌زنی و در چهار نوبت برای استخراج پروتئین محلول کل در حضور ۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۶ میلی‌مول (با pH شش) آسیاب شدند. عصاره‌گیری از نمونه‌های حاصل با سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. همه مراحل تهیه عصاره آنزیمی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. میزان پروتئین محلول کل به روش Bradford (1976) اندازه‌گیری شد. برای منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی (Bovin Serum Albumin, BSA) استفاده گردید.

فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری، با استفاده از اسپکتروفتومتر Jenway مدل UV-6505 در دمای آزمایشگاه (۲۵±۲) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Ghanati et al. (2002)، بر اساس میزان اکسید شدن گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر تعیین شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Cakmak & Horst (1991)، صورت گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین شد. برای بررسی تغییرات فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در طول دوره آزمایش از روش Kahn (1975) استفاده شد و تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۸ ماکزیمم برابر با ۴۱۰ نانومتر و به مدت ۱ دقیقه قرائت شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از طریق اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم کلراید (NBT) به روش Giannopolitis & Ries (1977)، در ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند تا ۵۰ درصد مانع از احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم کلراید گردد. مقدار فعالیت

به منظور جداسازی محیط کشت، سوسپانسیون از پارچه مملد دو لایه سترون عبور داده شد.

### مایه‌زنی

برای تهیه مایه سوسپانسیون کنیدیوم‌ها (غالباً میکروکنیدیوم) ابتدا با استفاده از اسلاید گلبول شمار، تعداد آنها در میلی‌لیتر تعیین و در نهایت، غلظت آن به ۱۰<sup>۶</sup> کنیدیوم در میلی‌لیتر تنظیم شد. بذور ارقام *C. melo* پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم (۵ درصد) به مدت ۳-۵ دقیقه و آبکشی با آب لوله (سه مرتبه) در سینی‌های کشت حاوی مخلوط خاکی رس، پیت ماس و پرلیت (۲:۱:۱) کاشته شدند. گیاهان هر روز تا رسیدن به مرحله دوبرگی آبیاری شدند. ریشه گیاهچه‌های جوان ۱۵-۱۲ روزه به آرامی خارج و به مدت چند ثانیه در سوسپانسیون اسپور فرو برده شد و سپس در سینی‌های کشت حاوی مخلوط خاکی رس، پیت‌ماس و پرلیت سترون نشا شد (Banhashemi, 2010). از هر سینی کشت ۱۸ گیاهچه برای هر توده به گلدان انتقال داده شد. گلدان‌های حاوی گیاهچه به گلخانه با متوسط دمای روزانه ۲۸-۲۲ و متوسط دمای شبانه ۱۷-۱۲ درجه سانتی‌گراد (۱۶ ساعت) منتقل و هر روز آبیاری شدند. حداقل سه گیاهچه به عنوان شاهد در هر واحد آزمایشی استفاده شد که ریشه آنها در آب مقطر غوطه‌ور گردید. سپس برای اندازه‌گیری تغییرات فعالیت آنزیمی و میزان فنل کل، نمونه‌برداری ریشه از چند گیاهچه در هر واحد آزمایشی در چهار نوبت به فاصله دو روز بعد از مایه‌زنی انجام گرفت. از روز نهم به بعد، علائم ایجادشده روی گیاهچه‌های باقیمانده در هر واحد آزمایشی ثبت و یادداشت گردید و به محض بروز علائم (زردی و پژمردگی ساقه) روی گیاهچه‌ها برای ردیابی، *Fom* روی محیط PDA کشت داده شد.

### صفات تحت مطالعه

صفات تحت مطالعه شامل تغییر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (POX)<sup>۱</sup>، پلی‌فنل اکسیداز (PPO)<sup>۲</sup>، کاتالاز

3. Catalase  
4. Superoxide dismutase  
5. Phenol compounds

1. Peroxidase  
2. Polyphenol oxidase

صفات تحت مطالعه، بر اساس امید ریاضی میانگین مربعات برآورد گردید. ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنتیکی به ترتیب به صورت نسبت انحراف معیار فنوتیپی و ژنتیکی به میانگین هر صفت محاسبه شد (Hallauer *et al.*, 2010).

ضرایب همبستگی ژنوتیپی و فنوتیپی با استفاده از واریانس‌ها و کوواریانس‌های ژنوتیپی و فنوتیپی از طریق فرمول‌های ارائه شده از سوی Roy (2000)، به شرح زیر محاسبه شد:

$$r_{ph} = \frac{\hat{\sigma}_{ph_{12}}}{\sqrt{(\hat{\sigma}_{ph_1}^2)(\hat{\sigma}_{ph_2}^2)}}$$

$$r_g = \frac{\hat{\sigma}_{g_{12}}}{\sqrt{(\hat{\sigma}_{g_1}^2)(\hat{\sigma}_{g_2}^2)}}$$

برآورد وراثت‌پذیری عمومی نیز از طریق فرمول ذیل صورت پذیرفت (Hallauer *et al.*, 2010). در این روابط،  $\hat{\sigma}_g^2$  عبارت از برآورد واریانس ژنتیکی و  $\hat{\sigma}_e^2$  برآورد واریانس خطا در جدول تجزیه واریانس و  $\hat{h}_B^2$  وراثت‌پذیری عمومی صفت است.

$$\hat{h}_B^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \frac{\hat{\sigma}_e^2}{r}}$$

به منظور خوشه‌بندی توده‌ها از نظر همه صفات از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد، از معیار فاصله اقلیدوسی حداقل مجموع مربعات استفاده شد. تعداد خوشه‌ها و نقطه برش بر اساس حداکثر اختلاف آماره ویلکس لامبدای ( $\Lambda$ ) تجزیه واریانس چندمتغیره در دو مرحله متوالی خوشه‌بندی تعیین شد. به این ترتیب که مقدار آماره ویلکس لامبدا ( $\Lambda_n$ ) وقتی که هر فرد یک خوشه را تشکیل می‌دهد (اندیس  $n$  برابر با تعداد خوشه یا افراد است و در این مرحله، هنوز هیچ خوشه‌ای تشکیل نشده است)، برابر با صفر است و در آخرین مرحله، مقدار آماره ویلکس لامبدا ( $\Lambda_1$ ) که همه ارقام یک خوشه را تشکیل می‌دهد (اندیس ۱ برابر با خوشه است و همه افراد در یک خوشه قرار

آزیم‌های فوق بر حسب تغییرات جذب نور بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین ( $\Delta OD / \text{min/mg protein}$ ) بیان شد. مقدار کل مواد فنلی نیز طبق روش Swain & Hillis (1959)، اندازه‌گیری شد.

برای یادداشت‌برداری و ثبت داده‌ها، سینی‌های کشت هر روز ارزیابی شدند و گیاهانی که به علت شوک نشا از بین رفته بودند، حذف گردیدند. از روز نهم، علائم ایجادشده روی گیاهچه‌ها یادداشت گردید و به محض بروز علائم، شامل زردی و پژمردگی ساقه، آنها برای ردیابی *Fom* روی PDA کشت داده شدند. نمره امتیازدهی بر اساس علائم بیماری برای بوتۀ کاملاً 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 قهوه‌ای شدن ساقه، نمره ۴؛ خشکی کامل و مرگ گیاه، نمره ۵ انجام گرفت (Perchepped & Pitrat, 2004).

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC)، بر پایه ده نوبت یادداشت‌برداری برای همه توده‌ها و نمره ثبت‌شده آنها بر اساس مقیاس فوق‌الذکر، طبق رابطه پیشنهادی Campbell & Madden (1990)، محاسبه شد:

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

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

### تجزیه و تحلیل داده‌های آماری

داده‌های یادداشت‌برداری شده، قبل از تجزیه آماری برای همگنی واریانس‌ها و نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی از طریق آزمون کولموگروف-اسمیرنوف<sup>۱</sup> (Lilliefors, 1967) بررسی شدند که نشان‌دهنده نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی بود. سپس، برای داده‌ها بر اساس مدل آماری طرح بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه واریانس Repeated measures انجام گرفت (Kirk, 1995). واریانس ژنتیکی و فنوتیپی



9.2 (SAS Institute Inc. 2004) و SPSS نسخه 19 (SPSS, 2010) انجام گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف توده‌های تحت مطالعه برای همه صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۲) که بیانگر وجود اختلاف بین میانگین توده‌ها برای همه صفات تحت مطالعه بود. این اختلاف می‌تواند به عنوان ذخیره ژنتیکی غنی، به‌نژادگران را در اصلاح ارقام برای مقاومت به بیماری فوزاریومی یاری رساند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفات و در نظر گرفتن صفات مهمی چون AUDPC و شدت بیماری، توده‌های شماره ۳۷، ۳۳، ۳۸، ۴۵، ۴۶، ۵۱، ۶، ۹ و ۱۰ از نظر AUDPC، DSI، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و فنل کل بهترین بودند. بررسی‌های محققان مختلف (Mandal *et al.*, 2012; Madadkhah *et al.*, 2008) نشان می‌دهد که صفات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و فنل کل از مهم‌ترین صفات در ایجاد مقاومت به *Fom* هستند که بر این اساس، از توده‌های مذکور که مقادیر بالایی از این صفات دارند، به منظور انجام تلاقی در تولید جمعیت‌های پایه برای مطالعه نحوه عمل و شناسایی ژن (های) مؤثر در تحمل به پژمردگی آوندی فوزاریومی می‌توان استفاده کرد.

گرفته‌اند)، برابر با ۱ خواهد بود. با آغاز خوشه‌بندی و با در نظر گرفتن نقاط برش فرضی و تشکیل خوشه‌ها در هر مرحله، تعداد خوشه به عنوان تعداد تیمار و تعداد رقم یا توده درون هر خوشه برابر با تعداد تکرار آن تیمار در نظر گرفته شد. سپس تجزیه واریانس چندمتغیره برای یک طرح کاملاً تصادفی با تعداد تیمار برابر با تعداد خوشه انجام و مقدار آماره  $\Lambda$  در آن مرحله و دیگر مراحل خوشه‌بندی محاسبه شد. سپس اختلاف آماره ویلکس لامبدا برای همه مراحل متوالی و پشت سر هم واریانس چندمتغیره محاسبه شد. اولین نقطه‌ای که تفاوت دو آماره ویلکس لامبدا بیشترین مقدار  $(\Lambda_{K-1} - \Lambda_K = \text{Max})$  بود، به عنوان نقطه برش انتخاب شد و تعداد خوشه‌ها برابر با  $K$  تعیین گردید (Johnson & Wichern, 1992). برای تأیید صحت بهترین خوشه‌بندی، بالاترین مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک از بین دیگر روش‌ها استفاده شد. برای تعیین فاصله ژنتیکی بین خوشه‌های به‌دست‌آمده، از فاصله ماهالانویس ( $D^2$ ) استفاده شد. همچنین برای بررسی تفاوت خوشه‌ها از نظر دسته‌بندی توده‌های مختلف، مقایسه میانگین چندمتغیره بین بردار میانگین خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای مجموعه صفات تحت بررسی انجام گرفت که نشان‌دهنده ماکزیمم اختلاف بین بردار میانگین خوشه‌ها بود. محاسبات آماری در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS نسخه

جدول ۲. تجزیه واریانس ساده صفات تحت مطالعه شامل، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، فنل کل، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، AUDPC و شدت بیماری در توده‌های خربزه و طالبی آلوده‌شده به فوزاریوم فوم ۱،۲

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات						درجه آزادی
		پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	فنل کل	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	AUDPC	
تکرار	۲	۲/۷۴**	۰/۰۳**	۲۵۳/۰۳**	۴۲/۸۶**	۲۷/۷۳**	۲۲۲/۰۹**	۵/۱۵**
توده	۵۶	۰/۱۸**	۰/۰۴**	۴۵/۱۲**	۹/۱۹**	۴/۹۹**	۳۰/۱۳**	۱/۳۱**
روز	۴	۲/۴۳**	۰/۰۸**	۶۹۴۰/۶۱**	۵۱۶/۳۸**	۹۷۳/۰۸**		
تکرار (روز)	۸	۰/۰۱**	۰/۰۳**	۱۹/۸۷**	۳/۵۷**	۱۱/۸۷**		
توده (روز)	۲۲۴	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۹ <sup>ns</sup>	۳/۵۴ <sup>ns</sup>	۰/۸۴**	۲/۵۲**		
خطا	۵۶۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۳/۲۰	۰/۴۹	۰/۷۳	۴/۸۸	۰/۲۰
ضریب تغییرات (%)	۱۰/۳۹	۳۳/۲۸	۱۲/۹۹	۱۲/۰۸	۹/۷۴	۸/۵	۱۲/۸۸	

ns و \*\*: به ترتیب غیرمعنادار و معنادار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، فنل کل، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، AUDPC و شدت بیماری در توده‌های خربزه و طالبی آلوده به فوزاریوم فوم ۱،۲ (واحد اندازه‌گیری صفات در زیرنویس جدول آورده شده است).

توده	POX	PPO	PCs	CAT	SOD	AUDPC	DSI	توده	POX	PPO	PCs	CAT	SOD	AUDPC	DSI
قصری ۱	۳/۶۷	۲۴/۹۶	۱۲/۸۴	۵/۴۹	۸/۴۵	۰/۰۹	۰/۷۲	سمسوری	۳/۵۳	۲۲/۵۷	۱۳/۲۹	۵/۶۷	۸/۵۴	۰/۰۹	۰/۶۹
شادگانی ۱	۴/۱۰	۲۷/۴۸	۱۱/۷۱	۴/۸۹	۸/۱۱	۰/۰۸	۰/۶۰	زرد قناری	۳/۹۴	۲۹/۱۲	۱۲/۵۲	۵/۱۶	۸/۲۸	۰/۰۹	۰/۵۸
دستنبو آتشی	۳/۶۱	۲۸/۴۵	۱۳/۲۵	۵/۶۷	۸/۵۸	۰/۰۹	۰/۶۸	هانی‌دیو	۳/۷۰	۲۶/۳۲	۱۲/۹۶	۵/۵۵	۸/۵۶	۰/۰۹	۰/۶۱
آناناسی	۴/۱۱	۲۵/۴۸	۱۱/۷۴	۴/۹۲	۸/۱۳	۰/۰۸	۰/۶۰	زرد ایوانکی	۳/۴۴	۲۴/۰۱	۱۳/۷۳	۵/۹۸	۸/۷۶	۰/۰۹	۰/۷۳
گرگاب بزرگ	۴/۲۶	۲۶/۷۲	۱۱/۷۲	۴/۸۳	۸/۱۰	۰/۰۸	۰/۵۳	شارننه Fi	۲/۶۸	۲۳/۳۰	۱۶/۴۴	۶/۸۹	۹/۷۵	۰/۱۲	۰/۷۹
جپالیزی ۱	۲/۷۱	۲۵/۰۱	۱۶/۷۰	۶/۹۵	۹/۸۷	۰/۱۱	۰/۸۳	تاشکندی ۲	۲/۲۳	۲۲/۸۱	۱۷/۳۹	۷/۱۰	۹/۸۳	۰/۱۲	۰/۸۷
جلالی	۳/۱۶	۲۶/۹۳	۱۴/۷۷	۶/۴۲	۹/۰۳	۰/۱۰	۰/۷۴	مشهدی	۲/۸۱	۲۶/۶۸	۱۵/۹۱	۶/۶۴	۹/۵۸	۰/۱۱	۰/۷۹
F2شارننه	۳/۳۲	۲۴/۰۸	۱۴/۰۹	۵/۸۹	۸/۸۸	۰/۱۰	۰/۷۴	ایزابل	۳/۲۶	۲۵/۳۱	۱۴/۳۰	۶/۲۲	۸/۹۴	۰/۱۰	۰/۷۲
پوست زرد	۲/۶۲	۱۸/۶۲	۱۶/۴۳	۶/۸۰	۹/۶۸	۰/۱۱	۰/۸۳	بهتا مینو	۱/۰۸	۱۰/۲۹	۲۹/۹۴	۷/۸۸	۹/۸۷	۰/۱۴	۱/۱۲
سوسکی	۲/۹۹	۲۴/۸۲	۱۵/۳۱	۶/۴۲	۹/۲۱	۰/۱۱	۰/۷۷	آناناسی ۲	۲/۶۵	۲۲/۶۸	۱۶/۴۱	۶/۷۷	۹/۶۸	۰/۱۱	۰/۸۳
پی ام آر ۵	۳/۶۱	۲۴/۶۹	۱۳/۴۸	۵/۶۲	۸/۶۸	۰/۰۹	۰/۷۲	پی‌آی ۱۲۴۱۱۲	۳/۴۱	۲۶/۸۴	۱۳/۸۱	۵/۹۹	۸/۶۸	۰/۱۰	۰/۶۹
تاشکندی ۱	۳/۸۰	۲۷/۴۱	۱۲/۸۱	۵/۳۹	۸/۳۷	۰/۰۹	۰/۶۳	ویرگوس	۳/۴۸	۲۴/۴۷	۱۳/۴۹	۵/۸۲	۸/۶۴	۰/۰۹	۰/۶۸
خاقانی	۴/۰۱	۲۷/۱۵	۱۲/۰۳	۵/۰۲	۸/۲۰	۰/۰۸	۰/۶۱	بیارجمند	۳/۱۴	۲۶/۱۲	۱۴/۷۳	۶/۱۷	۹/۱۰	۰/۱۰	۰/۷۳
جارجو	۴/۲۲	۲۶/۴۲	۱۱/۵۵	۴/۷۶	۸/۰۵	۰/۰۸	۰/۵۷	بندر عباس	۳/۱۴	۲۸/۰۰	۱۵/۳۸	۶/۳۹	۹/۴۰	۰/۱۰	۰/۷۴
سوسکی ۲	۴/۵۶	۲۸/۲۴	۱۱/۰۴	۴/۳۸	۷/۸۸	۰/۰۷	۰/۵۱	زیدری	۳/۵۷	۲۹/۹۱	۱۳/۴۳	۵/۶۷	۸/۵۳	۰/۰۹	۰/۶۵
قصری ۲	۳/۰۸	۲۷/۳۵	۱۴/۸۵	۶/۱۹	۹/۱۱	۰/۱۱	۰/۷۹	رباتی	۳/۶۸	۲۵/۲۱	۱۳/۰۹	۵/۵۶	۸/۴۸	۰/۰۸	۰/۶۶
جپالیزی ۲	۴/۴۷	۲۸/۱۸	۱۱/۱۸	۴/۵۳	۷/۹۷	۰/۰۷	۰/۵۴	سبز	۲/۸۷	۲۲/۸۴	۱۵/۶۸	۶/۵۱	۹/۴۶	۰/۱۱	۰/۷۷
خاقانی ۲	۳/۷۳	۲۷/۹۶	۱۲/۷۷	۵/۴۹	۸/۴۳	۰/۰۹	۰/۶۳	مخروطی زرد	۲/۸۷	۲۳/۷۳	۱۵/۴۵	۶/۵۳	۹/۳۶	۰/۱۱	۰/۷۹
چاخرخه	۳/۳۷	۲۷/۰۴	۱۳/۸۹	۶/۰۴	۸/۷۸	۰/۱۰	۰/۷۲	رحمانلو	۳/۱۹	۲۷/۶۷	۱۴/۶۹	۶/۱۹	۹/۰۴	۰/۱۰	۰/۷۳
مگسی	۲/۵۴	۲۰/۳۵	۱۶/۵۸	۶/۷۹	۹/۷۸	۰/۱۲	۰/۸۴	خاقانی گرد	۳/۳۱	۲۶/۳۱	۱۴/۳۹	۶/۰۷	۸/۹۴	۰/۱۰	۰/۷۰
حاج ماشاله‌هی	۳/۵۲	۲۷/۲۴	۱۳/۵۶	۵/۷۸	۸/۶۰	۰/۰۹	۰/۶۹	درگری	۳/۶۵	۲۵/۳۵	۱۳/۳۷	۵/۵۱	۸/۷۰	۰/۰۹	۰/۶۱
Tشارننه	۴/۴۳	۲۹/۹۹	۱۱/۲۳	۴/۵۳	۷/۹۶	۰/۰۷	۰/۵۲	گرگاب کوچک	۳/۳۲	۲۶/۸۲	۱۴/۱۹	۵/۹۱	۸/۹۲	۰/۰۹	۰/۷۲
خاتونی سنگ بس	۴/۶۹	۲۹/۳۰	۱۰/۷۶	۴/۳۲	۷/۸۳	۰/۰۷	۰/۴۹	خاقانی مشبک	۲/۹۷	۲۲/۴۹	۱۶/۰۰	۶/۶۶	۹/۵۸	۰/۱۷	۰/۷۵
گیلان	۳/۶۷	۲۷/۶۲	۱۳/۳۱	۵/۴۹	۸/۶۸	۰/۰۹	۰/۶۲	هیبیرید دل‌اورو	۳/۴۵	۲۴/۹۴	۱۳/۶۷	۵/۹۵	۸/۷۰	۰/۱۰	۰/۷۱
شادگانی ۲	۴/۹۸	۳۰/۷۵	۱۰/۶۸	۴/۲۳	۷/۹۰	۰/۰۶	۰/۴۶	سفیدک	۳/۷۸	۲۶/۵۵	۱۲/۸۴	۵/۴۴	۸/۴۷	۰/۰۹	۰/۶۷
پی‌آی ۱۴۱۷۲۳	۴/۱۵	۲۸/۰۷	۱۱/۶۱	۴/۸۲	۸/۰۸	۰/۰۸	۰/۵۷	بهار	۳/۱۸	۲۶/۱۹	۱۴/۸۱	۶/۳۱	۹/۱۳	۰/۱۰	۰/۷۴
جارجو ۲	۳/۴۹	۲۸/۵۱	۱۲/۶۷	۵/۸۱	۸/۶۰	۰/۰۹	۰/۷۱	عجب شیر	۴/۲۸	۲۶/۵۷	۱۱/۴۷	۴/۶۷	۸/۰۱	۰/۰۷	۰/۵۳
سی ام ۱۷۱۸۷	۳/۹۷	۲۷/۰۰	۱۲/۸۳	۵/۲۲	۸/۵۵	۰/۰۸	۰/۵۹	هکتور ملون	۳/۲۰	۲۵/۲۳	۱۴/۵۱	۶/۱۸	۹/۰۲	۰/۱۰	۰/۷۲
طالبی ساوه	۳/۶۷	۲۴/۹۶	۱۲/۸۴	۵/۴۹	۸/۴۵	۰/۰۹	۰/۷۲								
LSD 5%	۰/۰۵۰	۰/۰۲۲	۰/۰۶۱	۰/۵۰۰	۱/۲۸۰	۳/۵۳	۰/۷۱	LSD 5%	۰/۰۵۰	۰/۰۲۲	۰/۰۶۱	۰/۵۰۰	۱/۲۸۰	۳/۵۳	۰/۷۱
LSD 1%	۰/۰۶۶	۰/۰۲۹	۰/۰۸۰	۰/۶۵۶	۱/۶۷۰	۴/۶۳	۰/۹۳	LSD 1%	۰/۰۶۶	۰/۰۲۹	۰/۰۸۰	۰/۶۵۶	۱/۶۷۰	۴/۶۳	۰/۹۳

Peroxidase: پراکسیداز برحسب  $\Delta OD / \text{min/mg protein}$ ; Polyphenol oxidase: پلی فنل اکسیداز برحسب  $\Delta OD / \text{min/mg protein}$ ; Phenol Compounds: فنل کل، کاتالاز برحسب  $\Delta OD / \text{min/mg protein}$ ; Superoxide dismutase: سوپراکسید دیسموتاز برحسب  $\Delta OD / \text{min/mg protein}$ ; Areas under the disease progress curve: سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و Disease severity index: شدت بیماری.

ناچیز داشتند و سهم ژنتیکی برای صفات مذکور بالا بود. ضریب تغییرات ژنوتیپی صفات نشان می‌دهد که تنوع موجود در صفات مختلف متفاوت است. در بعضی صفات تنوع زیاد و در بعضی صفات تنوع کمی وجود دارد. مسلماً هر چه تنوع موجود در صفات بیشتر باشد، انتخاب در آنها از دقت بالایی برخوردار خواهد بود

**وراثت‌پذیری، ضریب تغییرات و ضریب همبستگی ژنوتیپی و فنوتیپی**  
ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی برای بسیاری از صفات خیلی به هم نزدیک بودند (جدول ۴)؛ به طوری که نمی‌توان تفاوت معناداری بین آنها مشاهده کرد. این موضوع حاکی از آن بود که تأثیرات محیطی، نقشی



همبستگی بین دو صفت می‌تواند قرار گرفتن ژن‌ها یا بلوک‌های ژنی کنترل‌کننده آن دو صفت روی یک کروموزوم باشد، به‌طور کلی، همبستگی به‌وسیله لینکاژ بین ژن‌ها، اثر متقابل غیرآلی و پلیوتروپی حاصل می‌شود (Sarafı, 1978). لذا بررسی همبستگی بین صفات، در برنامه‌های به‌نژادی برای مقاومت به بیماری به‌ویژه در امر گزینش بر اساس تعدادی از صفات ضروری است و می‌تواند در حصول مقاومت، بسیار کمک‌کننده باشد. هدف از محاسبه ضریب همبستگی ژنوتیپی، بررسی روابط در شرایطی است که عوامل محیطی دخالتی ندارند. به این ترتیب، همبستگی بین صفات مختلف و AUDPC و شدت بیماری از دیدگاه پیوستگی و پلیوتروپی بین صفات بررسی می‌شود. همبستگی بین صفات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل کل، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز با صفات AUDPC و شدت بیماری نشان‌دهنده همبستگی منفی و معناداری بود (جدول ۵). این امر با افزایش صفات مذکور مقاومت نیز افزایش پیدا می‌کند. پراکسیداز، دارای همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی مثبت و معناداری با پلی‌فنل اکسیداز و فنل کل است. پلی‌فنل اکسیداز با صفات فنل کل و کاتالاز همبستگی مثبت و معناداری دارد. Madadkhah et al. (2012) همبستگی منفی و معناداری بین پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و فنل کل با شدت بیماری گزارش کرده‌اند. سوپر اکسید دیسموتاز همبستگی مثبت و معناداری با صفات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل کل و کاتالاز نشان داد. پژوهش‌های دیگری نیز همبستگی مثبت و معناداری بین فعالیت افزایش یافته پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و غلظت مواد فنلی از یک سو و مقاومت گیاه از سوی دیگر نشان داد (Kosuge, 1969). Mandal et al. (2008)، نیز رابطه مثبت و معناداری بین افزایش سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در گوجه فرنگی در مواجهه با *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* گزارش کردند.

بررسی مقادیر ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی بین صفات تحت مطالعه برای ۵۷ توده خربزه و طالبی در جدول ۵ نشان می‌دهد که در برخی موارد

(Falconer, 1989). به‌طوری که ملاحظه می‌شود، ضریب تنوع ژنتیکی برای صفات شدت بیماری، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز به‌ترتیب ۱۷/۲۹، ۱۴/۷ و ۱۴/۸۸ درصد بود که حاکی از تنوع نسبی خوبی برای این صفات است؛ به‌طوری که می‌توان از طریق برنامه‌ها و روش‌های اصلاحی مبتنی بر انتخاب از این تنوع ژنتیکی برای بهبود صفات تحت نظر استفاده کرد. نکته قابل توجه اینکه ژنوتیپ ایزابل از نظر صفات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به دیگر گونه‌ها برتر بود. از این جهت، می‌توان این ژنوتیپ را در تلاقی با دیگر ژنوتیپ‌های تجاری به عنوان والد تحت نظر انتخاب کرد. ضریب تنوع ژنتیکی برای صفت فنل کل ۵/۵ درصد بود که تنوع ژنتیکی کمی را نشان داد. کمتر بودن مقدار ضریب تنوع ژنتیکی فنل کل حاکی از این موضوع است که اثرات محیطی قسمت اعظم تغییرات فنوتیپی را به‌وجود می‌آورد و در نتیجه، انتخاب توده برتر فقط بر اساس فنل کل در مطالعات چندان مؤثر نخواهد بود. در پژوهش‌های دیگر روی *C. melo* نیز، صفات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل کل و شدت بیماری از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار بود (Banihashemi, 2010; Madadkhah et al., 2012).

میزان بازدهی انتخاب برای یک صفت به تأثیر نسبی عوامل ژنتیکی و غیرژنتیکی در بروز تفاوت‌های فنوتیپی صفت بستگی دارد که به‌وسیله قابلیت توارث بیان می‌شود. میزان قابلیت توارث عامل مهمی در تعیین روش مناسب برای بهبود یک صفت در برنامه‌های به‌نژادی و همچنین شاخصی از نحوه تأثیر روش‌های انتخاب برای بهبودی آن صفت است. در این پژوهش، بیشتر صفات از قابلیت و توارث‌پذیری بالایی برخوردار بودند که نشان‌دهنده این است که بازدهی ناشی از انتخاب برای این صفات در برنامه‌های اصلاحی بالا خواهد بود. میزان وراثت‌پذیری بالا برای این صفات در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Herman & Perl-Treves, 2007).

با توجه به میزان وراثت‌پذیری بالای صفات و روند مشابه این تغییرات در صفات مختلف، روابط بین صفات برای بهره‌گیری از تقدم و تأخر در اندازه‌گیری صفات بررسی شد. از آنجایی که یکی از دلایل

یکی از ضرایب همبستگی بزرگ‌تر از فنوتیپی است. در این موارد، می‌توان اظهار کرد که با افزایش کوواریانس ژنتیکی بین دو صفت نسبت به کوواریانس فنوتیپی و کاهش واریانس‌های ژنتیکی هر یک از صفات نسبت به واریانس‌های فنوتیپی که حاکی از افزایش کوواریانس و واریانس محیطی است، مقدار عددی ضریب همبستگی ژنتیکی افزایش خواهد یافت. به عبارت دیگر، می‌توان گفت که به علت افزایش مقدار واریانس محیطی یا افزایش اشتباه آزمایشی و همبستگی منفی محیطی، مقدار ضریب همبستگی ژنتیپی نسبت به فنوتیپی افزایش خواهد یافت. در مواردی که ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنتیپی به هم نزدیک باشند، واریانس و کوواریانس محیطی به کمترین مقدار خود کاهش می‌یابد و بنابراین تأثیر محیط بر این روابط بسیار کم است. اما در مواردی که

ضرایب همبستگی ژنتیپی بزرگ‌تر از فنوتیپی است. در این موارد، می‌توان اظهار کرد که با افزایش کوواریانس ژنتیکی بین دو صفت نسبت به کوواریانس فنوتیپی و کاهش واریانس‌های ژنتیکی هر یک از صفات نسبت به واریانس‌های فنوتیپی که حاکی از افزایش کوواریانس و واریانس محیطی است، مقدار عددی ضریب همبستگی ژنتیکی افزایش خواهد یافت. به عبارت دیگر، می‌توان گفت که به علت افزایش مقدار واریانس محیطی یا افزایش اشتباه آزمایشی و همبستگی منفی محیطی، مقدار ضریب همبستگی ژنتیپی نسبت به فنوتیپی افزایش خواهد یافت. در مواردی که ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنتیپی به هم نزدیک باشند، واریانس و کوواریانس محیطی به کمترین مقدار خود کاهش می‌یابد و بنابراین تأثیر محیط بر این روابط بسیار کم است. اما در مواردی که

جدول ۴. واریانس و ضریب تنوع فنوتیپی و ژنتیپی و وراثت‌پذیری عمومی صفات مختلف خربزه و طالبی

صفات	واریانس فنوتیپی	واریانس ژنتیپی	واریانس محیطی	ضریب تنوع ژنتیپی	ضریب تنوع فنوتیپی	توارث‌پذیری عمومی
پراکسیداز	۰/۰۱۴	۰/۰۱۰	۰/۰۰۴	۱۴/۷	۱۷/۴	۸۶
پلی‌فنل اکسیداز	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۳	۱۴/۸۸	۲۳/۵۳	۶۳
فنل کل	۰/۵۱۶	۰/۲۴۱	۰/۲۷۵	۵/۵	۸/۱۹	۷۱
کاتالاز	۰/۸۵۱	۰/۴۹۳	۰/۳۵۸	۱۲/۰۸	۱۵/۸	۷۹
سوپراکسید دیسموتاز	۴/۵۳	۲/۳۸۵	۲/۱۴۹	۱۱/۲۱	۱۵/۴	۷۶
AUDPC	۱۳/۳۰	۸/۴۱۷	۴/۸۸۵	۱۱/۲۷	۱۴/۱۷	۸۳
شاخص شدت بیماری	۰/۵۷۶	۰/۳۶۸	۰/۲۰۸	۱۷/۲۹	۲۱/۸۷	۸۳

جدول ۵. ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنتیپی بین صفات مختلف در توده‌های خربزه و طالبی آلوده به فوزاریوم فوم ۱،۲ (اعداد بالای قطر همبستگی فنوتیپی و اعداد پایین قطر همبستگی ژنتیپی را نشان می‌دهد).

شماره	صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱	پراکسیداز	۱	۰/۷۳**	۰/۸۲**	۰/۸۹**	۰/۸۶**	۰/۷۰**	-۰/۹۳**
۲	پلی‌فنل اکسیداز	۰/۹۹**	۱	۰/۸۱**	۰/۸۲**	۰/۸۲**	۰/۶۱**	-۰/۸۰**
۳	فنل کل	۰/۹۸**	۱**	۱	۰/۹۵**	۰/۹۸**	۰/۶۲**	-۰/۹۲**
۴	کاتالاز	۱**	۱**	۰/۹۸**	۱	۰/۹۷**	۰/۶۵**	-۰/۹۷**
۵	سوپراکسید دیسموتاز	۰/۹۸**	۱**	۱**	۰/۹۹**	۱	۰/۶۳**	-۰/۹۵**
۶	AUDPC	-۰/۸۲**	-۰/۷۳**	-۰/۶۷**	-۰/۷۱**	-۰/۶۰**	۱	۰/۷۲**
۷	شاخص شدت بیماری	-۱**	-۰/۹۰**	-۰/۹۶**	-۰/۹۸**	-۰/۹۶**	۰/۸۰**	۱

\*\* معنادار در سطح احتمال ۱ درصد.

با استفاده از روش وارد انجام گرفت که بالاترین مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک را در بین دیگر روش‌ها

تجزیه خوشه‌ای با توجه به تفاوت میان توده‌های بومی تجزیه خوشه‌ای

می‌توان برای افزایش مقاومت به بیماری پژمردگی آوندی خربزه از این توده بهره گرفت. خوشه دوم شامل بیست توده بود که از نظر پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و فنل کل بالاتر از میانگین کل و از نظر دیگر صفات کمتر از میانگین کل بودند. دارا بودن AUDPC و شدت زیاد بیماری توده‌های خربزه و طالبی را در ردیف خربزه‌بیان حساس قرار می‌دهد که چندان مطلوب نیست. در این خوشه می‌توان از توده‌های دارای AUDPC و شدت بیماری کمتر به عنوان توده‌های دارای مقاومت متوسط استفاده کرد.

نشان داد (\*\*۰/۸۶). اختلاف آماره ویلکس لامبدای متوالی حاصل از تجزیه واریانس چندمتغیره، توده‌های تحت بررسی را در سه خوشه گروه‌بندی کرد (جدول ۶، شکل ۱). خوشه اول، شامل ژنوتیپ ایزابل بود که از لحاظ صفات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و فنل کل بالاتر از میانگین کل بوده و از نظر دیگر صفات پایین‌تر از میانگین کل بود. در دندروگرام ترسیم‌شده نیز ملاحظه شد که این ژنوتیپ در اولین مرحله تجزیه خوشه‌ای از بقیه توده‌ها جدا شد. بنابراین با توجه به خصوصیات این خوشه،

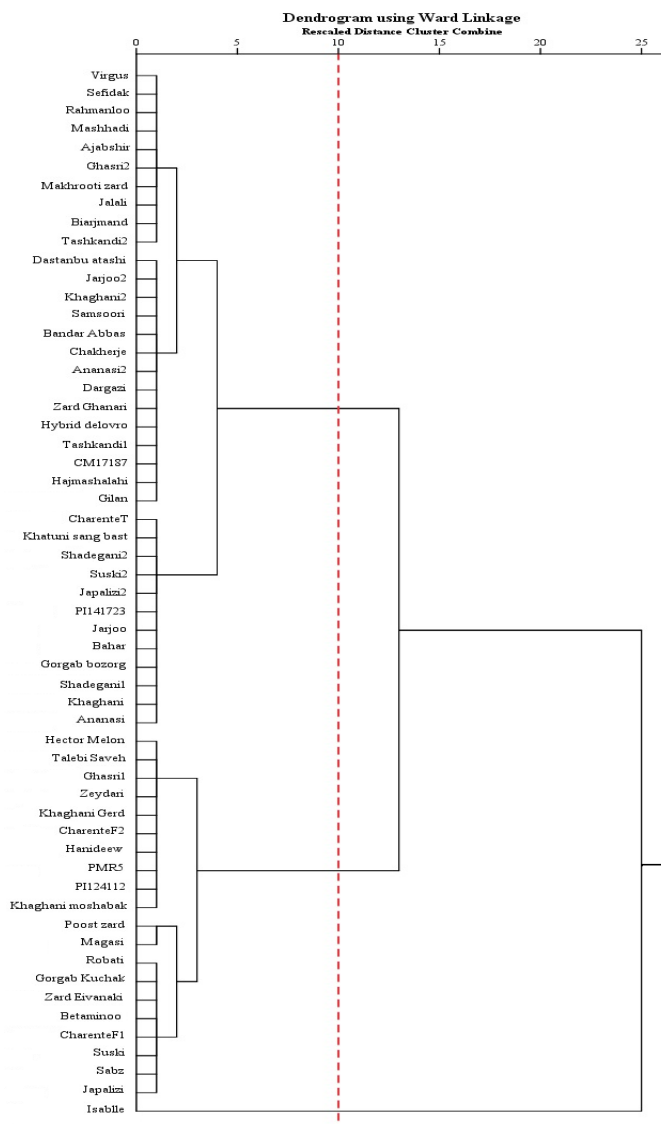
جدول ۶. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های خربزه و طالبی آلوده به فوزاریوم فوم ۱،۲

میانگین کل	میانگین			صفت
	خوشه سوم	خوشه دوم	خوشه اول	
	۳۶	۲۰	۱	تعداد توده در خوشه
۰/۶۸	۰/۶۴	۰/۷۵	۱/۱۱	پراکسیداز
۰/۰۹۵	۰/۰۸۸	۰/۱۰۵	۰/۱۴	پلی فنل اکسیداز
۸/۷۷	۸/۵۴	۹/۱۴	۹/۸۷	فنل کل
۵/۷۹	۵/۴۸	۶/۲۴	۷/۸۷	کاتالاز
۱۳/۹۹	۱۳/۰۵	۱۴/۸۹	۲۹/۹۴	سوپراکسید دیسموتاز
۲۵/۷۱	۲۷/۴۱	۲۳/۴۳	۱۰/۲۹	AUDPC
۳/۴۷	۳/۷۳	۳/۱۱	۱/۰۸	شاخص شدت بیماری

(کمترین مقدار برای ماتریس مجموع مربعات درون خوشه‌ها) و بیشترین اختلاف بین خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای (بیشترین مقدار برای ماتریس مجموع مربعات بین خوشه‌ها) بود. لذا تنوع ژنتیکی درون خوشه‌های کمی نسبت به تنوع ژنتیکی بین خوشه‌های وجود داشت و توده‌های هر خوشه، فاصله ژنتیکی کمی با یکدیگر داشتند. به منظور بررسی بهتر خوشه‌ها، برای تک تک صفات تحت بررسی، به صورت جداگانه تجزیه واریانس یکطرفه انجام گرفت. به طوری که ملاحظه می‌شود، بین خوشه‌ها در همه صفات تحت بررسی در سطح ۱ درصد اختلاف معنادار وجود داشت (جدول ۷). به منظور مقایسه جفتی بردارهای میانگین خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای از آماره  $T^2$  هتلینگ و تطبیق فاصله میان خوشه‌ها، فواصل بین خوشه‌ها به وسیله فاصله ماهالانوبیس ( $D^2$ ) محاسبه شد و در جدول ۸ درج گردید.

خوشه سوم شامل سی و شش توده بود که از لحاظ پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و فنل کل کمتر از میانگین کل و از لحاظ AUDPC و شدت بیماری بالاتر از میانگین کل بودند. بنابراین، توده‌های این خوشه به دلیل داشتن AUDPC و شدت بیماری بالا جزو توده‌های حساس مد نظر قرار می‌گیرند.

به منظور تأیید اختلافات بین خوشه‌ها، از تجزیه واریانس چندمتغیره بر پایه طرح کاملاً تصادفی نامتعادل برای صفات مورد نظر استفاده شد که آماره ویلکس لامبدا (Wilks Lambda) برابر با ۰/۰۰۳، در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شدند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بین بردارهای میانگین‌های توده‌های خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای اختلاف معناداری وجود داشت. در نتیجه، در این مرحله از خوشه‌بندی بیشترین شباهت میان توده‌های درون هر خوشه



شکل ۱. دندروگرام حاصل از روش Ward برای خوشه‌بندی توده‌های تحت مطالعه در پاسخ به فوزاریوم فوم ۱،۲ بر مبنای صفات مختلف اندازه‌گیری شده

جدول ۷. تجزیه واریانس‌ها بر اساس صفات مورد بررسی

در خربزه و طالبی آلوده به فوزاریوم فوم ۱،۲

صفات	واریانس بین خوشه‌ای
درجه آزادی	۲
پراکسیداز	۰/۳۴**
پلی فنل اکسیداز	۰/۰۰۶**
فنل کل	۵/۹۳**
کاتالاز	۱۲/۰۲**
سوپراکسید دیسموتاز	۳۰۲/۲۱**
AUDPC	۴۴۶/۲۲**
شاخص شدت بیماری	۱۰/۸۷**

\*\* معنادار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۸. مقایسه بردار میانگین و فواصل ماهالانویس خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای

خوشه‌ها	خوشه اول vs خوشه دوم	خوشه اول vs خوشه سوم	خوشه دوم vs خوشه سوم
آماره T <sup>2</sup> هتلینگ	۱۰۳۹/۵۹**	۱۸۹/۱۱**	۲/۰۰۱**
فاصله بین خوشه‌ها (D <sup>2</sup> )	۴/۵۳	۲۰/۱۶	۲۴/۳۵

\*\* معنادار در سطح احتمال ۰/۰۱ درصد. / vs: در مقابل.

فاصله ژنتیکی میان توده‌های ایزابل و شادگانی ۲ به دست آمد که به ترتیب کمترین و بزرگ‌ترین مقادیر AUDPC و شدت بیماری را دارا بودند. به نظر می‌رسد که با توجه به فاصله ژنتیکی بین آنها با انجام تلاقی، هتروزیس بیشتری را می‌توان به دست آورد و از نتایج آنها به عنوان والدین برای تولید جمعیت‌های ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی برای مقاومت به بیماری پژمردگی آوندی فوزاریومی تولید ارقام جدید استفاده کرد.

به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که تنوع ژنتیکی زیادی از نظر صفات تحت مطالعه در بین توده‌های تحت بررسی وجود داشت و ژنوتیپ ایزابل مقاومت بیشتری به قارچ عامل پژمردگی آوندی در مقایسه با دیگر توده‌ها نشان داد. این نتایج می‌تواند برای متخصصان اصلاح نباتات به منظور انتخاب ژنوتیپ ایزابل به عنوان منبع دارای مقاومت به بیماری پژمردگی آوندی در تولید جمعیت‌های پایه، برای مطالعه نحوه عمل، شناسایی ژن (های) مؤثر و انتقال این صفت به توده‌های مورد نظر به کار رود.

نتایج نشان داد که بردارهای میانگین خوشه‌های به دست آمده در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر اختلاف معنادار آماری برای تمام صفات اندازه‌گیری شده داشتند که مؤید وجود بیشترین اختلاف بین خوشه‌های حاصل و اختلاف بین بردارهای میانگین بود. اهم نتایج حاصل از خوشه‌بندی توده‌ها را می‌توان چنین بیان کرد که توده خوشه اول به علت داشتن مقادیر بالای پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و فنل کل ارزشمند بوده و می‌توان از آن برای انتقال صفات مذکور در برنامه‌های دورگ‌گیری استفاده کرد. فاصله ژنتیکی بین خوشه‌ها، بیشترین فاصله را بین خوشه‌های دوم و سوم نشان داد. در برنامه‌های به‌نژادی برای تولید ارقام هیبرید، بهترین نتیجه زمانی به دست خواهد آمد که حداکثر فاصله ژنتیکی بین والدین وجود داشته باشد. بنابراین می‌توان از توده‌های موجود در این خوشه‌ها برای انجام برنامه‌های دورگ‌گیری بهره جست. در این آزمایش، بیشترین

## REFERENCES

1. Aguilar, E., Turner, D. & Sivasithamparam, K. (2000). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* inoculation and hypoxia alter peroxidase and phenylalanine ammonia lyase activities in nodal roots of banana cultivars (*Musa* sp.) differing in their susceptibility to *Fusarium* wilt. *Australian Journal of Botany*, 48(5), 589-596.
2. Anonymous. (2011). Statistics for crop year 2009-2010. Department of Statistical Information Technology, Ministry of Jihad Agriculture, Tehran, Iran, 449 pp.
3. Baek, K. H. & Skinner, D. Z. (2003). Alternation of Antioxidant Enzyme Gene Expression during Cold Acclimation of Near-Isogenic Wheat Lines. *Plant Science*, 165(6), 1221-1227.
4. Banihashemi, Z. (1968a). *The Biology and Ecology of Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Soil and Root Zones of host and Non Host plants. Ph. D. Thesis. Michigan State University, 114 pp.
5. Banihashemi, Z. (1982). A new physiologic race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Iran. *Iranian Journal Plant Pathology*, 18, 1-6 (in Farsi).
6. 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*. In: *Proceeding of the 9<sup>th</sup>. Plant Protection. Congress*. Mashhad. Iran. 88 pp. (in Farsi)
7. Banihashemi, Z. (2010). Reaction of *cucumis melo* cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* the cause of melon vascular wilt. *Iranian Journal Plant Pathology*, 46(1), 11-22 (in Farsi).
8. Banihashemi, Z. & Dezeuw, D. J. (1975). The behavior of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in the presence and absence of host plants. *Phytopathology*, 65, 1212-1217.
9. Bloch, K., Shichman, E., Vorobeychik, M., Bloch, D. & Vardi, P. (2007). Catalase expression in pancreatic alpha cells of diabetic and non-diabetic mice. *Histochemistry and Cell Biology*, 127, 227-232.

10. Bradford, M.M. (1976). A rapid and susceptible method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248-254.
11. Cakmak, I. & Horst, W. (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max* L.). *Plant Physiology*, 83(3), 463-468.
12. Campbell, C.L. & 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, USA. 161-202.
13. Chikh-Rouhou, H., Gonzalez Torres, R. & 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.
14. De Vecchi, L. & Matta, A. (1988). An ultrastructural and cytochemical study of peroxidase, polyphenoloxidases and phenols in xylem of tomato plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* or *melonis*. *Caryologia*, 42, 103-114.
15. Falconer, D. S. & Mackay T. F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. Fourth edition. Addison Wesley Longman, Harlow, Essex, UK. 406 pp.
16. Friend, J. (1981). Plant Phenolics, lignification and plant disease. *Progress in Phytochemistry*, 7, 197-261.
17. García-Limones, C., Hervás, A., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, R.M. & Tena, M. (2002). Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 61(6), 325-337.
18. Ghanati, F., Morita, A. & Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48 (3), 357-364.
19. Giannopolitis, C.N. & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology*, 59(2), 309-314.
20. Goodman, R. N., Király, Z. & Wood, K R. (1986). *The biochemistry and physiology of plant disease*. University of Missouri Press. 433 pp.
21. Hallauer, AR., Carena, MJ. & Miranda, J. B. (2010). *Quantitative Genetic In Maize Breeding*. 2<sup>nd</sup> ed. Iowa State University Press, Ames Iowa, USA. 663 pp.
22. Herman, R. & 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(9), 1180-1186.
23. Holland, J. B. (2005). Estimating genotypic correlations and their standard errors using multivariate restricted maximum likelihood estimation with SAS proc mixed. *Crop Science*, 46(2), 642-654.
24. Holland, J. B. (2005). Estimating genotypic correlations and their standard errors using multivariate restricted maximum likelihood estimation with SAS proc mixed. *Crop Science*, 46(2), 642-654.
25. Hrubcová, M., Cvikrová, M., Meravy, L., Eder, J. & Binarová, P. (1992). Phenolic accumulation and peroxidase activity in invitro selected alfalfa callus cultures resistant to filtrate of *Fusarium spp.* *Biologia Plantarum*, 34, 203-211.
26. Johnson, R. A. & Wichern, D. W. (1992). *Applied multivariate statistical analysis* (3<sup>th</sup> Ed.). U.S.A. The Iowa State University Press. 597 pp.
27. Johnson, D. E. (1998). *Applied multivariate methods for data analysis*. Dunbury Press, New york, USA. 567 pp.
28. Kahn, V. (1975). Polyphenol oxidase activity and browning of three avocado varieties. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 26 (9), 1319-1324.
29. Kirk, R. E. (1995). *Experimental Design: Procedures for the Behavioral Sciences*, 3<sup>rd</sup> ed. SAGE Publications, California, USA, 1056 pp.
30. Kosuge, T. (1969). The role of phenolics in host response to infection. *Annual review of phytopathology*, 7 (1), 195-222.
31. Macko, V., Woodbury, W. & Stahmann, M. (1968). The effect of peroxidase on the germination and growth of mycelium of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, 58, 1250-1254.
32. Lilliefors, HW. (1969). On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of the American Statistical Association*, 62, 399-402.
33. Madadkhah, E., Lotfi, M., Nabipour, A., Rahmanpour, S., Banihashemi, Z. & Shooroei, M. (2012). Enzymatic activities in roots of melon genotypes infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1. *Science Horticulture*, 135, 171-176.
34. Mandal, S., Mitra, A. & Mallick, N. (2008). Biochemical characterization of oxidative burst during interaction between *Solanum lycopersicum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Physiological and molecular plant pathology*, 72(1), 56-61.
35. Moghaddam, M., Mohammadi, S. A. & Aghae Sarbarzeh, M. (2009). *Multivariate statistical methods a primer*. (2<sup>nd</sup> ed.). Parivar Press Tabriz, Iran. 277 pp.



36. Mohammadi, S. A. & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants: Salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4), 1235-1248.
37. Morkunas, I. & Bednarski, W. (2008). *Fusarium oxysporum*-induced oxidative stress and antioxidative defenses of yellow lupine embryo axes with different sugar levels. *Journal of Plant Physiology*, 165(3), 262-277.
38. Morkunas, I. & Gemerek, J. (2007). The possible involvement of peroxidase in defense of yellow lupin embryo axes against *Fusarium oxysporum*. *Plant Physiology*, 164(2), 497-506.
39. Perchepied, L. & Pitrat, M. (2004). Polygenic inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 in melon. *Phytopathology*, 94(12), 1331-1336.
40. Poostchi, I. (1972). Cucurbit and Cucurbit Cultivation. Franklin Publishing. 330 pp (in Farsi).
41. Roy, D. (2000). *Plant Breeding: Analysis and exploitation of variation*. Alpha Science International LTD, 728 pp.
42. Preston, T. J., Muller, W. J. & Singh, G. (2002). Scavenging of extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by catalase inhibits the proliferation of HER-2/Neu-transformed rat-1 fibroblasts through the induction of a stress response. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 9558-9564.
43. Ray, H., Douches, D. & Hammerschmidt, R. (1998). Transformation of potato with cucumber peroxidase: expression and disease response. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 53, 93-103.
44. Risser, G., Banihashemi, Z. & Davis, D.W. (1976). A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. *Phytopatology*, 66, 1105-1106.
45. Sarrafi, A. (1978). A yield component selection experiment involving American and Iranian cultivars of the common bean. *Crop Science*, 18 (1), 5-7.
46. SAS /STAT users guide. (2004). SAS 9.1 for windows update. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 668 pp.
47. Sherf, A. F. & MacNeb, A. A. (1986). *Vegetable disease and their control*. A Wiley Interscience Publication, John Wiley and Sons, New York, 728 pp.
48. SPSS INC. (2010). SPSS 19. Users guied. SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 635 pp.
49. Swain, T. & 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.
50. Uritani, I. (1965). Molecular pathology in the plant field with special regard to defence action of the host. Deut. Akadem. Landwirtschaftswiss. Berlin DDR. *Tagungsber*, 74, 201-218.
51. Yamamoto, H. (1995). Pathogenesis and host-parasite specificity in rusts. Pathogenesis and Host Specificity in Plant Disease. *Histopathological, Biochemical, Genetic and Molecular Basis*, 2, 203-212.
52. Yan, W. & Kang, M.S. (2003). *GGE Biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders, Geneticists, and Agronomists*. CRC press, Boca Raton, FL, USA, 288 pp.

## Evaluation of diversity among some melon (*Cucumis melo*) accessions for resistance to fusarium wilt based on biochemical enzymes activity

Mehrdad Hanifeie<sup>1</sup>, Hamid Dehghani<sup>2\*</sup> and Rajab Chookan<sup>3</sup>

1, 2. Former M.Sc. Student and Associate Professor, Faculty of Agriculture,  
Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3. Professor, Seed and Plant Improvement Institute

(Received: Aug. 20, 2014 - Accepted: Sep. 14, 2015)

### ABSTRACT

Fusarium wilt is a restrictive disease of melons in the world and Iran. In this research, fifty seven accessions of *Cucumis melo*, planted in a randomized complete block design with three replications. The relationship between resistance and changes in biochemical activity were evaluated for these accessions. The wounded root of seedlings after reaching at one to two true leaf stage were placed in inoculum concentrations of  $1 \times 10^6$  spores  $\text{ml}^{-1}$  of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for 3-4 min and then they were transferred to cultivation trays. Area under disease progress curve (AUDPC), disease severity and five physiological traits were measured. Analysis of variance showed significant differences among genotypes for all traits. The correlation coefficient between different traits showed that the AUDPC and disease severity have a negative correlation with Peroxidase, Polyphenol oxidase, Phenol Compound, Superoxide dismutase and Catalase. The grouping results of genotypes based on squared Euclidean distance measurement and Ward method were clustered these accessions in three groups; resistant, moderately resistant and susceptible. In this study the farthest distance (28.67) was observed between Isabelle and Shadegani2. These accessions recognized as the most resistant and susceptible genotypes, respectively. It seems that due to the distance between them, with make crossing and use of heterosis, we may achieve to progeny that are more resistant in comparing to the evaluated genotypes of this study.

**Keywords:** cluster analysis, correlation, fusarium wilt, melon.

---

\* Corresponding author E-mail: dehghanr@modares.ac.ir

Tel: +98 21 44196522, +98 912 514 4820