

بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* عامل پژمردگی

طالبی و خربزه در ایران

فرزانه لک^{۱*}، ابوالفضل سرپله^۲ و داریوش شهریاری^۳

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، پیشوا.

۲- استادیار مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور.

۳- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی استان تهران.

*مسئول مکاتبه farzanehLak@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۰

چکیده

بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* متداول‌ترین و گسترده‌ترین بیماری در طالبی و خربزه در ایران و چند کشور جهان محسوب می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی بیمارگر در ایران بود. در این تحقیق از ۵۰ جدایه قارچ که از مناطق عمده خربزه کاری ایران جمع آوری شده بودند، استفاده شد، پس از خالص‌سازی، شناسایی و آزمون بیماری‌زایی، بررسی تنوع ژنتیکی انجام شد. بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها به روش rep-PCR و با پرایمرهای ERIC و BOX انجام گردید. نتایج آزمون بیماری‌زایی نشان داد بین جدایه‌های مناطق مختلف، از نظر درصد وقوع بیماری، شدت بیماری و شاخص‌های رشدی (وزن تر ریشه و اندام‌های هوایی) در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین درصد وقوع بیماری در بوته‌های مایه زنی شده با جدایه‌های 605، Race1-2، 606 و 609 مشاهده شد و بیشترین شدت بیماری توسط جدایه‌های H2، 607، F-186-4 و F-186-6 ایجاد گردید. جدایه‌های F-186-1، F-66-4، F-186-4 و H9 بیشترین تأثیر را بر کاهش وزن تر ریشه و جدایه‌های F-186-6، F-66-4 و 501 بیشترین تأثیر را بر کاهش وزن تر اندام‌های هوایی داشتند. نرم‌افزار NTSYS-pc جدایه‌ها را در ضریب تشابه ۶۳٪ به ۴ گروه A، B، C و D تقسیم کرد. نتایج نشان داد تنوع ژنتیکی بین جدایه‌های Fom در ایران بالاست. بین گروه‌های بیماری‌زایی و جدایی جغرافیایی جدایه‌ها با گروه‌های rep ارتباطی وجود ندارد.

واژه‌های کلیدی: *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*، تنوع ژنتیکی، rep-PCR.

مقدمه

صیحیحی از وضعیت تنوع ژنتیکی عامل بیماری لازم می‌باشد. درارتباط با بررسی تنوع ژنتیکی Fom روش‌های مختلفی از جمله AFLP، RAPD و RLFP وجود دارد (ربانی و همکاران، ۱۳۸۹).

شناخت نژادهای Fom در معرفی رقم مناسب جهت مدیریت بیماری از ضروریات می‌باشد. تا سال ۱۹۶۵ اطلاعات چندانی در خصوص وجود نژادهای فیزیولوژیک Fom در دسترس نبود. بنی هاشمی و زیوو ضمن مقایسه‌ی جدایه‌های Fom از استان خراسان رضوی، شمال آمریکا و جنوب کانادا با استفاده از ارقام

طالبی و خربزه با نام علمی (*Cucumis melo*) از مهمترین محصولات سبزی و صیفی است که طبق آمار نامه‌ی کشاورزی، سطح زیر کشت آن ۸۰۸۱ هکتار می‌باشد که بیشتر در استان‌های خراسان رضوی، خوزستان و سمنان است (بی‌نام، ۱۳۹۰). بیماری پژمردگی طالبی و خربزه بر اثر (Fom)

Fusarium oxysporum f.sp. *melonis* از بیماری‌های مهم و متداول این گیاهان در ایران و سایر نقاط دنیا محسوب می‌شود. برای مدیریت بهتر این بیماری درک

نامیکی و همکاران (۱۹۹۸)، ۴۱ جدایه‌ی ژاپنی (Fom) را از نظر تنوع بیماری زایی و ژنتیکی بررسی نمودند که نتایج تحقیق آنها نشان داد گروه‌های مختلف ژنتیکی از نظر بیماری زایی متفاوت هستند. روش rep-PCR که در این تحقیق استفاده شده است یکی از روش‌های کارآمد برای پی بردن به تفاوت بین جدایه‌های قارچ‌ها می‌باشد و با توجه به تعداد باندهایی که در هر واکنش PCR مشخص می‌شود، می‌توان تنوع ژنتیکی بین جدایه‌ها را مشخص کرد. از مزیت‌های نشانگر rep-PCR تکرار پذیری و ساده بودن روش کار با آن می‌باشد (ربانی و همکاران، ۱۳۸۹). هدف از این تحقیق شناسایی تنوع ژنتیکی موجود در بین جدایه‌های *F. oxysporum* sp. *melonis* در ایران با استفاده از نشانگر rep-PCR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جدایه‌ها، موادگیاهی و محیط‌های کشت جدایه‌هایی که در این بررسی استفاده شده است، از بخش کلکسیون تحقیقات بیماری‌های گیاهی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه گردیده است (جدول ۱). این جدایه‌ها که از طالبی و خربزه از مناطق مختلف ایران جداسازی شده بودند، مجدداً از نظر ریخت‌شناسی و بیماری زایی مورد بررسی قرار گرفتند. از گیاهچه‌های طالبی رقم سمسوری برای اثبات بیماری زایی و از محیط‌های کشت سیب‌زمینی دکستروزآگار (PDA)، آب آگار (WA) و برگ میخک (CLA) جهت کشت و شناسایی جدایه‌ها استفاده گردید.

بررسی ریخت‌شناسی جدایه‌های *Fusarium oxysporum*

شناسایی جدایه‌ها از لحاظ مشخصات مورفولوژیکی از نظر رشد، رنگ کلونی، اسپورهای میکرو و ماکروکنیدی‌ها، فیالیید و کلامیدوسپور طبق کلید شناسایی نلسون و همکاران (۱۹۸۳) انجام شد. جهت تعیین میزان رشد روزانه، رنگ و شکل کلونی و فیالیدها از محیط کشت PDA و برای تعیین خصوصیات کلیدی مورفولوژیکی از جمله ماکرو و میکروکنیدی‌ها و

افتراقی، جدایه‌های استان خراسان را متعلق به نژاد ۲ و جدایه‌های آمریکای شمالی را نژاد ۴ معرفی نمودند (بنی هاشمی و Zeeuw، ۱۹۷۵)، که بعد از آن نژادهای صفر، ۱-۲ و ۲ در فوم شناسایی شده است (Risser et al. 1976).

با توجه به اینکه مهمترین روش مدیریت بیماری استفاده از ارقام متحمل و یا مقاوم به بیماری است، تلاش‌های زیادی برای دستیابی به منابع مقاومت در توده‌های بومی و خارجی *C.melo* به نژاد صفر و ۱-۲ انجام شد (بنی هاشمی، ۱۹۶۸، بنی هاشمی، ۱۹۸۲ و Zeeuw، 1975)، اما مقاومت کامل نسبت به نژاد ۱-۲ بدست نیامده است.

AFLP یک نشانگر بسیار قدرتمند برای بررسی توالی‌های پلی مورفیک DNA در قارچ‌ها می‌باشد. این نشانگر غالب بوده و معمولاً در هر جایگاه ژنی فقط دو آلل را نشان می‌دهد. نشانگر فوق نسبت به سایر تکنیک‌های مشابه ابتدایی مثل RAPD مزیت‌هایی دارد از جمله اینکه نتایج را تکرار پذیر می‌سازند. اشکال عمده AFLP نسبت به تکنیک‌های دیگر، پیچیده بودن آن است (ربانی نسب و همکاران، ۱۳۸۷). ربانی نسب و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی تنوع ژنتیکی ۲۵ جدایه Fom در استان خراسان رضوی به این نتایج رسیدند که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در بین جدایه‌های قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی خربزه در استان خراسان رضوی وجود دارد. از طرف دیگر به جز موارد محدود بین پراکنش جغرافیایی و گروه‌های ژنتیکی AFLP ارتباط مشخصی وجود نداشته و همچنین بین گروه‌های بیماری‌زایی و منطقه‌ی جداسازی قارچ از گیاه با گروه‌های AFLP ارتباط معینی موجود نبود.

روش RAPD هم یک روش مناسب برای تعیین تفاوت بین جدایه‌های Fom مورد استفاده قرار می‌گیرد (ربانی نسب و همکاران، ۱۳۸۷). شفق و همکاران (۱۳۸۷)، تنوع ژنتیکی *F. oxysporum* f.sp. *melonis* را با استفاده از نشانگر RAPD و ۱۵ جدایه از دو استان خراسان رضوی جنوبی و شمالی بررسی نمودند که نشان می‌دهد تنوع ژنتیکی بالایی بین جدایه‌ها در این مناطق وجود دارد.

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* مورد استفاده در این تحقیق.

ردیف	میزبان	مکان	کد جدایه
۱	طالبی	ورامین (جواد آباد)	۲۲۲
۲	طالبی	ساوه (زرنديه)	۴۰۰
۳	طالبی	زنجان (حسن آباد)	۵۰۰
۴	طالبی	شیراز	Race ۱-۲
۵	طالبی	ایوانکی	Saghetalebi
۶	خربزه	گرمسار (داورآباد)	۲۱۸
۷	خربزه	مشهد (سرخس)	۴۷۹
۸	خربزه	مشهد (مرکز تحقیقات)	۴۸۸
۹	خربزه	مشهد (مرکز تحقیقات)	۴۷۸
۱۰	خربزه	مشهد (تریت جام)	۵۰۴
۱۱	خربزه	مشهد (تریت جام)	۵۰۶
۱۲	خربزه	مشهد (تریت جام)	۵۲۲
۱۳	خربزه	مشهد (تریت جام)	Race-I-۱۷
۱۴	خربزه	ورامین (حسن آباد)	H-۲
۱۵	خربزه	ورامین (حسن آباد)	H-۳
۱۶	خربزه	ورامین (حسن آباد)	H-۴
۱۷	خربزه	ورامین (حسن آباد)	H-۷
۱۸	خربزه	ورامین (حسن آباد)	H-۸
۱۹	خربزه	ورامین (حسن آباد)	H-۹
۲۰	خربزه	مزرعه کوهپایگانی	F-۶۶-۴
۲۱	خربزه	مزرعه کوهپایگانی	F-۶۸-۱
۲۲	خربزه	مزرعه کوهپایگانی	F-۹۸-۶-۷
۲۳	خربزه	گرمسار (داورآباد)	F-۱۸۶-۱
۲۴	خربزه	گرمسار (داورآباد)	F-۱۸۶-۲
۲۵	خربزه	گرمسار (داورآباد)	F-۱۸۶-۳
۲۶	خربزه	گرمسار (داورآباد)	F-۱۸۶-۴
۲۷	خربزه	گرمسار (داورآباد)	F-۱۸۶-۶
۲۸	خربزه	گرمسار (داورآباد)	F-۱۹۰-۱
۲۹	خربزه	گرمسار (داورآباد)	F-۱۹۰-۲
۳۰	خربزه	زابل (زهک)	Z-۱
۳۱	طالبی	ورامین (جوادآباد)	Sooski

ادامه جدول ۱			
Abbarik	ورامین (جوآباد)	طالبی	۳۲
۵۲۱	مشهد (تریت جام)	طالبی	۳۳
۵۰۱	نیشابور (حسین آباد)	طالبی	۳۴
۲۱۹	گرمسار (داورآباد)	خربزه	۳۵
۲۰۱-۱۲	نکاساری (میان درود)	خربزه	۳۶
۸۱۲	ورامین (جوآباد)	طالبی	۳۷
۴۸۲	مشهد (مرکز تحقیقات)	خربزه	۳۸
۶۰۵	ساوه	طالبی	۳۹
۶۰۶	ساوه	طالبی	۴۰
۶۰۹	ساوه	طالبی	۴۱
۶۰۷	ساوه	طالبی	۴۲
۶۰۸	ساوه	طالبی	۴۳
۶۲۵	گرمسار (آرادان)	خربزه	۴۴
۶۱۶	ساوه (زرنديه)	خربزه	۴۵
F-۱۹۰-۹	گرمسار (داورآباد)	خربزه	۴۶
۶۰۲	ساوه (زرنديه)	طالبی	۴۷
۲۰۶	گرمسار (داورآباد)	خربزه	۴۸
F-۸۶-۳	کرج	طالبی	۴۹
۲۱۷	گرمسار (داورآباد)	خربزه	۵۰

تا ۱۰ روز نگهداری شدند تا با پرگنه قارچ به طور کامل آغشته شدند.

تهیه‌ی گیاهچه

بذور طالبی رقم حساس سمسوری با محلول هیپوکلریت سدیم تجاری با غلظت ۱/۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی سطحی شده و پس از شستشو با آب مقطر در ظروف پتری سترون که کف آنها کاغذ صافی سترون گذاشته شده بود، قرار داده تا جوانه زنند. سینی‌های کشت در گلخانه با دمای ثابت ۲۵ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند.

مایه زنی

بعد از رشد تا مرحله دوبرگی اصلی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های یک کیلوگرمی حاوی خاک و پیت ماس استریل به نسبت ۲:۱ و مایه قارچ (۱۰ گرم گندم آغشته

کلامیدوسپور از محیط کشت CLA استفاده شد. ابتدا از هرجدایه قارچ روی محیط‌های PDA و CLA کشت شد و بعد از ۸ روز خصوصیات ذکر شده مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین سرعت رشد قارچ هر دو روز یک بار از قطر پرگنه‌ها یادداشت برداری انجام شد.

اثبات بیماری‌زایی و ارزیابی شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها

تهیه‌ی مایه‌ی قارچ

بر طبق روش سینگلتون و همکاران (۱۹۹۲)، مایه قارچ در بستر گندم تهیه شد. هشت دیسک میسیلیومی از کشت ۱۰ روزه‌ی قارچ در داخل ارلن‌های حاوی گندم-های استریل شده انداخته شد و ارلن‌ها در دمای ۲۵ °C

داده شدند. بدین منظور از هر جدایه یکی از گیاهانی که پژمرده شده بودند، از قسمت بالای طوقه جدا گردید و در آزمایشگاه در زیر هود و کنار شعله، از قسمت‌های مرز بین بافت آلوده و سالم، چهار قطعه جدا و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت ۱/۵ درصد به مدت یک دقیقه و شستشو با آب مقطر روی کاغذ صافی خشک گردیده و در تشتک‌های پتری حاوی محیط PDA اسیدی (pH= 4.5) کشت و در انکوباتور در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند.

ارزیابی شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها

شدت بیماری‌زایی هر یک از جدایه‌ها با تعیین تیپ‌های آلودگی از ۱ تا ۵ (جدول ۲)، مطابق روش پیشنهادی پرچوپید و پیترا (Perchopied and Pitrat, 2004) و با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$\text{درصد شدت بیماری} = \frac{\sum(n_i \times v_i)}{N \times V} \times 100$$

که در این فرمول:

n_i تعداد نمونه‌های با درجه آلودگی مشابه.

v_i درجه بیماری مربوط به هر نمونه.

N تعداد کل نمونه مربوط به هر تکرار.

V حداکثر درجه آلودگیمی باشد.

به قارچ به ازای هر گیاهچه) منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. که در آن ۵۰ جدایه-ی قارچ عامل بیماری (به عنوان ۵۰ تیمار) و هر جدایه چهار گلدان (هر گلدان به عنوان یک تکرار) و در هر گلدان سه گیاهچه قرار داده شد. یک گلدان هم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که در آن به جای گندم آغشته به مایه قارچ، به همان میزان از گندم استریل شده استفاده شد (سینگلتون و همکاران، ۱۹۹۲).

پس از مایه‌زنی، گلدان‌ها بلافاصله آبیاری شدند. مشخصات هر جدایه همراه با تاریخ مایه زنی روی گلدان‌ها نوشته شد و در اتاق کشت با دمای ثابت ۲۵ °C نگهداری شدند. یک روز بعد از مایه زنی، گلدان‌ها مجدداً آبیاری شدند و بعد از آن هر چهار تا پنج روز یک بار آبیاری انجام شد. علائم بیماری معمولاً از روز چهارم ظاهر شده و یادداشت برداری‌ها زمانی انجام شد که بیشترین علائم بیماری شامل زردی و پژمردگی در بوته‌ها ظاهر شدند و ملاک یادداشت برداری‌ها با توجه به شماره‌های تیپ آلودگی که در جدول شدت بیماری آمده است، تنظیم شد.

جداسازی مجدد قارچ از گیاهچه‌های بیمار

بوته‌های مایه‌زنی شده با علائم پژمردگی و یا زردی، جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه برای جداسازی مجدد *F.oxysporum* روی محیط PDA کشت

جدول ۲- تیپ‌های آلودگی جدایه‌ها.

تیپ آلودگی	علائم بیماری
۱	بدون علائم بیماری
۲	زردی و پژمردگی کوتیلدون و برگ‌های اولیه گیاه
۳	زردی و پژمردگی در دو برگ اولیه گیاه
۴	زردی و پژمردگی در سه و یا تعداد بیشتر برگ‌ها
۵	مرگ گیاهچه

داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شده و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه و گروه‌بندی شدند.

تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با استفاده از آزمون rep-PCR
استخراج DNA طبق روش هانگ و همکاران (۲۰۰۱)
مبنی بر روش CTAB انجام شد. آزمون rep-PCR با استفاده از دو آغازگر BOX و ERIC صورت گرفت. آغازگرها توسط شرکت سیناژن ساخته شده بودند. برنامه تکثیر برای آغازگرهای ERIC و آغازگر BOX به شرح زیر است:

شد، که پس از اسپورزایی و تهیه ی اسلایدهای میکروسکوپی، میکروکنیدی‌های تک حجره ای و بیضی شکل خمیده روی منوفیالیدهای کوتاه در اطراف هیف به صورت سر دروغی (False head) و نیز ماکروکنیدی های داسی شکل، خمیده و هلالی دارای دو سر باریک و کمی خمیدگی با سه تا پنج دیواره و همچنین کلامیدوسپورها با سطح صاف یا ناصاف به صورت تکی مشاهده شدند. براساس خصوصیات یاد شده و کلید نلسون و همکاران، ۵۰ جدایه مورد بررسی به عنوان گونه *F. oxysporum* شناسایی شدند (نلسون و همکاران، ۱۹۸۳).

آزمون اثبات بیماری زایی جدایه های *F. oxysporum* روی گیاهچه های طالبی

در آزمون اثبات بیماری زایی مایه‌ی تلقیح ۵۰ جدایه ی خالص شده از قارچ *F. oxysporum*، روی رقم حساس طالبی سمسوری مایه‌زنی شد. علائم پژمردگی تدریجی اندام‌های هوایی و زرد شدن آن‌ها ۴-۵ روز پس از مایه زنی مشهود بود. ابتدا قسمتی از برگ های آلوده به زرد کم رنگ، تغییر رنگ داده سپس زردی برگ ها گسترده‌تر و پررنگ‌تر و سپس نکروزه شدند. میزان پژمردگی برای جدایه‌های مختلف متفاوت بود. در تیمار شاهد هیچ قارچی رشد نکرده و بوته‌ها کاملاً سالم بودند و رشد آنها بیشتر از انواع مایه‌زنی شده بود.

ارزیابی آلودگی ایجاد شده به وسیله‌ی جدایه‌های قارچی مختلف، برحسب میزان پژمردگی ایجاد شده توسط هر جدایه صورت گرفت. ریشه‌ها کمتر علائم پوسیدگی را نشان می‌دادند تنها نسبت به ریشه‌های سالم تنک تر شده و انشعابات کمتری داشتند (شکل ۱). بعد از نگهداری گلدان‌ها به مدت چهار هفته، ۵۰ جدایه مورد بررسی، بیماری زا بودند. از کشت مجدد بافت‌های آوندی بوته‌های بیمار روی محیط کشت PDA، عامل بیماری جدا سازی گردید.

واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵°C به مدت هفت دقیقه صورت گرفت. سپس ۳۴ سیکل به صورت زیر انجام شد:

واسرشت شدن	۹۴ °C	۱ دقیقه
چسبیدن آغازگر به DNA ژنومی	۴۹ °C	۱ دقیقه
تکثیر DNA	۶۵ °C	۶ دقیقه

پس از مخلوط کردن مواد واکنش، میکروتیوپ‌ها در دستگاه ترموسایکلر BIO – RAD مدل MJ Research PTC قرار گرفتند. روی ژل آگارز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید (1mg/l) در حضور بافر TAE الکتروفورز انجام شد (رادمارکر و دبریجین، ۱۹۹۷). برای ارزیابی اندازه‌ی قطعه‌ی محصول PCR مارکر استاندارد bp Ladder Plus ۱۰۰ شرکت Fermentas به کار رفت. پس از اتمام الکتروفورز، ژل موجود با استفاده از دستگاه UVdoc عکسبرداری شد. برای باندهای هم ردیف از نظر وزن مولکولی عدد یک و عدم وجود باند عدد صفر اختصاص داده شد و در محیط نرم افزاری Excel ثبت گردید. نتایج با استفاده از نرم‌افزار 2 NTSYS-pc، و براساس ضریب جاکارد Jaccard's coefficient گروه بندی شدند. برای تعیین رابطه‌ی جدایه‌ها، گروه‌بندی با unweighted pair-group method, using (UPGMA) (arithmetic averages) در برنامه SHAN از نرم افزار NTSYS انجام شد و دندروگرام ترسیم گردید (رادمارکر و دبریجین، ۱۹۹۷).

نتایج و بحث

شناسایی قارچ

پس از کشت جدایه ها روی محیط PDA اسیدی، پرگنه‌هایی با رشد پنبه‌ای و متراکم به رنگ‌های سفید، کرم، ارغوانی، صورتی تا بنفش تشکیل شد. رشد جدایه‌ها در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتیگراد سریع بود به طوریکه در مدت ۸-۶ روز به قطر ۹ سانتی‌متر رسید. به منظور اسپورزایی بیشتر، قارچ مذکور به محیط CLA منتقل



شکل ۱- علائم آلودگی روی ریشه‌ی گیاهچه‌ی طالبی (رقم سمسوری) مایه زنی شده با قارچ *F. oxysporum* در مقایسه با شاهد سالم (فلش سمت راست ریشه سالم را نشان می‌دهد).

اختلاف بین جدایه‌های مورد ارزیابی از نظر وزن تر اندام‌های هوایی معنی‌دار بود. مقایسه‌ی میانگین تیمارها به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که بیشترین کاهش وزن تر اندام‌های هوایی در بوته‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های F-186-6، F-66-4 و 501 به ترتیب با میانگین ۰/۲۰، ۰/۲۰ و ۰/۲۱ گرم و کمترین کاهش وزن اندام‌های هوایی در گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های Race1-17، 616 و 602 به ترتیب با میانگین ۱/۰۰، ۱/۰۰ و ۰/۹۷ حاصل شد (جدول ۴).

اختلاف بین جدایه‌های مورد ارزیابی از نظر وزن ریشه‌ی گیاهچه نیز معنی‌دار بود. مقایسه‌ی میانگین تیمارها به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های F-186-1، F-66-4، F-186-4 و H9 با میانگین ۰/۱۰ گرم بیشترین کاهش وزن ریشه و گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های 400، H8 و Race1-17 به ترتیب با میانگین ۰/۴۳، ۰/۴۲ و ۰/۳۹ کمترین کاهش وزن ریشه را داشتند (جدول ۳).

بررسی تنوع ژنتیکی

در واکنش rep-PCR از دو آغازگر BOX و ERIC استفاده شد که آغازگر BOX چند شکلی خوبی بین جدایه‌های مورد بررسی نشان داد. آغازگر ERIC در اکثر جدایه‌های مورد بررسی تکثیری انجام نداد. پس از

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی نشان داد که اختلاف بین جدایه‌ها در تمام صفات بررسی شده (شدت بیماری زایی، درصد وقوع بیماری، وزن ریشه و وزن اندام‌های هوایی) در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، این نشان دهنده‌ی وجود تنوع از نظر صفات مورد ارزیابی در بین جدایه‌ها می‌باشد. خلاصه‌ی تجزیه واریانس در جدول ۳ آمده است.

نتایج مقایسه میانگین

مقایسه میانگین شدت بیماری جدایه‌های قارچ نشان داد که جدایه‌های H2، 607، F-186-4 و F-186-6 با میانگین ۱۰ درصد بالاترین شدت بیماری را داشتند، در جدایه‌های Race1-17، 602 و 201-12 به ترتیب با میانگین ۵/۰۴، ۵/۵۱ و ۵/۸۵ کمترین شدت بیماری زایی را داشتند (جدول ۴).

اختلاف بین جدایه‌های مورد ارزیابی از نظر درصد وقوع بیماری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. مقایسه‌ی میانگین نشان داد که جدایه‌های Race1-605، 2، 606 و 609 با میانگین ۵ باعث ایجاد بیشترین درصد وقوع بیماری شدند، در حالی که کمترین درصد وقوع بیماری در نمونه‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های Race1-17، 201-12 و 602 به ترتیب با میانگین ۰/۷۲، ۱/۲۵ و ۱/۴۴ حاصل گردید (جدول ۴).

جدول ۳- تجزیه واریانس شدت بیماری، درصد وقوع بیماری و شاخص های رشد طالبی رقم سمسوری مایه زنی شده با جدایه های قارچ

Fusarium oxysporum f.sp. melonis

وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	وقوع بیماری	شدت بیماری	درجه آزادی	مجموع ضرایب تغییرات
۰/۲۰۱**	۰/۰۳۱**	۴.***	۶/۱۵۹**	۴۹	جدایه ها
۰/۰۱۰۴	۰/۰۰۸	۰/۸۶۳	۱/۲۰۵	۱۹۸	خطا
۱۹/۷۹	۴۵/۴۳	۲۰/۹۷	۱۲/۹۵		CV% ضریب تغییرات
۰/۸۶	۰/۵۵	۰/۶۱	۰/۶۲		CM% ضریب تبیین مدل

** معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱

گرمسار جدا شده بودند و از نظر گروه‌های بیماری‌زایی نیز در گروه‌های مختلف قرار گرفتند.

در بررسی انجام شده مشخص گردید که تنوع قابل ملاحظه‌ای بین جدایه‌های قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی و خربزه وجود دارد که البته این مسئله در پراکنش جغرافیایی و تنوع ژنتیکی آنها تأثیری ندارد. همچنین در شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها در گروه‌های ژنوتیپی مختلف اختلاف معنی داری دیده نشد. این بررسی نشان داد بین جدایه‌های گونه قارچی *F. oxysporum f.sp. melonis* با استفاده از روش rep-PCR تنوع ژنتیکی بالایی وجود دارد. بطور مشابه، شفق و همکاران (۱۳۸۷)، تنوع ژنتیکی *F. oxysporum f.sp. melonis* را با استفاده از نشانگر RAPD و ۱۵ جدایه از دو استان خراسان رضوی جنوبی و شمالی بررسی نمودند. آنالیز کلاستر با نرم افزار Popgene و با در نظر گرفتن ضریب تشابه ۶۰ درصد هفت گروه ژنتیکی شناسایی شد. در تحقیق فوق با وجود کم بودن تعداد جدایه‌ها تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای به دست آمد. همچنین بین مناطق جغرافیایی و گروه‌های ژنوتیپی ارتباطی وجود نداشت. ضمن اینکه بین شدت بیماری‌زایی و محل جداسازی قارچ با گروه‌های ژنوتیپی نیز ارتباطی مشاهده نشد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

ظهور ژل باندهای واضح و تکرار پذیر در وزن مولکولی حد فاصل بین ۵۰۰bp تا ۳۰۰۰bp در نوسان بودند (شکل ۲). این نتایج نشان داد تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای بین جدایه‌های قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی طالبی و خربزه در ایران وجود دارد. در سطح تشابه ۶۳٪ جدایه‌ها در چهار گروه A, B, C, D قرار گرفتند (جدول ۵). تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA وجود ۱۰۰ درصد تشابه را بین برخی از این جدایه‌ها نشان داد (شکل ۳). اگر چه فاصله جغرافیایی این جدایه‌ها می‌تواند نزدیکی ژنتیکی آنها را توجیه نماید اما وجود جدایه‌هایی که از نظر فاصله جغرافیایی دور تر بودند می‌تواند بیانگر این واقعیت باشد که ممکن است بین مناطق جغرافیایی و گروه‌های rep-PCR ارتباط خاصی وجود نداشته باشد. از طرف دیگر وجود گروه‌های بیماری‌زایی متفاوت در هر یک از گروه‌های rep-PCR و همچنین محل جداسازی قارچ برای جدایه مؤید این است که ارتباط محسوسی بین گروه‌های بیماری‌زایی، محل جداسازی جدایه از بوته با گروه‌های rep-PCR وجود ندارد. بین تنوع ژنتیکی آنها براساس rep-PCR با بیماری‌زایی جدایه‌ها، منطقه جغرافیایی و منبع بیمارگر رابطه‌ی مشخصی یافت نشد به عنوان مثال جدایه‌های ۵۰۶، ۶۰۷ و F-190-9 که در یک گروه ژنتیکی قرار گرفتند به ترتیب از مشهد، ساوه و

جدول ۴- مقایسه میانگین شدت بیماری، درصد وقوع بیماری و شاخصه‌های رشد طالبی رقم سمسوری آلوده شده با جدایه‌های

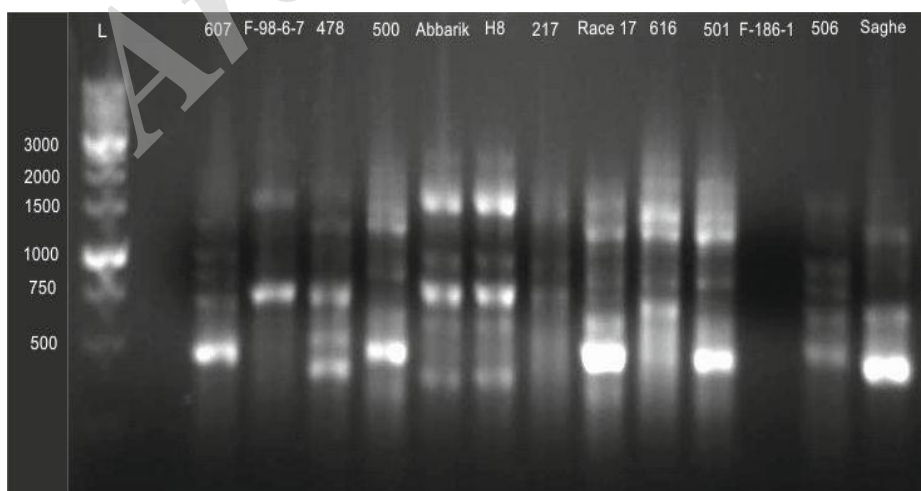
Fusarium oxysporum f.sp. melonis

جدایه	درصد شدت بیماری (%)	درصد وقوع بیماری (%)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)
Saghetalebi-kharboze	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۲۱n	۰/۱i
F-۱۸۶-۲	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۵۲ g-j	۰/۲۰e-i
۵۰۶	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۳۲ k-n	۰/۱i
۶۰۶	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۲۰ n	۰/۱i
۶۰۵	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۲۰ n	۰/۱i
F-۱۹۰-۱	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۴۵ h-l	۰/۴۳a
F-۹۸-۶-۷	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۲۲ m-n	۰/۱i
۶۰۹	۱۰/۰۰a	۵/۰۰a	۰/۲۱ n	۰/۱i
۲۱۸	۹/۸۲ab	۵/۰۰a	۰/۴۵ h-l	۰/۱i
۶۰۷	۹/۵۵abc	۵/۰۰a	۰/۲۱ n	۰/۱۳g-h-i
۵۰۱	۹/۵۴abc	۵/۰۰a	۰/۴۳ h-l	۰/۲۱e-i
F-۸۶-۳	۹/۲۰ad	۵/۰۰a	۰/۲۹ l-n	۰/۱۳g-h-i
۲۰۶	۹/۱۸ad	۵/۰۰a	۰/۵۳ g-j	۰/۱۵g-h-i
۶۱۶	۹/۱۰ad	۵/۰۰a	۰/۳۳ k-n	۰/۱۳g-h-i
H ۹	۹/۱۰ad	۵/۰۰a	۰/۵۲ g-j	۰/۲۱e-i
Souski	۹/۰۸ad	۵/۰۰a	۰/۵۳ g-j	۰/۲۰e-i
F-۱۸۶-۶	۹/۰۰ a-e	۵/۰۰a	۰/۳۸ j-m	۰/۱۵ghi
F-۶۶-۴	۸/۹۶ a-f	۵/۰۰a	۰/۳۲ k-n	۰/۱۴ ghi
F-۱۸۶-۶	۹/۰۰ a-e	۵/۰۰a	۰/۳۸ j-m	۰/۱۵ghi
F-۶۶-۴	۸/۹۶ a-f	۵/۰۰a	۰/۳۲ k-n	۰/۱۴ ghi
F-۱۸۶-۶	۹/۰۰ a-e	۵/۰۰a	۰/۳۸ j-m	۰/۱۵ghi
F-۶۶-۴	۸/۹۶ a-f	۵/۰۰a	۰/۳۲ k-n	۰/۱۴ ghi
F-۱۸۶-۶	۹/۰۰ a-e	۵/۰۰a	۰/۳۸ j-m	۰/۱۵ghi
F-۶۶-۴	۸/۹۶ a-f	۵/۰۰a	۰/۳۲ k-n	۰/۱۴ ghi
F-۱۸۶-۶	۹/۰۰ a-e	۵/۰۰a	۰/۳۸ j-m	۰/۱۵ghi
F-۶۶-۴	۸/۹۶ a-f	۵/۰۰a	۰/۳۲ k-n	۰/۱۴ ghi
Race1-۱۷	۸/۶۹ a-g	۴/۷۷ab	۰/۴۳ i-۱	۰/۱۷ ghi
H ۷	۸/۶۳ a-g	۵/۰۰a	۰/۶۱ d-i	۰/۲۲e-i
H ۸	۸/۴۱ a-g	۴/۲۴a,b,c	۰/۷۴ b-e	۰/۲۶c-h
۴۰۰	۸/۳۴ a-h	۵/۰۰a	۰/۳۸ j-m	۰/۲۲e-i
۴۸۲	۸/۳۱ a-h	۵/۰۰a	۰/۸۸a-b	۰/۱۴g,h,i
F-۱۹۰-۲	۸/۱۳ a-h	۵/۰۰a	۰/۳۸ j-m	۰/۲۰e-i
Abbarik	۸/۰۲ b-h	۵/۰۰a	۰/۵۴f-j	۰/۱۶g,h,i
Z ۱	۷/۶۹ c-i	۳/۵۲a,b,c	۰/۴۰ j,k,l	۰/۱۶g,h,i

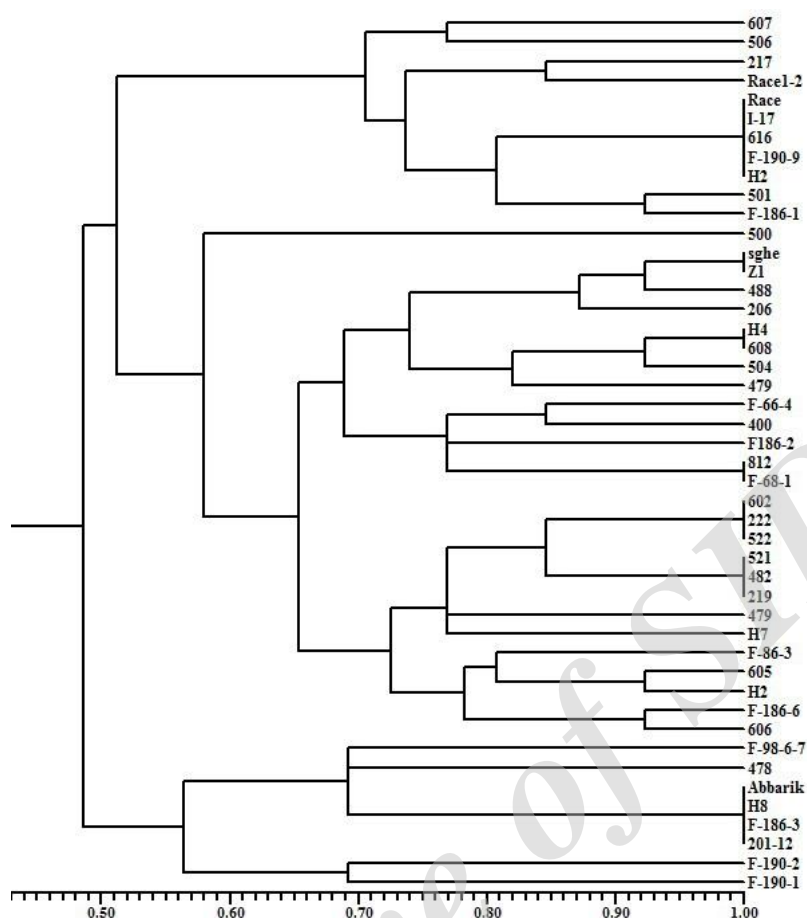
ادامه جدول ۳

۰/۴۲a,b	۰/۵۹e-i	۴/۳۱a,b,c	۷/۶۹ c-i	۲۰۱-۱۲
۰/۲۲e-i	۰/۵۲g-j	۵/۰۰a	۷/۵۷ d-j	H ۳
۰/۲۴d-i	۰/۵۸e-i	۳/۴۸a,b,c	۷/۴۵ d-j	H ۴
۰/۲۵c-i	۰/۶۵c-g	۳/۷۱a,b,c	۷/۰۹ e-k	۵۰۴
۰/۲۰e-i	۰/۷۸b,c	۲/۷۶ c	۷/۰۸ e-k	۴۷۸
۰/۲۴e-i	۰/۷۰d-f	۴/۰۱a,b,c	۷/۰۷ f-k	۵۲۲
۰/۲۶c-h	۰/۷۶b,c,d	۳/۲۹b,c	۶/۹۸ g-k	F-۶۸-۱
۰/۳۴a-c	۰/۹۶a	۳/۲۲b,c	۶/۸۴ h-l	۶۰۲
۰/۳۹a-d	۱a	۳/۷۸a,b,c	۶i-۱	۲۲۲
۰/۳۳a-f	۰/۸۰b	۱/۲۵ d	۵/۸۵ k-۱	۶۰۸
۰/۲۸b-g	۰/۹۷a	۱/۴۴d	۵/۵۱i	F-۱۸۶-۱
۰/۳۹a,b,c	۱a	۰/۷۲d	۵/۰۴i	۲۱۹

* میانگین‌ها در هر ستون با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.



شکل ۲- الگوی قطعات DNA تکثیر شده روی ژل آگارز ۱٪ برای جدایه های *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* در واکنش rep-PCR با کمک آغازگر BOX.



شکل ۳- دندروگرام بدست آمده با الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه ۶۳٪ در نرم افزار NTSYS-pc.v 2.02 بین جدایه‌های قارچ *Fusarium oxysporum f.sp. melonis*

جدول ۵- گروه‌های ژنوتیپی ایجاد شده در شجره‌ی فیلوژنی حاصل از Rep-PCR

مجموع تعداد جدایه‌ها	کد جدایه	گروه ژنتیکی
۱۰	۲۱۷, ۵۰۶, ۶۰۷, Race ۱-۲, Race I-۱۷, ۶۱۶, F-۱۹۰-۹, H۲, ۵۰۱, F-۱۸۶-۱	A
۱۴	۵۰۰, saghe, z _۱ , ۴۸۸, ۲۰۶, H۴, ۶۰۸, ۵۰۴, ۴۷۹, F-۶۶-۴, ۴۰۰, F-۱۸۶-۲, ۸۱۲, F-۶۸-۱	B
۱۳	۶۰۲, ۲۲۲, ۵۲۲, ۵۲۱, ۴۸۲, ۲۱۹, ۴۷۹, H۷, F-۸۶-۳, ۶۰۵, H۲, F-۱۸۶-۶, ۶۰۶	C
۸	F-۹۸-۶-۷, ۴۷۸, Abbarik, H۸	D

خراسان رضوی انجام شده است که نتایج به دست آمده در سطح ضریب شباهت ۶۳ درصد جدایه‌های

بر اساس مطالعه‌ی مشابه (ربانی و همکاران، ۱۳۸۹) بررسی تنوع ژنتیکی ۳۵ جدایه‌ی Fom در استان

۰۱۳۰، ۰۱۳۱ و ۰۱۳۴ قرار می‌گیرند. مقایسه‌ی این نتایج با مطالعه تنوع ژنتیکی حاصل از این تحقیق هیچ نوع ارتباطی از نظر ژنتیکی بین جدایه‌هایی که در یک گروه سازگاری رویشی قرار گرفتند، نشان نداد. با توجه به این که بسیاری از جدایه‌های این تحقیق با تحقیق انجام شده در رابطه با سازگاری رویشی یکی بودند این مقایسه انجام شد. نتایج مقایسه این دو بررسی شبیه به تحقیقی است که در ارتباط با رابطه‌ی فیلوژنتیکی Fom در ایران انجام شده است (میرطالبی و بنی‌هاشمی، ۲۰۱۳) و در آن نشان داده شده است، که ۳۴ جدایه از ۴۱ جدایه جمع‌آوری شده از شش استان ایران، متعلق به گروه سازگاری رویشی ۰۱۳۴ هستند و در مقایسه‌ی ای که بین جدایه‌های ایران، امریکا و فرانسه انجام شده است، همگی آنها متعلق به گروه سازگاری رویشی ۰۱۳۴ هستند اما در آنالیز Rep-PCR در گروه‌های مختلفی قرار می‌گیرند.

از نظر بیماری‌زایی ثابت شده که همه جدایه‌های قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* که در این تحقیق استفاده شده است، بیماری‌زا بودند. بطور مشابه در تحقیقی که تیموری و همکاران (۱۳۹۲) در ارتباط با اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های گونه‌های فوزاریوم روی دو رقم طالبی سمسوری و خاتون در استان خراسان رضوی انجام دادند، مشخص گردید چهار گونه *F. acuminatum* و *F. equiseti*، *F. solani* و *F. oxysporum* روی طالبی ایجاد بیماری پژمردگی می‌کنند اما گونه‌ی غالب بیماری‌زا در این استان گونه‌های *F. oxysporum* و *F. solani* بودند که از تمامی مراحل رشدی گیاه جداسازی شدند. در مناطق مختلف دنیا گونه‌های *F. oxysporum*، *F. solani* و *F. acuminatum* به عنوان عامل بیماری روی طالبی و خربزه گزارش شدند (زیتزر، ۱۹۹۸).

در این تحقیق جدایه‌های (Fom) از نظر فاکتورهایی نظیر شدت بیماری‌زایی، درصد وقوع بیماری، وزن ریشه و اندام‌های هوایی بررسی و مقایسه شدند. نتایج نشان داد که جدایه‌هایی که شدت بیماری‌زایی بیشتری داشتند، تأثیر بیشتری هم روی وزن ریشه و اندام‌های هوایی گیاه می‌گذارند، به عبارت دیگر بین شدت بیماری

بررسی شده در شش گروه اصلی A، B، C، D، E و F و دو گروه تک جدایه‌ای جای گرفتند. این نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در بین جدایه‌های قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی خربزه در استان خراسان رضوی وجود دارد. از طرف دیگر با توجه به آنالیز کلاستر و دندروگرام ترسیم شده چنین نتیجه‌گیری شد که به جز موارد محدود بین پراکنش جغرافیایی و گروه‌های ژنتیکی AFLP ارتباط مشخصی وجود نداشته و همچنین بین گروه‌های بیماری‌زایی و منطقه جداسازی قارچ از گیاه با گروه‌های AFLP ارتباط معینی موجود نبود. Veloso و همکاران در سال ۲۰۰۰ تنوع ژنتیکی بین نژادهای مختلف Fom پرتغال و فرانسه را با استفاده از نشانگر RAPD بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد نژاد ۲ پرتغال با نژاد ۱ فرانسه شبیه بهم بودند در حالیکه نژاد ۲ فرانسه با بقیه نژادها متفاوت بود. یکی از روش‌های تعیین تنوع بین جدایه‌های فوزاریوم بررسی گروه‌های سازگاری رویشی می‌باشد. بررسی‌های پیشین ارتباط بین گروه‌های سازگاری رویشی Fom و تنوع ژنتیکی را نشان نداده‌اند. در ارتباط با سازگاری رویشی قارچ *F. oxysporum* مطالعات فراوانی انجام شده است در زیر به آنها اشاره می‌شود. گروه‌های سازگاری رویشی [Vegetative compatibility group (VCGs)] ۵۲ جدایه (Fom) از *Cucumis meloni* و ریشه علف‌های هرز متعلق به نژادهای ۱، ۲، ۱ با بارگیری موتانت‌های نیت [nitrate non-utilizing (nit) mutants] مورد مطالعه قرار گرفته است در این تحقیق کلیه موتانت‌های جدایه‌های *F. oxysporum* f.sp. *melonis* با گروه سازگاری رویشی ۰۱۳۴ هتروکاریون مشخص و قوی تشکیل دادند و بدین ترتیب گروه سازگاری رویشی آنها ۰۱۳۴ تعیین گردید. در حالی که بین نژاد، منشاء جغرافیایی و نوع میزبانی که Fom از آن جدا شده بود با گروه‌های سازگاری رویشی ارتباطی مشاهده نشد (Sarpeleh and Banihashemi, 2000). در تحقیقی دیگر در ارتباط با گروه‌های سازگاری رویشی که توسط کربلایی زاده (۱۳۹۰) انجام شده است، مشخص گردیده است که جدایه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران در سه گروه سازگاری رویشی

های ژنتیکی متفاوتی قرار گرفتند. همچنین بین جدایه‌هایی که در یک گروه ژنتیکی قرار می‌گرفتند از نظر بیماری‌زایی تفاوت وجود داشت، مثل جدایه‌های 521، 522 و 222 که متعلق به گروه ژنتیکی مشابه می‌باشند اما از نظر بیماری‌زایی متفاوت بودند. این تحقیق با این فرض انجام شد که بررسی شود که، آیا بین گروه‌های ژنتیکی جدایه‌ها و قدرت بیماری‌زایی آنها ارتباطی وجود دارد یا خیر، که در نتیجه هیچ ارتباطی یافت نگردید.

زایی جدایه‌ها، کاهش وزن ریشه و کاهش وزن تاج همبستگی وجود دارد و جدایه‌هایی که دارای شدت بیماری‌زایی و درصد وقوع بیماری بیشتری بودند بیشترین تأثیر را روی کاهش وزن اندام‌های هوایی و ریشه داشتند. بین گروه‌های ژنتیکی جدایه‌ها و محل جداسازی آنها ارتباطی وجود نداشت. به عنوان مثال جدایه‌های 605، 607 و 608 که از ساوه جداسازی شده بودند، در گروه

منابع

- بی نام ۱۳۹۰. آمارنامه کشاورزی، جلد اول. وزارت جهاد کشاورزی، تهران.
- تیموری س.، رهنما ک.، حاجیان شهری م.، افضلی ح. ۱۳۹۲. پراکنش و بیماری‌زایی گونه‌های قارچ فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه طالبی و خربزه در استان خراسان رضوی، فصلنامه‌ی تحقیقات بیماری‌های گیاهی، شماره دوم، ص ۳۳-۳۴
- ربانی نسب ح.، اخوت م.، ترابی م.، حجارود ق.، شریفی تهرانی ع.، مظفری ج. و عباسی م. ۱۳۸۷. مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Puccinia striiformis f.sp. tritici* در ایران با استفاده از نشانگر AFLP. مجله‌ی بیماری‌های گیاهی. شماره ۱. جلد ۴.
- ربانی نسب ح.، سروری س. و بخشی خانیکی غ. ۱۳۸۹. تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچ *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* در استان خراسان رضوی با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP. مجله زیست‌شناسی ایران، دوره ۲۶، شماره ۱، صفحه ۲۷-۱۸.
- کربلایی زاده ز. ۱۳۹۰. تعیین گروه‌های سازگاری رویشی نژادهای *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* و مدیریت بیماری در ایران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زابل. ۱۴۲ صفحه
- Banihashemi Z, 1968. The Biology and Ecology of *Fusarium oxysporum f.sp. melonis*, in Soil and the Root Zone of Host and Non-Host Plants. PhD. Thesis, Michigan State University, USA. 114pp.
- Huang JS. 2001. Fortification of plant cell walls are resistance mechanism, In: Pathogenesis and resistance. Biochemistry and physiology of plant-microbe interactions. 486-516.
- Mirtalebi M and Banihashemi Z, 2013. Phylogenetic relationships of *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* in Iran. European Journal of Plant Pathology. No.136:749-762.
- Namiki F, Shiomi N, Nishi K, Kayamura T, and Tsunge T, 1998. The Japanese Strains of *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* Tsuge phyt, No.8:804-810.
- Nelson PE, Toussoun TA and Marasas WFO, 1983. *Fusarium* species : an Illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park. 193 p.
- Rademaker JLW and Debruijn FJ, 1997. Characterization and classification of microbes by rep-PCR genomic fingerprinting and computer assisted pattern analysis. DNA Markers: Protocols, Applications and Overview, No.50: 151-171.
- Risser G, Banihashemi Z and Davis DW, 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. Phytopathology 66:1105-1106.

- Sarpeleh A and Banihashemi Z, 2000. Vegetative compatibility groups within races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* in Iran and *Fusarium oxysporum* isolates from weeds in Maharloo region of Fars Province. Iranian Journal of Plant Pathology 36: 9-13.
- Shafagh N FalahatiRastegar M and Jafarpour B, 2008. Physiological Race and Genetic Diversity Determination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* by Differential Hosts and Molecular Marker RAPD in Northern and Razavi Khorasan. Research Journal of Biological Sciences, No.7:790-793.
- Singleton LL, Mihail JD and Rush CM,1992. Methods for Research on soil born Phytopathogenic Fungi. APS Press, st. Paul, Minnesota, USA. No: 41272: 265.
- Zitter TA,1998.*Fusarium* Diseases of Cucurbits. In: Vegetable Crops Fact Sheets. Cornell University. New York. Page 733.

Archive of SID

Genetic Diversity of among *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Isolates, The Causal Agent of Cantaloupe And Muskmelon Wilt in Iran

F Lak^{1*}, A Sarpeleh² and D Shahriari³

¹Former MSc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University branch Varamin-Pishva.

²Assistant Professor, Department of Plant Diseases, Plant Protection Research Institute, Tehran, Iran.

³Assistant Professor, Department of Plant Protection, Agricultural Research Center, Varamin, Tehran, Iran.

*Corresponding author: farzanehLak@gmail.com

Received: 30 December 2015

Accepted: 31 December 2017

Abstract

Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* is one of the most important disease of melon in Iran and some countries around the world. The purpose of this study was to investigate the genetic diversity of this pathogen in Iran. In this study, 50 isolates of *F. oxysporum* were collected from melon plants (cantaloupe and muskmelon) with wilt and yellowing symptoms across Iran. The isolates were identified using morphological criteria and their pathogenicity was confirmed. Genetic diversity of the isolates was then determined by rep-PCR technique using ERIC and BOX primers and NTSYS software. The results of pathogenicity tests showed that there were significant differences at the 1% level probability among the isolates in disease incidence, disease severity and plant growth parameters (fresh weight of roots and shoots). The highest disease incidence was observed in plants inoculated with isolates Race1-2, 605, 606 and 609 and the highest disease severity was induced by isolates 607, H2, F-186-4 and F-186-6. Isolates F-186-1, F-66-4, F-186-4 and H9 had the highest and isolates F-186-6, F-66-4 and 501 had lowest effects on decrease of fresh weight of roots and shoots, respectively. Genetic diversity test divided the isolates into 4 groups A, B, C and D in 63% similarity level. This study showed that the genetic diversity among the isolates of *F. oxysporum* f. sp. *melonis* is high in Iran. There was no correlation among Rep groups, pathogenicity and geographic distribution of the isolates.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, Genetic diversity, Pathogenicity, Rep-PCR.