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 *Fuarium oxysporum* f.sp. *melonis* متداول‌ترین و گسترده‌ترین بیماری در طالبی و خربزه در ایران و چند کشور جهان محسوب می شود. هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی بیمارگر در ایران بود. در این تحقیق از ۵۰ جدایه قارچ که از مناطق عمده‌ی 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 بیماری‌زائی 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 بوته های مایه زنی شده با جدایه های 605، Race1-2، 606 و 609 مشاهده شد و بیشترین شدت بیماری توسط جدایه های 607، H2، 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 وزن‌تر ریشه و جدایه‌های F-186-6، F-66-4 و 501 بیشترین تأثیر را بر کاهش وزن تر اندام های 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.

واژه های کلیدی: *Fuarium oxysporum* f.sp. *melonis*، تنوع ژنتیکی، rep- PCR.

مقدمه

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 استان های خراسان رضوی، خوزستان و سمنان است (بی نام، ۱۳۹۰). بیماری پژمردگی طالبی و خربزه بر اثر (Fom) *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* از بیماری های مهم و متداول این گیاهان در ایران و سایر نقاط دنیا محسوب می شود. برای مدیریت بهتر این بیماری درک صحیحی از وضعیت تنوع ژنتیکی عامل بیماری لازم می باشد. درارتباط با بررسی تنوع ژنتیکی Fom روش های 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 می باشد. تا سال ۱۹۶۵ اطلاعات چندانی در خصوص وجود نژادهای فیزیولوژیک Fom در دسترس نبود. بنی هاشمی و زیوو ضمن مقایسه‌ی جدایه های Fom از استان خراسان رضوی، شمال آمریکا و جنوب کانادا با استفاده از ارقام

افتراقی، جدایه های استان خراسان را متعلق به نـژاد ۲ و جدایه‌های آمریکای شمالی را نژاد ۴ معرفی نمودند (بنـی هاشمی و Zeeuw. ۱۹۷۵)، که بعد از آن نژادهـای صـفر، ۱، ۲-۱ و ۲ در فوم شناسایی شده اسـت (Risser et al. 1976).

با توجه به اینکـه مهمتـرین روش مـدیریت بیمـاری استفاده از ارقام متحمـل و یـا مقـاوم بـه بیمـاری اسـت، تلاش‌های زیادی بـرای دسـتیابی بـه منـابع مقاومـت در توده‌های بومی و خـارجی *C.melo* بـه نـژاد صـفر و۲-۱ انجام شـد (بنـی هاشـمی. ۱۹۶۸، بنـی هاشـمی. ۱۹۸۲ و Zeeuw. 1975)، اما مقاومـت کامـل نسـبت بـه نـژاد ۲-۱ بدست نیامده است.

AFLP یک نشانگر بسیار قدرتمند بـرای بررسـی توالی های پلی مورفیکDNA در قارچها مـی باشـد. ایـن نشانگر غالب بوده و معمولا در هر جایگاه ژنـی فقـط دو آلل را نشان می‌دهد. نشانگر فوق نسبت به سـایر تکنیـک های مشابه ابتدایی مثـل RAPD مزیتهـایی دارد از جملـه اینکه نتایج را تکرار پذیر می سازند. اشکال عمده AFLP نسبت به تکنیک های دیگر، پیچیده بودن آن است (ربـانی نسب و همکاران، ۱۳۸۷). ربانی نسب و همکـاران(۱۳۸۹) در بررسـی تنـوع ژنتیکـی ۳۵ جدایـه Fom در اسـتان خراسان رضوی به این نتایج رسـیدند کـه تنـوع ژنتیکـی قابل ملاحظه‌ای در بین جدایه‌های قـارچ عامـل پژمردگـی فوزاریومی خربـزه در اسـتان خراسـان رضـوی وجـود دارد. از طرف دیگر به جـز مـوارد محـدود بـین پـراکنش جغرافیایی وگروه های ژنتیکی AFLP ارتبـاط مشخصـی وجود نداشته و همچنـین بـین گـروه هـای بیمـاریزایی و منطقـه ی جداسـازی قـارچ از گیـاه بـا گـروه هـای AFLP ارتباط معینی موجود نبود.

روش RAPD هـم یـک روش مناسـب بـرای تعیـین تفاوت بین جدایه های Fom مورد استفاده قرار می گیـرد (ربـانی نسـب و همکـاران، ۱۳۸۷). شـفق و همکـاران (۱۳۸۷)، تنـوع ژنتیکـی *F. oxysporum* f.sp. *melonis* را با اسـتفاده از نشـانگرRAPD و ۱۵ جدایـه از دو اسـتان خراسان رضوی جنـوبی و شـمالی بررسـی نمودنـد کـه نشان می دهد تنوع ژنتیکی بالایی بین جدایـه هـا در ایـن مناطق وجود دارد.

نـامیکی و همکـاران (۱۹۹۸)، ۴۱ جدایـه‌ی ژاپنـی (Fom) را از نظر تنوع بیمـاری زایـی و ژنتیکـی بررسـی نمودند که نتایج تحقیق آنها نشان داد گروه های مختلـف ژنتیکی از نظر بیماری زایی متفـاوت هسـتند. روش rep-PCR که در این تحقیق استفاده شده اسـت یکـی از روش های کارآمد برای پی بـردن بـه تفـاوت بـین جدایـه هـای قارچ ها می باشد و با توجه به تعداد باندهایی که در هـر واکنش PCR مشخص می‌شود، می‌توان تنوع ژنتیکی بین جدایه را مشخص کـرد. از مزیـت هـای نشـانگرrep-PCR تکرار پذیری و سـاده بـودن روش کـار بـا آن مـی‌باشـد (ربانی و همکاران، ۱۳۸۹).هدف از این تحقیـق شناسـایی تنـوع ژنتیکـی موجـود در بـین جدایـه‌هـای *F. oxysporum*f.sp. *melonis* در ایران با استفاده از نشانگر rep-PCR می باشد.

مواد و روش‌ها

جدایه‌ها، موادگیاهی و محیط‌های کشت جدایه‌هایی که در این بررسی استفاده شـده اسـت، از بخـش کلکسـیون تحقیقـات بیمـاری‌هـای گیـاهی موسسـهٔ تحقیقـات گیاهپزشکی کشـور تهیـه گردیـده اسـت (جـدول ۱). ایـن جدایه‌ها که از طـالبی و خربـزه از منـاطق مختلـف ایـران جداسازی شده بودند، مجددا از نظـر ریخـت شناسـی و بیماری زایی مورد بررسی قرار گرفتند. از گیاهچـه هـای طـالبی رقـم سمسـوری بـرای اثبـات بیمـاری زایـی و از محیط های کشت سیب‌زمینی دکسـتروزآگار (PDA)، آب آگار(WA) و برگ میخک (CLA) جهت کشت و شناسایی جدایه‌ها استفاده گردید.

بررسـی ریخـت‌شناسـی جدایـه‌هـای *Fusarium oxysporum*

شناسایی جدایه‌ها از لحاظ مشخصات مورفولـوژیکی از نظـر رشـد، رنـگ کلونی،اسـپور هـای میکـرو و ماکروکنیـدی هـا، فیالیـد و کلامیدوسـپورطبق کلیـد شناسـایی نلسـون و همکـاران(۱۹۸۳) انجـام شـد. جهـت تعیین میزان رشد روزانه، رنگ و شکل کلونی و فیالیـدها از محیط کشت PDA و برای تعیین خصوصـیات کلیـدی مورفولـوژیکی از جملـه مـاکرو و میکروکنیـدی هـا و

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 (زرندیه)	۴۰۰
۳	طالبی	زنجان (حسن آباد)	۵۰۰
۴	طالبی	شیراز	Race۱-۲
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 (تربت جام)	۵۰۴
۱۱	خربزه	مشهد (تربت جام)	۵۰۶
۱۲	خربزه	مشهد (تربت جام)	۵۲۲
۱۳	خربزه	مشهد (تربت 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

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

کلامیدوسپور از محیط کشت CLA استفاده شد. ابتدا ازهرجدایهٔ قارچ روی محیط های 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 باراز قطر پرگنه ها 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 ارلن ها در دمای ۲۵ $^{\circ}c$ 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 ازشستشو 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 گلدان های یک کیلوگرمی حاوی خاک و پیت ماس استریل به نسبت ۲:۱ و مایهٔ قارچ (۱۰ گرم گندم آغشته

به قارچ به ازای هر گیاهچه) منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. که در آن ۵۰ جدایه‌ی 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 مایهٔ 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، گلدان ها 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 بوته ها ظاهر شدند و ملاک یادداشت برداری ها با توجه به شماره های 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 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 درتشتک های پتری حاوی محیط PDA اسیدی (pH= 4.5) کشت و در انکوباتور در دمای ۲۵ °c نگهداری شدند.

ارزیابی شدت بیماری‌زایی جدایه ها

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:

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

که در این فرمول:

n_i تعداد نمونه‌های با درجه آلودگی مشابه.

v_i درجه بیماری مربوط به هر نمونه.

Nتعداد کل نمونه مربوط به هر تکرار.

Vحداکثر درجه آلودگیمی باشد.

جدول ۲- تیپ‌های آلودگی جدایه‌ها.

تیپ آلودگی	علائم بیماری
۱	بدون علائم بیماری
۲	زردی و پژمردگی کوتیلدون و برگ های اولیهٔ گیاه
۳	زردی و پژمردگی در دو برگ اولیهٔ گیاه
۴	زردی و پژمردگی در سه و یا تعداد بیشتر برگ ها
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 جدایه ها 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 آغازگرهایERIC و آغازگر BOX به شرح زیراست :

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، میکروتیوپ ها در دستگاه ترموسایکلرBIO – RAD مدل MJ Research PTC قرار گرفتند. روی ژل آگارز۱درصد حاوی اتیدیوم بروماید (1mg/l) در حضور بافر TAEالکتروفورز انجام شد (رادمارکر و دبریجین، ۱۹۹۷). برای ارزیابی اندازه‌ی قطعه‌ی محصول PCR مارکر استاندارد bp Ladder ۱۰۰Plus 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 NTSYS-pc 2 ، و براساس ضریب جاکارد Jaccard's coefficient گروه-بندی شدند. برای تعیین رابطه‌ی جدایه‌ها، گروه‌بندی با UPGMA (unweighted pair-group method, using arithmetica verages) در برنامه SHAN از نرم افزار NTSYSانجام 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 جدایه-ها 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 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 بیماری‌زایی 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 ۵-۴ 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.ریشه ها کمتر علائم پوسیدگی را نشان می‌دادند تنها نسبت به ریشه‌های سالم تنک تر شده و انشعابات کمتری داشتند(شکل۱). 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.

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 می دهد).

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

نتایج مقایسه میانگین

مقایسه میانگین شدت بیماری جدایه های قارچ نشان داد که جدایه‌های 607، H2، F-186-4 و F-186-6 با میانگین ۱۰ درصد بالاترین شدت بیماری را داشتند ، در جدایه های 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 جدایه های مورد ارزیابی از نظر درصد وقوع بیماری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. مقایسه‌ی میانگین نشان داد که جدایه های 605، Race1-2، 606 و609 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).

اختلاف بین جدایه های مورد ارزیابی از نظر وزن تر اندام های هوایی معنی دار بود. مقایسه ی 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 و501 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 میانگین۱/۰۰، ۱/۰۰و 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 وگیاهچه‌های 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 آغازگرBOX و ERIC استفاده شد که آغازگر BOX چند شکلی خوبی بین جدایه‌های مورد بررسی نشان داد. آغازگر ERIC در اکثر جدایه های مورد بررسی تکثیری انجام نداد. پس از

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***

مجموع ضرایب تغییرات	درجه آزادی	شدت بیماری	وقوع بیماری	وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه
جدایه ها	۴۹	**۶/۱۵۹	**4.	۰/۲۰۱**	۰/۰۳۱**
خطا	۱۹۸	۱/۲۰۵	۰/۸۶۳	۰/۰۱۰۴	۰/۰۰۸
CV%ضریبتغییرات		۱۲/۹۵	۲۰/۹۷	۱۹/۷۹	۴۵/۴۳
٪**CM**ضریب تبیین مدل		۰/۶۲	۰/۶۱	۰/۸۶	۰/۵۵

** معنی دار در سطح احتمال۰/۰۱

ظهور ژل باندهای واضح و تکرار پذیر در وزن مولکولی حد فاصل بین ۵۰۰bp تا ۳۰۰۰bp در نوسان بودند (شکل۲). 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٪ جدایه ها 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 (شکل۳). اگر چه فاصله جغرافیایی این جدایه‌ها می‌تواند نزدیکی ژنتیکی آنها را توجیه نماید اما وجود جدایه‌هایی که از نظر فاصله جغرافیایی دور تر بودند می تواند بیانگر این واقعیت باشد که ممکن است بین مناطق جغرافیایی و گروه‌های rep-PCR ارتباط خاصی وجود نداشته باشد. از طرف دیگر وجود گروه‌های بیماری زایی متفاوت در هر یک از گروه های 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 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 تاثیری ندارد. همچنین در شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها در گروه-های ژنوتیپی مختلف اختلاف معنی داری دیده نشد. این بررسی نشان داد بین جدایه های 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 نشانگرRAPD 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.

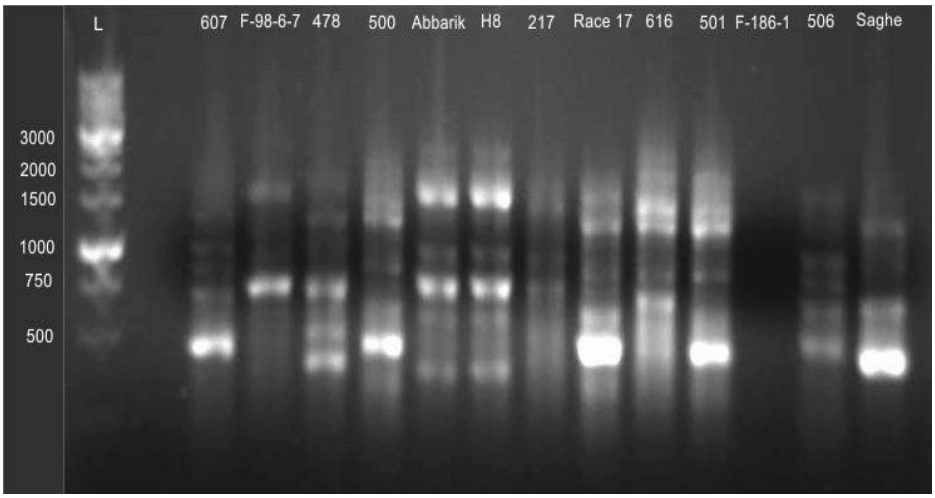
جدول ۴- مقایسه میانگین شدت بیماری، درصد وقوع بیماری و شاخصه‌های رشد طالبی رقم سمسوری آلوده شده با جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*

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	۰/۶۱d-i	۰/۲۲e-i
H ۸	۸/۴۱ a-g	۴/۲۴a,b,c	۰/۷۴b-e	۰/۲۶c-h
۴۰۰	۸/۳۴ a-h	۵/۰۰a	۰/۳۸j-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	۰/۳۸j-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	۰/۴۰j,k,l	۰/۱۶g,h,i

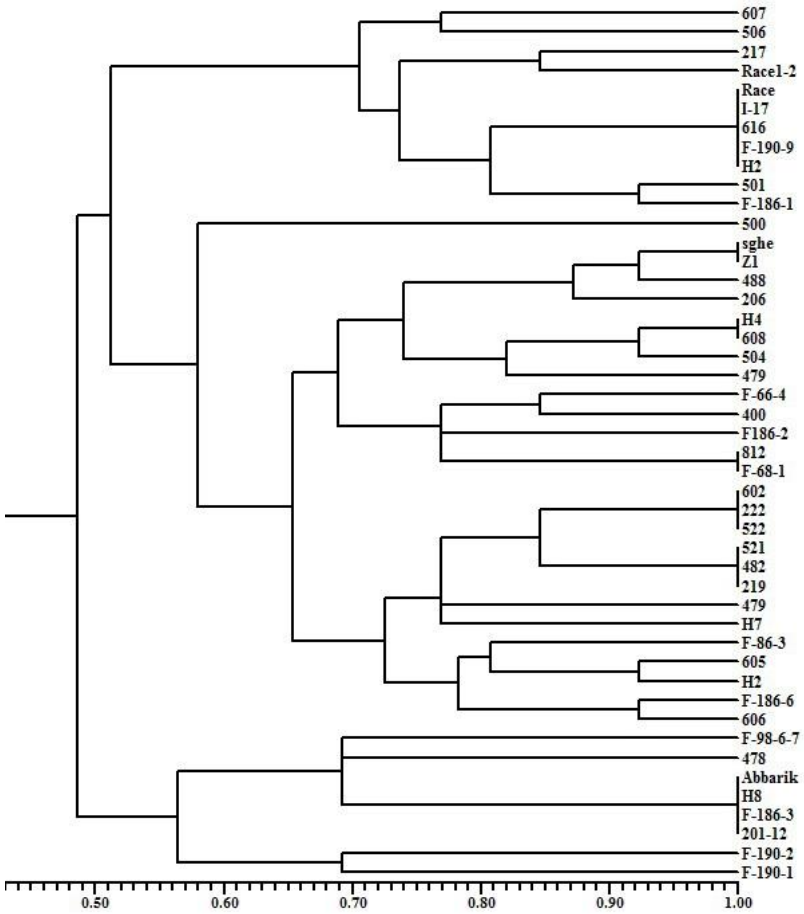
ادامه جدول ۳

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

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



شکل۲- 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.



شکل۳- 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**.

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

بر اساس مطالعه‌ی مشابه (ربانی و همکاران، ۱۳۸۹) بررسی تنوع ژنتیکی ۳۵ جدایه‌ی Fom در استان خراسان رضوی انجام شده است که نتایج به دست آمده در سطح ضریب شباهت ۶۳ درصد جدایه‌های

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 نتیجه گیری شد که به جز موارد محدود بین پراکنش جغرافیایی و گروه-های 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 روش های تعیین تنوع بین جدایه های فوزاریوم بررسی گروه های سازگاری رویشی می باشد. بررسی های پیشین ارتباط بین گروه های سازگاری رویشی Fom و تنوع ژنتیکی را نشان نداده اند. در ارتباط با سازگاری رویشی قارچ *F. oxysporum* مطالعات فراوانی انجام شده است در زیر به آنها اشاره می شود. گروه های سازگاری رویشی [Vegetative compatibility group (VCGs)] ۵۲ جدایه (Fom) از *Cucumis meloni* و ریشه علف های هرز متعلق به نژادهای ۱و۲، ۱ با بارگیری موتانت های نیت [nitrate non - utilizing (nit) mutants] مورد مطالعه قرار گرفته است در این تحقیق کلیه ی موتانت های 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 گروه های سازگاری رویشی ارتباطی مشاهده نشد (Sarpeleh and Banihashemi, 2000). در تحقیقی دیگر در ارتباط با گروه های سازگاری رویشی که توسط کربلایی زاده (۱۳۹۰) انجام شده است، مشخص گردیده است که جدایه های جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران در سه گروه سازگاریی رویشی ۰۱۳۰، ۰۱۳۱ و ۰۱۳۴ قرار می گیرند .مقایسه‌ی این نتایج با مطالعه تنوع ژنتیکی حاصل از این تحقیق هیچ نوع ارتباطی از نظر ژنتیکی بین جدایه هایی که در یک گروه سازگاری رویشی قرار گرفتند، نشان نداد. با توجه به این که بسیاری از جدایه های 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 بنی هاشمی، ۲۰۱۳) و در آن نشان داده شده است، که ۳۴ جدایه از ۴۱ جدایه جمع آوری شده از شش استان ایران، متعلق به گروه سازگاری رویشی ۰۱۳۴ هستند و در مقایسه ای که بین جدایه های 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 می گیرند.

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

در این تحقیق جدایه های(Fom) از نظر فاکتور هایی نظیر شدت بیماری زایی، درصد وقوع بیماری، وزن ریشه و اندام های هوایی بررسی و مقایسه شدند. نتایج نشان داد که جدایه هایی که شدت بیماری زایی بیشتری داشتند، تأثیر بیشتری هم روی وزن ریشه و اندام های هوایی گیاه می گذارند، به عبارت دیگر بین شدت بیماری

زایی جدایه‌ها، کاهش وزن ریشه و کاهش وزن تاج همبستگی وجود دارد وجدایه هایی که دارای شدت بیماری‌زایی و درصد وقوع بیماری بیشتری بودند بیشترین تأثیر را روی کاهش وزن اندام های هوایی و ریشه داشتند.

بین گروه‌های ژنتیکی جدایه ها و محل جداسازی آنها ارتباطی وجود نداشت. به عنوان مثال جدایه‌های 605 ، 607 و 608 که از ساوه جداسازی شده بودند، در گروه های ژنتیکی متفاوتی قرار گرفتند. همچنین بین جدایه هایی که در یک گروه ژنتیکی قرار می گرفتند از نظر بیماریزایی تفاوت وجود داشت، مثل جدایه‌های 521، 522 و 222 که متعلق به گروه ژنتیکی مشابه می باشند اما از نظر بیماری زایی متفاوت بودند. این تحقیق با این فرض انجام شد که بررسی شود که، آیا بین گروه های ژنتیکی جدایه‌ها و قدرت بیماری زایی آنها ارتباطی وجود دارد یا خیر، که در نتیجه هیچ ارتباطی یافت نگردید.

منابع

بی نام ۱۳۹۰. آمارنامه کشاورزی، جلد اول. وزارت جهاد کشاورزی، تهران.

تیموری س.، رهنما ک.، حاجیان شهری م.، افضلی ح. ۱۳۹۲. پراکنش و بیماری زایی گونه های قارچ فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه طالبی و خربزه در استان خراسان رضوی، فصلنامه ی تحقیقات بیماری های گیاهی، شماره دوم، ص ۳۴-۳۳

ربانی نسب ح.، اخوت م.، ترابی، م. حجارود ق.، شریفی تهرانی ع.، مظفری ج. و عباسی م. ۱۳۸۷. مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های Puccinia striformis 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 مولکولیAFLP. مجله زیست‌شناسی ایران، دوره ۲۶، شماره ۱، صفحه ۲۷-۱۸.

کربلایی زاده ز، ۱۳۹۰. تعیین گروه های سازگاری رویشی نژادهای *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* و مدیریت بیماری در ایران.پایان نامه 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 StateUniversity, USA. 114pp.

Huang JS. 2001. Fortifition 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. Phisiological Race and Genetic Diversity Determination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* by Differential Hosts and Molecular Marker RAPD in Northen 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.

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

F Lak[1*], A Sarpeleh[2]and D Shahriari[3]

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

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

[3]Assistant 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 *Fuarium 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 investigatethe 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 symptomsacross 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 testshowed that there were significant differences at the 1% level probability among the isolates in disease incidence, disease severity and plant growth parameres (fresh weight of roots and shoots). The highest disease incidence was observed in plants inoculated with isolates Race1-2,605, 606and 609and 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* H9had 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: *Fuarium oxysporum* fast. *melonis*, Genetic diversity, Pathogenicity, Rep-PCR.