

## بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های خربزه و طالبی آلوده به پژمردگی آوندی فوزاریومی از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

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

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، ۳. استاد پژوهش

مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۵/۲)

### چکیده

بیماری پژمردگی آوندی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خربزه و طالبی است. در این پژوهش ۲۴ توده بومی که از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری شده بود به همراه ۸ اینبرد لاین برای شناسایی منبع جدیدی از مقاومت به بیماری در یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه و گلخانه در سینی‌های حاوی خاک رس، پیت‌ماس و پرلیت مطالعه شد. ریشه‌های زخمی‌شده گیاهچه‌های ۱ تا ۲ برگی ۱۵ روزه در ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* با غلظت  $10^6 \times 1$  در میلی‌لیتر به مدت سه تا چهار دقیقه قرار گرفتند و به سینی‌های کشت برگردانده شدند. نمونه ریشه دو روز بعد از تجدید کاشت از گیاهان آلوده‌شده تمام ژنوتیپ‌های مطالعه‌شده حساس، نیمه‌مقاوم و مقاوم برای بررسی تغییرات بیوشیمیایی طی ۵ مرحله به مدت ۸ روز گرفته شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در تیمار شاهد از آب‌مقطر سترون استفاده شد. میزان آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و ترکیبات فنلی برای تعیین مقاومت به بیماری به همراه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و شدت بیماری مطالعه شد. بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های خربزه و طالبی بر مبنای صفات مذکور با استفاده از روش‌های آماری تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که آلودگی ژنوتیپ‌ها به قارچ عامل پژمردگی آوندگی منجر به تغییرات بیوشیمیایی شد. سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محتوای فنل کل در شرایط پاسخ به آلودگی به فوزاریوم فوم ۱/۲ افزایش یافت. بیشترین فعالیت پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و ترکیبات فنلی چهار تا شش روز پس از آلودگی برای ژنوتیپ‌های مختلف مشاهده شد. در خوشه‌بندی ارقام بر اساس روش وارد، ۳۲ ژنوتیپ در ۳ گروه قرار گرفتند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی متغیرهای مطالعه‌شده را به ۲ مؤلفه با واریانس تجمعی ۹۶ درصد کاهش داد. بیشترین فاصله مربوط به ژنوتیپ‌های ایزابل و شادگانی ۲ (۲۷/۲۱) بود. بنابراین، ایزابل خارجی مقاوم‌ترین و توده شادگانی ۲ حساس‌ترین توده به بیماری شناخته شد. توده‌های زرد ایوانکی، شارننه فوم ۱، جاپالیزی و مگسی در یک گروه قرار گرفتند. بنابراین، می‌توان از تلاقی این توده‌ها در تولید جمعیت‌های پایه برای مطالعه نحوه عمل و شناسایی ژن(های) مؤثر در تحمل به پژمردگی آوندی فوزاریومی استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تغییرات بیوشیمیایی، تنوع ژنتیکی، فوم ۱/۲.

### مقدمه

بیماری‌ها سبب نابودی گیاه و کاهش عملکرد می‌شود. یکی از مهم‌ترین این بیماری‌ها، پژمردگی آوندی خربزه است که توسط *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:

تولید خربزه و طالبی به دلیل گردش مالی بالا از اهمیت بالایی برخوردار است. اما حساسیت ملون‌ها به تعدادی از

بیماری شناسایی شدند ( Morkunas & Gemerek, 2007). افزایش پراکسیدازها در واکنش میزبان-پارازیت ممکن است با مقاومت میزبان در برابر بیماری همراه باشد ( Patykowski et al., 1988; Yamamoto, 1995). (Macko et al., 1968) در آزمایشی دخالت مستقیم پراکسیداز را در واکنش‌های دفاعی گیاه گزارش کردند، به طوری که افزایش پراکسیداز از رشد عامل بیماری‌زا ممانعت به عمل می‌آورد. مقادیر بالای فعالیت پراکسیداز در ارقام مقاوم در مقایسه با ارقام حساس، در موز (Aguilar et al., 2000)، گوجه‌فرنگی ( DeVecchi & Matta, 1988) و سیب‌زمینی شیرین ( Uritani, 1965) گزارش شده است. ترکیبات فنلی نیز سبب غیرفعال شدن آنزیم‌های قارچ عامل بیماری می‌شوند و یا ترکیبات ساختمانی گیاه را تقویت می‌کنند ( Wallace & Fry, 1994). تغییر مقدار ترکیبات فنلی و نقش آنها در ایجاد مقاومت در گیاهان مبتلا به بیماری‌ها مورد مطالعه پژوهشگران قرار گرفته و گزارش‌های این پژوهشگران نشان می‌دهد که تجمع مواد فنلی اغلب در ارتباط با واکنش مقاومت است ( Goodman et al., 1986; Lee et al., 2003; Anand et al., 2007; Madadkhah et al., 2012)، و همبستگی نزدیکی بین فعالیت افزایش یافته پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و غلظت مواد فنلی از یک‌سو و مقاومت گیاه از سوی دیگر مشخص شده است (Kosuge, 1969). همچنین 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-Limones et al., 2002). فعالیت آنزیم دیگر یعنی کاتالاز همراه با مقاومت القاشده گیاه گوجه‌فرنگی در مقابل پژمردگی فوزاریومی در ارقام مقاوم گزارش شده است ( Morkunas & Bednarski, 2008). ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی برای برنامه‌های اصلاح نباتات و حفاظت از ذخایر توارثی

*Fr. f. sp. melonis* ایجاد می‌شود. در کشور ایران، در بعضی سال‌های همه‌گیری، خسارت بیماری حتی به صد درصد بالغ می‌شود. 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 (Banihashemi, 1968). گیاهان در تمام مراحل رشدی ممکن است مورد حمله واقع شوند. علائم بیماری معمولاً بعد از ظهور گل و تشکیل میوه ظاهر می‌شود. ریشه گیاهان آلوده پوسیدگی خشک دارد و ریشه‌های فرعی از بین می‌رود (Sherf & MacNab, 1986; Banihashemi 1982).

چهار نژاد شناخته‌شده این بیماری، برای اولین بار با ملاحظه واکنش جدایه‌های قارچ عامل بیماری روی ژنوتیپ‌های شارنته‌تی، ایزوبلون، ایزوواک و مارگوت تعریف شدند که عبارت‌اند از نژادهای صفر، یک، دو و یک-دو (Risser & Rode, 1973; Mas et al., 1981). مکان ژنی فوم یک مقاومت به نژادهای صفر و دو این بیماری را در گیاه سبب می‌شود درحالی‌که مکان فوم دو سبب ایجاد مقاومت به نژادهای صفر و یک می‌شود (Pitrat, 2002). مقاومت به نژاد یک-دو، کمی است و مقاومت قطعی به این نژاد تا کنون در هیچ‌یک از منابع و جمعیت‌ها گزارش نشده است (Perchepied & Pitrat, 2005; Sestili et al., 2004). شناسایی صفات مهم مرتبط با بیماری و همبستگی بین آنها، اهمیت ویژه‌ای دارد. هنگامی که یک صفت به صورت پلی‌ژنیک کنترل می‌شود انتخاب مستقیم برای اصلاح آن چندان مؤثر نخواهد بود ولی برای اجزای آن مفید خواهد بود (Falconer & Mackay, 1996). روش‌های انتخاب غیرمستقیم صفات پیش‌بینی کننده یک صفت کمی در نسل‌های اولیه می‌تواند مؤثر باشد (Yan & Kang, 2003). متخصصان اصلاح نباتات معمولاً از روش‌های آلودگی مصنوعی برای ارزیابی ژنوتیپ‌های مورد نظر به همراه ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس استفاده می‌کنند. بروز علائم پژمردگی آوندی فوزاریومی تحت‌تأثیر شدت آلودگی، فاکتورهای محیطی و ژنوتیپ میزبان قرار می‌گیرد (Namiki et al., 1998). آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پلی‌فنل اکسیدازها، پراکسیدازها و ترکیبات فنلی از عوامل اجزای مقاومت به

حاضر بهره‌برداری شد. نگهداری و کشت مجدد برای تکثیر در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول به هر 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 از کشت خالص و تازه جدایه فوم ۱,۲ اضافه شد. تشتک‌ها در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مرحله دوم، ابتدا ماسه و کاه گندم به نسبت (۱:۲) مخلوط و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند سپس کنیدیوم‌های تولیدشده با روش بالا با مخلوط ماسه و کاه گندم سترون مخلوط شد. 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 ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا جمعیت فوم به حد ثابت برسد (Banihashemi & Dezeew, 1975).

برای تهیه زادمایه قارچ عامل بیماری ۲ گرم از مخلوط ماسه و کاه گندم حاوی کلامیدوسپور به داخل تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA اضافه شد و در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد زیر نور فلورسنت به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند. به منظور تهیه سوسپانسیون اسپور از کشت‌های ۱۲ روزه قارچ عامل بیماری بر روی محیط کشت PDA استفاده شد. سطح محیط کشت با ۴ تا ۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون و با استفاده از لام شیشه‌ای سترون شسته شد. به منظور جداسازی محیط کشت، سوسپانسیون از پارچه ململ دو لایه سترون عبور داده شد. شمارش اسپور سوسپانسیون با لام هماسیتومتر انجام شد و با آب مقطر سترون رقیق‌سازی شد تا رقت معادل با  $1 \times 10^6$  اسپور در میلی‌لیتر به دست آمد.

#### مواد گیاهی و مایه‌زنی گیاهان با قارچ عامل بیماری

بذور ۲۴ توده بومی *Cucumis melo* L. شامل خربزه و طالبی که غالباً از مرکز تحقیقات کشاورزی استان تهران تهیه شده بود به همراه ارقام افتراقی که از مؤسسه INRA<sup>۳</sup> دریافت شد پس از ضدعفونی در سینی‌های

کاربرد حیاتی دارد. آگاهی از تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی برای انتخاب نژادهای والدینی در راستای حصول دورگ‌های مناسب و پیش‌بینی بنیه دورگ به‌ویژه در محصولاتی که دورگ آنها ارزش تجاری دارند، مهم است. روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی وجود دارد. از آنجا که روش‌های آماری چندمتغیره به‌طور هم‌زمان چندین اندازه‌گیری را مد نظر قرار می‌دهند، لذا در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بر پایه داده‌های مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی کاربرد وسیعی دارند. استفاده از روش‌های تجزیه و تحلیل چندمتغیره برای طبقه‌بندی ژرمپلاسم و تجزیه و تحلیل روابط ژنتیکی موجود بین مواد اصلاحی امری الزامی است. بین روش‌های مختلف تجزیه‌های چندمتغیره، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مهم‌ترین روش‌ها هستند (Mohammadi & Prasanna, 2003). از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به‌منزله مکمل روش تجزیه خوشه‌ای (Rahai *et al.*, 2004) و برای تعیین تعداد عوامل مؤثر بر عملکرد، تشریح تنوع ژنتیکی، تعیین سهم هر صفت از تنوع کل و گروه‌بندی براساس تعداد اندکی از مؤلفه‌های اصلی استفاده می‌شوند (Peeters & Martinelli, 1989; Chrarmet *et al.*, 1991; Krahl *et al.*, 1990). هدف از این پژوهش، بررسی تنوع ژنتیکی برای مقاومت به بیماری پژمردگی آوندی در برخی توده‌های خربزه و طالبی ایران و تعیین توده‌های مقاوم با استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه مؤلفه‌های اصلی، است.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه قارچ عامل بیماری

جدایه مهاجم<sup>۱</sup> عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی خربزه از دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه شد (جمع‌آوری و تشخیص توسط بنی‌هاشمی)، پس از آزمون و تأیید بیماری‌زایی روی لاین اینبرد شارنته‌تی (شاهد حساس) و تعیین نژاد تکمیلی روی لاین‌های ویرگوس و ایزابل و ملاحظه واکنش ناسازگاری روی لاین اینبرد ایزابل در شرایط کنترل‌شده، در پژوهش

2. Potato Dextrose Agar

3. Institut National de la Recherche Agronomique

1. Aggressive

میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور با رقت معادل  $1 \times 10^6$  اسپور در میلی‌لیتر قرار گرفت. ریشه گیاهچه‌های شاهد نیز در آب مقطر سترون قرار گرفتند. سینی‌های کشت به گلخانه با متوسط دمای روزانه ۲۲ تا ۲۸ و متوسط دمای شبانه ۱۲ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد (۱۶ ساعت) منتقل و هر روز آبیاری شدند. پس از مایه‌زنی گیاهچه‌ها با فوزاریوم نمونه‌برداری از ریشه گیاهان در چهار نوبت به فاصله دو روز بعد از مایه‌زنی انجام گرفت و به دمای  $80^\circ\text{C}$  - درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

کشت حاوی مخلوط خاکی رس، پیت‌ماس و پرلیت (۱:۱:۲) کاشته شدند. گیاهان هر روز تا رسیدن به مرحله ۲ برگ آبیاری شدند. مشخصات، موقعیت، وضعیت آب و هوایی و محل جمع‌آوری توده‌های خربزه و طالبی بررسی شده در جدول ۱ و شکل ۱ نشان داده شده است. پس از ۱۵ روز و رسیدن به مرحله یک تا دو برگ حقیقی، ۱۲ گیاهچه‌ها از خاک بیرون آورده شد و ریشه آنها با آب مقطر سترون به‌طور کامل شسته شد. سپس ریشه‌ها به مدت سه تا چهار دقیقه در  $50^\circ\text{C}$

جدول ۱. مشخصات، موقعیت و وضعیت آب و هوایی محل جمع‌آوری توده‌ها

شماره	گروه	ژنوتیپ	Genotype	محل جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	میانگین دمای سالیانه	ارتفاع از سطح دریا
				Gathering Place	Longitude	Latitude	Average annual temperature	Altitude (m)
۱		شادگانی	Shadegani	خوزستان	۴۹/۰۲ شرقی	۳۱/۲۶ شمالی	۲۵°C	۲۰
۲		آناناسی	Ananasi	بازار				
۳		گرگاب بزرگ	Gorgab-bozorg	اصفهان	۵۱/۴۰ شرقی	۳۲/۳۹ شمالی	۱۶°C	۱۵۷۷
۴		چاپالیزی	Japalizi	خراسان	۵۹/۰۶ شرقی	۳۵/۰۶ شمالی	۱۴°C	۹۸۴
۵		جلالی	Jalali	سمنان	۵۳/۲۳ شرقی	۳۵/۳۴ شمالی	۱۷/۶°C	۱۱۳۶
۶		شارننه فوم ۲	Charentais Fom2	اینرا فرانسه	۵/۰۴ شرقی	۴۷/۱۸ شمالی		۲۶۶
۷		سوسکی	Suski	سمنان	۵۳/۲۳ شرقی	۳۵/۳۴ شمالی	۱۷/۶°C	۱۱۳۶
۸		خاقانی	Khaghani	خراسان	۵۹/۰۶ شرقی	۳۵/۰۶ شمالی	۱۴°C	۹۸۴
۹		جارجو	Jarjoo	گنبد	۵۵/۱۰ شرقی	۳۷/۱۵ شمالی	۱۷°C	۳۸
۱۰		چاپالیزی ۲	Japalizi2	خراسان	۵۹/۰۶ شرقی	۳۵/۰۶ شمالی	۱۴°C	۹۸۴
۱۱		چاخرخه	Chakherje	گنبد	۵۵/۱۰ شرقی	۳۷/۱۵ شمالی	۱۷°C	۳۸
۱۳		شارننه تی	Charentais T	اینرا فرانسه	۵/۰۴ شرقی	۴۷/۱۸ شمالی		۲۶۶
۱۴		گیلان	Gilan	گیلان	۴۹/۳۴ شرقی	۳۷/۱۶ شمالی	۱۵/۸°C	-۳
۱۵		شادگانی ۲	Shadegani2	خوزستان	۴۹/۰۲ شرقی	۳۱/۲۶ شمالی	۲۵°C	۲۰
۱۶		PI414723PI	PI414723	اینرا فرانسه	۵/۰۴ شرقی	۴۷/۱۸ شمالی	-	۲۶۶
۱۹		زرد قناری	Zard-Ghanari	بازار				
۲۰		زرد ایوانکی	Zard-Eyvanakey	ایوانکی	۵۲/۰۴ شرقی	۳۵/۲۰ شمالی	۱۷°C	۱۰۷۵
۲۱		شارننه فوم ۱	Charentais Fom1	اینرا فرانسه	۵/۰۴ شرقی	۴۷/۱۸ شمالی		
۲۲		مشهدی	Mashhadi	خراسان	۵۹/۰۶ شرقی	۳۵/۰۶ شمالی	۱۴°C	۹۸۴
۲۳		ایزابیل	Isabille	اینرا فرانسه	۵/۰۴ شرقی	۴۷/۱۸ شمالی	-	۲۶۶
۲۴		ویرگوس	Virgous	اینرا فرانسه	۵/۰۴ شرقی	۴۷/۱۸ شمالی	-	۲۶۶
۲۵	A B	زبدری	Zeydari	شاهرود	۵۴/۵۸ شرقی	۳۶/۲۵ شمالی	۱۴/۸°C	۱۳۵۴
۲۶		سبز	Sabz	اصفهان	۵۱/۴۰ شرقی	۳۲/۳۹ شمالی	۱۶°C	۱۵۷۷
۲۷		رحمانلو	Rahmanloo	آذربایجان شرقی	۴۶/۱۶ شرقی	۳۷/۵۴ شمالی	۱۲/۵°C	۱۸۵۸
۲۸		خاقانی گرد	Khaghani-Gerd	خراسان	۵۹/۰۶ شرقی	۳۵/۰۶ شمالی	۱۴°C	۹۸۴
۲۹		خاقانی مشبک	Khaghani-Moshabak	خراسان	۵۹/۰۶ شرقی	۳۵/۰۶ شمالی	۱۴°C	۹۸۴
۳۰		سفیدک	Sefidak	زابل	۶۱/۴۰ شرقی	۲۷/۰۷ شمالی	۲۰°C	۴۸۱
۳۱		بهار	Bahar	همدان	۴۸/۲۶ شرقی	۳۴/۵۴ شمالی	۱۱°C	۱۸۱۴
۳۲		عجب‌شیر	Ajab shir	عجب‌شیر	۴۵/۲۳ شرقی	۳۷/۲۸ شمالی	۱۱/۶°C	۱۲۹۶
۱۲		مگسی	Maghasi	نیشابور	۵۸/۴۷ شرقی	۳۶/۱۲ شمالی	۱۴/۲°C	۱۱۹۹
۱۷	C D	CM 17187	CM 17187	اینرا فرانسه	۵/۰۴ شرقی	۴۷/۱۸ شمالی		۲۶۶
۱۸		طالبی ساوه	Talebi	ساوه	۵۰/۲۱ شرقی	۳۵/۰۱ شمالی	۱۸/۲°C	۱۰۰۹

#### استخراج پروتئین و اندازه‌گیری صفات مطالعه‌شده

برای استخراج پروتئین محلول کل ۰/۵ گرم بافت ریشه در حضور ۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۶۰ میلی‌مول (pH ۶) آسیاب شدند. برای عصاره‌گیری نمونه حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شد و در ۱۴ هزار دور به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد (داخل یخچال) سانتریفیوژ شد. همه مراحل تهیه عصاره آنزیمی در

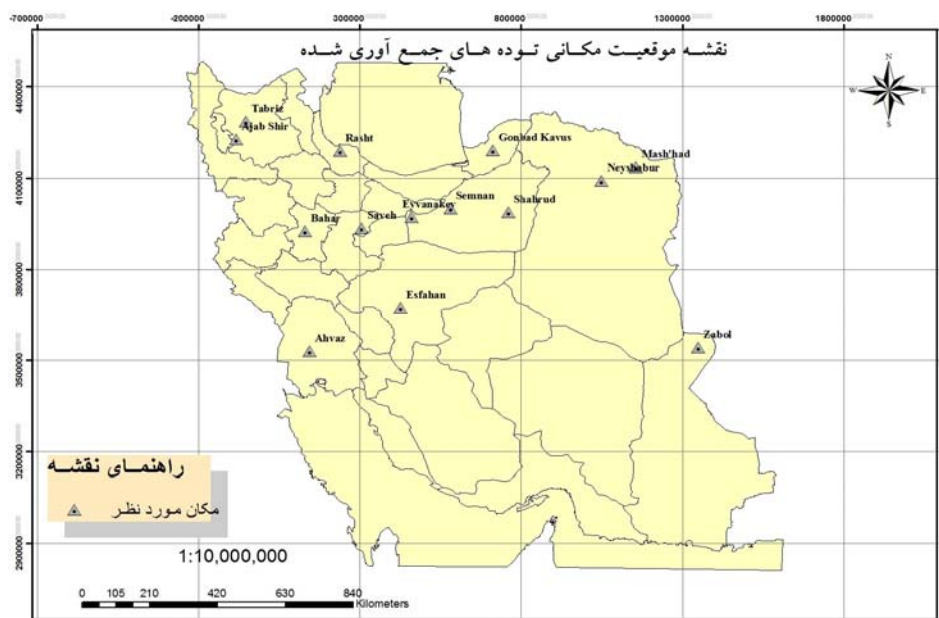
دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. میزان پروتئین محلول کل به روش Bradford (1976) اندازه‌گیری شد. برای تهیه منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف Bovin Serum Albumin پروتئین آلبومین سرم گاو (BSA) استفاده شد. فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری (اسپکتروفتومتر Jenway. مدل UV-6505) در دمای آزمایشگاه ( $25 \pm 2$ ) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شد. ظهور علائم بیماری در بوته‌ها ۹ روز پس از مایه‌زنی بر روی رقم شارن‌ته‌تی مشاهده شد که به محض بروز علائم شامل زردی و پژمردگی ساقه آنها برای ردیابی فوم روی محیط PDA کشت شد. امتیازدهی بیماری، با روش Root dipping و توصیف‌نامه (Perchepped & Pitrat, 2004; Shafagh *et al.*, 2008) انجام گرفت.

#### ارزیابی بیماری

پس از مایه‌زنی مصنوعی، تاریخ مایه‌زنی ثبت و تاریخ ظهور اولین علائم روی بوته‌ها یادداشت شد و گسترش علائم روی بوته‌ها هر روز در یک نوبت و در مدت‌زمان ۹ روز تا زمان مرگ کامل بوته صورت پذیرفت. مقیاس امتیازدهی براساس علائم بیماری برای بوته کاملاً سالم و بدون علائم زردی، نکروز یا پژمردگی، مقیاس (۱)؛ زردی لپه‌ها یا اولین برگ حقیقی مقیاس (۲)؛ زردی یا پژمردگی دو برگ حقیقی اول مقیاس (۳)؛ زردی یا ساقه مقیاس (۴)؛ خشکی کامل و مرگ گیاه مقیاس (۵) انجام گرفت (Perchepped & Pitrat, 2004).

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Ghanati *et al.* براساس میزان اکسیدشدن گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر تعیین شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Cakmak & Horst (1991) انجام شد. فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میزان تجزیه‌شدن  $H_2O_2$  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  $\lambda$  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 نیتروبولوتترازولیوم 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 نیتروبولوتترازولیوم کلراید شود. مقدار فعالیت آنزیم‌های فوق برحسب 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)



شکل ۱. نقشه مکان‌های جمع‌آوری ژنوتیپ‌های طالبی مطالعه‌شده در کشور با استفاده از نرم‌افزار GIS<sup>۱</sup>

داده‌های برای سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نشان داد که کمترین مقدار سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مربوط به ژنوتیپ ایزابل و بیشترین مقدار مربوط به ژنوتیپ شادگانی<sup>۲</sup> بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس معنادار بودن میانگین مربعات برای صفات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل‌کل، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱ درصد را نشان داد. نتایج بررسی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در روزهای مختلف اندازه‌گیری نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ درصد بین ژنوتیپ‌های مطالعه‌شده در روز صفر (شاهد) برای میزان اولیه آنزیم پراکسیداز بود که بیشترین میزان فعالیت آنزیم را ژنوتیپ ایزابل (۰/۹۷) و شارننه فوم ۱ داشت. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در روزهای مختلف افزایش یافت تا اینکه در روز چهارم آزمایش به بیشترین مقدار رسید و از آن روز به بعد میزان فعالیت آنزیم کاهش یافت. بیشتر بودن میزان اولیه فعالیت این آنزیم و بیشتر بودن فعالیت آن در روزهای اولیه از ورود قارچ عامل بیماری به توده‌های مقاوم به این بیماری ارتباط دارد. پژوهشگران مختلف افزایش فعالیت پراکسیدازها در واکنش با مقاومت میزبان در برابر بیماری را گزارش کرده‌اند (Yedidia *et al.*, 2001; Madadkhan *et al.*, 2012). نتایج بررسی میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در ژنوتیپ‌های مختلف خربزه و طالبی نسبت به بیماری نشان داد که مقدار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در این ژنوتیپ‌ها اختلاف معناداری در سطح ۱ درصد داشت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که قارچ عامل بیماری سبب افزایش القای سنتز این آنزیم در گیاه می‌شود که نقش دفاعی در بافت ریشه علیه قارچ عامل بیماری ایفا می‌کند. نتایج به‌دست‌آمده در توافق با سایر پژوهشگران است (Bruce & West, 1989; Madadkhan *et al.*, 2012). اختلاف در تغییرات کمی ترکیبات فنلی برای توده‌های خربزه و طالبی در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. نتایج نشان داد که میزان اولیه فنل‌کل در توده‌های مقاوم کمتر از توده‌های حساس بود ولی در توده‌های مقاوم میزان فنل طی روزهای اولیه انجام آزمایش به‌شدت افزایش یافت تا اینکه در روز چهارم به حداکثر خود

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری<sup>۱</sup> (AUDPC) 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.

در پژوهشی، Chikh-Rouhou *et al.* (2008) با مقایسه جمعیت‌های  $F_1$  حاصل از تلاقی  $BG-5384 \times Piel\ de\ Sapo$  والدین مربوط نشان دادند که هرچه میزان سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری کمتر باشد توده‌ها مقاومت بیشتری به فوم ۱،۲ نشان می‌دهند. براساس روش Chikh-Rouhou *et al.* (2008) با اندکی تغییر، توده‌های با شدت بیماری با مقیاس یک، جزء توده‌های خیلی مقاوم؛ توده‌های با مقیاس ۱/۱-۲ مقاوم؛ توده‌های با مقیاس ۲-۳ نیمه‌مقاوم؛ توده‌های با مقیاس ۳-۴ حساس و توده‌های با مقیاس بزرگ‌تر از ۴ جزء توده‌های خیلی حساس طبقه‌بندی کردند. تجزیه و تحلیل داده‌ها و تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹ (SAS Ins., 1996) و MINITAB (Minitab, 2007) انجام شد. مقایسه میانگین توده‌ها برای صفات مختلف به‌روشنی آزمون حداقل تفاوت معنادار<sup>۲</sup> (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اختلاف بین ژنوتیپ‌ها را در سطح احتمال ۱ درصد از نظر شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نشان داد (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). ژنوتیپ ایزابل دارای کمترین شدت آلودگی (۱/۰۸) و مقاوم‌ترین ژنوتیپ و ژنوتیپ شادگانی<sup>۲</sup> دارای بیشترین شدت آلودگی (۴/۹۸) و در نتیجه حساس‌ترین ژنوتیپ به بیماری شناخته شدند. مقایسه میانگین

1. Area Under Disease Progress Curve  
2. Least Significant Difference

(1986) نشان داد که اکسیژن معمولاً چه در نسوج میتلا و چه در سالم در روند اکسیداتیو سلولی تولید می‌شود، ولی در حضور سوپراکسید دیسموتاز یون منفی اکسیژن به نام سوپراکسید آنیون ( $O_2^-$ ) به هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) تبدیل شده و در حضور کاتالاز هیدروژن پراکسید به اکسیژن و آب تبدیل خواهد شد. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز سبب افزایش مقاومت گیاه می‌شود و در واکنش ناسازگار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز چند برابر واکنش سازگار است (Khan & Panda 2008; Mandal *et al.*, 2008).

رسید. بیشترین مقدار فنل مربوط به ژنوتیپ‌های ایزابل و چاپالیزی (۹/۸۷) و کمترین مقدار در ژنوتیپ‌های بسیار حساس شادگانی ۲ و شارن‌ته‌تی (به ترتیب ۷/۹ و ۷/۹۵) مشاهده شد. پژوهشگران متعددی ارتباط نقش ترکیبات فنلی و افزایش این ترکیبات را با مقاومت، در میزبان‌های مختلف در رابطه با عوامل بیماری‌زای قارچی ثابت کرده‌اند (Steiner & Schonbeck, 1995; Behruzian, 1997; Madadkhah *et al.*, 2012). نتایج به‌دست‌آمده برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان از افزایش میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ‌های مقاوم و کاهش آن در ژنوتیپ‌های حساس در ۴ روز پس از مایه‌زنی دارد. نتیجه پژوهش Goodman *et al.*

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل کل، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، AUDPC و شدت بیماری در

ژنوتیپ‌های خربزه و طالبی آلوده به فوم ۱/۲

شماره	ژنوتیپ	Genotype	پراکسیداز	پلی‌فنل اکسیداز	فنل کل	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	AUDPC <sup>۱</sup>	شدت بیماری
۱	شادگانی	Shadegani	۰/۶۰	۰/۰۸	۸/۱۱	۴/۸۹	۱۱/۷۱	۲۷/۴۸	۴/۱۰
۲	آناناسی	Ananasi	۰/۶۰	۰/۰۸	۸/۱۲	۴/۹۲	۱۱/۷۴	۲۵/۴۸	۴/۱۱
۳	گرگاب بزرگ	Gorgab-bozorg	۰/۵۳	۰/۰۸	۸/۱۰	۴/۸۳	۱۱/۳۰	۲۶/۷۲	۴/۲۶
۴	چاپالیزی	Japalizi	۰/۸۳	۰/۱۱	۹/۸۷	۶/۹۵	۱۶/۷۰	۲۵/۰۱	۲/۷۱
۵	جلالی	Jalali	۰/۷۴	۰/۱۰	۹/۰۳	۶/۴۲	۱۴/۷۷	۲۶/۹۳	۳/۱۶
۶	شارن‌ته فوم ۲	Charentais Fom2	۰/۷۴	۰/۱۰	۸/۸۸	۵/۸۹	۱۴/۰۹	۲۴/۰۸	۳/۳۲
۷	سوسکی	Suski	۰/۷۷	۰/۱۱	۹/۲۱	۶/۴۲	۱۵/۳۱	۲۴/۸۲	۲/۹۹
۸	خاقانی	Khaghani	۰/۶۱	۰/۰۸	۸/۲۰	۵/۰۲	۱۲/۰۳	۲۷/۱۵	۴/۰۱
۹	جارجو	Jarjoo	۰/۵۷	۰/۰۸	۸/۰۵	۴/۷۶	۱۱/۵۵	۲۶/۴۲	۴/۲۲
۱۰	چاپالیزی ۲	Japalizi2	۰/۵۴	۰/۰۷	۷/۹۷	۴/۵۳	۱۱/۱۸	۲۸/۱۸	۴/۴۷
۱۱	چاخرخه	Chakherje	۰/۷۲	۰/۱۰	۸/۷۸	۶/۰۴	۱۳/۸۹	۲۷/۰۴	۳/۳۷
۱۲	مگسی	Maghasi	۰/۸۴	۰/۱۲	۹/۷۸	۶/۷۹	۱۶/۵۸	۲۰/۳۵	۲/۵۴
۱۳	شارن‌ته‌تی	Charentais T	۰/۵۲	۰/۰۷	۷/۹۶	۴/۵۳	۱۱/۲۳	۲۹/۹۹	۴/۴۳
۱۴	گیلان	Gilan	۰/۶۲	۰/۰۹	۸/۶۸	۵/۴۹	۱۳/۳۱	۲۷/۶۲	۳/۶۷
۱۵	شادگانی ۲	Shadegani2	۰/۴۶	۰/۰۶	۷/۹۰	۴/۲۳	۱۰/۶۸	۳۰/۷۵	۴/۹۸
۱۶	PI414723PI	PI414723	۰/۵۷	۰/۰۸	۸/۰۸	۴/۸۲	۱۱/۶۱	۲۸/۰۷	۴/۱۵
۱۷	CM 17187	CM 17187	۰/۵۹	۰/۰۸	۸/۵۵	۵/۲۲	۱۲/۸۳	۲۷/۰۰	۳/۹۷
۱۸	طالبی ساوه	Talebi	۰/۶۹	۰/۰۹	۸/۵۴	۵/۶۷	۱۳/۲۹	۲۲/۵۷	۳/۵۳
۱۹	زرد قناری	Zard-Ghanari	۰/۶۱	۰/۰۹	۸/۵۶	۵/۵۵	۱۲/۹۶	۲۶/۳۲	۳/۷۰
۲۰	زرد ایوانکی	Zard-Eyvanakey	۰/۷۹	۰/۱۲	۹/۷۵	۶/۸۹	۱۶/۴۴	۲۳/۳۰	۲/۶۸
۲۱	شارن‌ته فوم ۱	Charentais Fom1	۰/۸۶	۰/۱۲	۹/۸۳	۷/۱۰	۱۷/۳۹	۲۲/۸۱	۲/۲۳
۲۲	مشهدی	Mashhadi	۰/۷۲	۰/۱۰	۸/۹۴	۶/۲۲	۱۴/۳۰	۲۵/۳۱	۳/۲۶
۲۳	ایزابل	Isabllle	۱/۱۲	۰/۱۴	۹/۸۷	۷/۸۸	۲۰/۱۶	۱۰/۲۹	۱/۰۸
۲۴	ویرگوس	Virgous	۰/۷۳	۰/۱۰	۹/۱۰	۶/۱۷	۱۴/۷۳	۲۶/۱۲	۳/۱۴
۲۵	زیدری	Zeydari	۰/۶۶	۰/۰۸	۸/۴۸	۵/۵۶	۱۳/۰۹	۲۵/۲۱	۳/۶۸
۲۶	سبز	Sabz	۰/۷۹	۰/۱۱	۹/۳۶	۶/۵۳	۱۵/۴۵	۲۳/۷۳	۲/۸۷
۲۷	رحمانلو	Rahmanloo	۰/۷۱	۰/۱۰	۸/۹۴	۶/۰۷	۱۴/۳۹	۲۶/۳۱	۳/۳۱
۲۸	خاقانی گرد	Khaghani-Gerd	۰/۶۶	۰/۰۹	۸/۷۰	۵/۵۱	۱۳/۳۷	۲۵/۳۵	۳/۶۵
۲۹	خاقانی مشبک	Khaghani-Moshabak	۰/۷۱	۰/۱۰	۸/۷۰	۵/۹۵	۱۳/۶۷	۲۴/۹۴	۳/۴۵
۳۰	سفیدک	Sefidak	۰/۷۶	۰/۱۰	۹/۱۳	۶/۳۱	۱۴/۸۱	۲۶/۱۹	۴/۱۸
۳۱	بهار	Bahar	۰/۵۳	۰/۰۷	۸/۰۱	۴/۶۷	۱۱/۴۷	۲۶/۵۷	۴/۲۸
۳۲	عجب‌شیر	Ajab shir	۰/۷۲	۰/۱۰	۹/۰۲	۶/۱۸	۱۴/۵۱	۲۵/۲۳	۳/۲۰
		LSD %5	۰/۰۹	۰/۰۲۱	۰/۶۹	۰/۵۷	۱/۴۳	۳/۵۸	۰/۷۸
		LSD %1	۰/۱۲	۰/۰۲۸	۰/۹۱	۰/۷۵	۱/۸۸	۴/۷۰	۱/۰۲

1-AUDPC- Area Under Disease Progress Curve

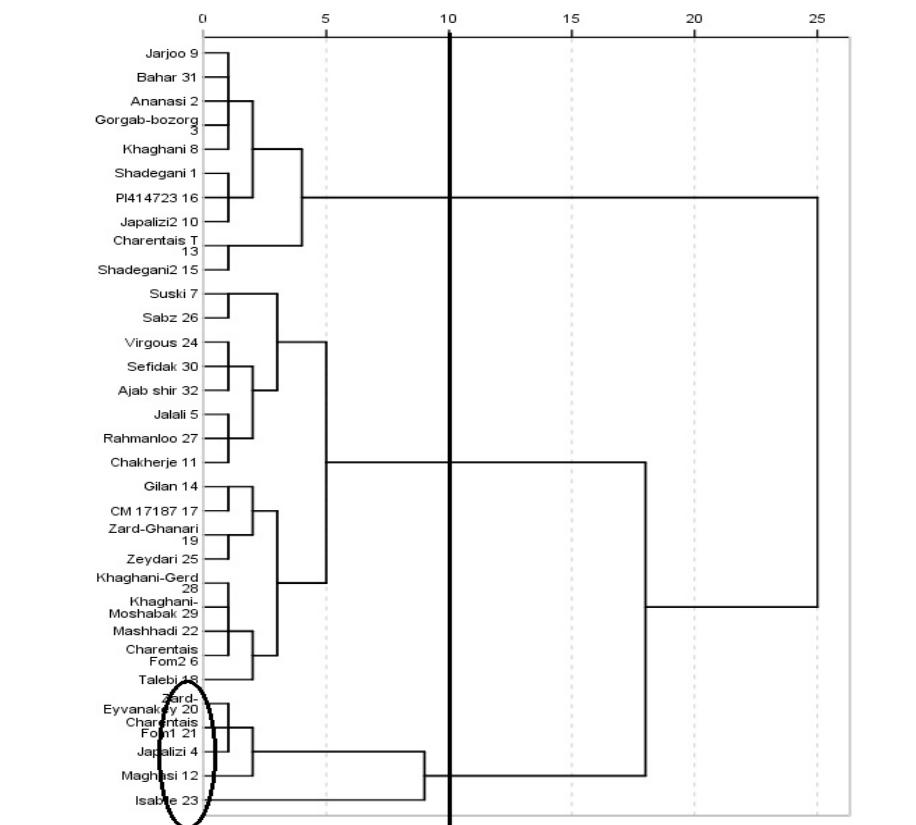
به‌دست‌آمده از بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز نیز افزایش آن را در زمان ۴ روز پس از مایه‌زنی، در بافت‌های آلوده ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس نشان داد. به‌طور کلی، درصد

تجزیه خوشه‌ای

میانگین مربعات صفت کاتالاز اختلاف معناداری بین ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد. نتایج

(۱۹۹۷) افزایش فعالیت آنزیم در ترکیب ناسازگار گندم در زنگ زرد را گزارش کرد که در توافق با نتایج این پژوهش است.

تغییرات آنزیم در توده‌های مقاوم نسبت به توده‌های حساس آزمایش بیشتر بود لیکن درصد تغییرات آنزیم در ژنوتیپ‌های مقاوم بیشتر بود. در پژوهشی Behruzian



شکل ۲. تجزیه خوشه‌ای ۳۲ ژنوتیپ خربزه و طالبی در پاسخ به آلودگی پژمردگی آوندی فوزاریومی

توده‌های بررسی شده در سه خوشه گروه‌بندی شدند. در این روش تعداد خوشه‌ها در هر نقطه برش به‌منزله تیمار و ژنوتیپ‌های درون هر تیمار به‌منزله تکرارهای آن تیمار برای تمام صفات در نظر گرفته شد. سپس در هر نقطه برش، تعداد خوشه تعیین و آماره ویلکس لامبدا حاصل از تجزیه واریانس چندمتغیره طرح کاملاً تصادفی نامتعادل به دست آمد و در مرحله‌ای که اختلاف بین دو آماره ویلکس لامبدای متوالی بیشترین مقدار بود نقطه برش نهایی تعیین شد و توده‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. خوشه اول، شامل توده‌های زرد ایوانکی، شارنته فوم ۱، جاپالیزی ۱، مگسی و ایزابل؛ خوشه دوم، شامل توده‌های جارجو، بهار، آناناسی، گرگاب بزرگ، خاقانی، شادگانی، PI414723، جاپالیزی ۲، شارنته تی و شادگانی ۲ و خوشه سوم شامل توده‌های سوسکی، سبز، ویرگوس، سفیدک، عجب‌شیر، جلالی، رحمانلو، چاخرجه، گیلان،

همچنین Frik (۱۹۷۶) اهمیت کاتالاز را در مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا تأیید می‌کند. با توجه به اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی و میزان فنل در روزهای مختلف به‌دلیل اینکه در روز چهارم اندازه‌گیری بیشترین مقدار بود (داده‌ها ارائه نشده است) و بیشترین مقدار مقاومت نیز در این روز القا شد، نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی و میزان فنل روز چهارم و متغیرهای AUDPC و شدت بیماری با روش‌های مختلف انجام شد. به‌دلیل اینکه روش وارد بالاترین مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک را بین سایر روش‌ها نشان داد مبنای تجزیه خوشه‌ای قرار گرفت. تعیین نقطه برش و تعیین تعداد خوشه‌ها بر مبنای آماره ویلکس لامبدای تجزیه واریانس چندمتغیره انجام شد و



اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و ترکیبات فنلی و کمترین مقادیر شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و در نتیجه به‌طور میانگین مقاومت بیشتری نسبت به توده‌های گروه دوم و سوم داشتند. توده‌های گروه سوم نیز با داشتن مقادیر بیشتر آنزیم‌های مذکور و ترکیبات فنلی نسبت به گروه دوم مقاومت بیشتری دارند. بنابراین، با توجه به اینکه توده‌های قرار گرفته در گروه اول بیشترین صفات مرتبط با اجزای مقاومت را داشتند، در صورتی که در سایر گروه‌ها به‌ویژه گروه دوم توده‌هایی یافت شوند که از نظر سایر صفات مانند عملکرد، زودرسی یا عطر و طعم از مطلوبیت فوق‌العاده‌ای برخوردار بوده ولی حساس به این بیماری باشند، می‌توانند برای ایجاد ژنوتیپ‌های مقاوم همراه با این صفات مطلوب به‌منزله والدین برای تولید جمعیت‌های پایه دارای صفات مطلوب مقاومت به بیماری و صفات آروماتیک و عملکرد بالا استفاده شوند. ضمناً برای بهره‌برداری و استفاده از هتروزیس و در صورت وجودنداشتن تنوع برای ایجاد آن می‌توان از توده‌هایی که بیشترین فاصله را با یکدیگر دارند استفاده کرد. برای تعیین دورترین و نزدیک‌ترین توده‌ها براساس ماتریس فاصله به‌دست‌آمده از روش وارد بر مبنای معیار فاصله اقلیدوسی معلوم شد.

CM17187، زرد قناری، زیدری، خاقانی‌گرد، خاقانی‌مشبک، مشهدی، شارننه فوم ۲ و طالبی ساوه بودند. تجزیه واریانس چندمتغیره علاوه بر تعیین نقطه برش نشان‌دهنده ماکزیمم اختلاف بین بردار میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای مجموعه صفات ارزیابی شده بود ( $\Lambda = 0/051$ ) که در این مرحله از گروه‌بندی بیشترین شباهت میان توده‌های درون هر خوشه (کمترین مقدار برای ماتریس مجموع مربعات W) و بیشترین اختلاف بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای (بیشترین مقدار برای ماتریس مجموع مربعات B) بود. مقایسه جفتی بردارهای میانگین گروه‌های (جدول ۳) حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از آماره  $T^2$  هتلینگ انجام شد و نتایج حاصل نشان داد که بردارهای میانگین گروه‌های به‌دست‌آمده در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر اختلاف معنادار آماری برای تمام صفات اندازه‌گیری شده داشتند که مؤید وجود بیشترین اختلاف بین گروه‌های حاصل بود (جدول ۴). مقایسه دو به دو بردارهای میانگین گروه‌های حاصل نیز با استفاده از آماره  $T^2$  هتلینگ انجام شد و اختلاف بین بردارهای میانگین مشاهده شد. با در نظر گرفتن بردار میانگین‌های می‌توان نتیجه گرفت که توده‌های گروه اول با داشتن بیشترین مقادیر آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل

جدول ۳. بردار میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۳۲ ژنوتیپ خربزه و طالبی

گروه‌ها	پراکسیداز	پلی‌فنل اکسیداز	فنل کل	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	AUDPC	شدت بیماری
بردار میانگین گروه اول	۱/۰۳	۰/۱۳	۱۳/۸۵	۸/۷۲	۳۱/۴	۲۰/۳۵	۲/۲۴
بردار میانگین گروه دوم	۰/۷۰	۰/۰۸	۱۰/۷۳	۶/۱۷	۱۹/۵۷	۲۷/۶۸	۴/۳
بردار میانگین گروه سوم	۰/۸۳	۰/۱۰	۱۲/۲۷	۷/۴۶	۲۴/۲۸	۲۵/۵۷	۳/۳۷

جدول ۴. نتایج مقایسه بردار میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۳۲ ژنوتیپ خربزه و طالبی

مقایسه گروه‌ها	گروه دوم VS گروه اول	گروه سوم VS گروه اول	گروه سوم VS گروه دوم
آماره $T^2$ هتلینگ	۲۰۴/۹۸**	۵/۰۶**	۴/۸۷**
فاصله بین خوشه‌ها	۱۴/۶۳	۵/۶۱	۹/۱۳

\*\* معنادار در سطح احتمال ۰/۰۱ درصد

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که دو مؤلفه اصلی اول و دوم به ترتیب ۹۰ و ۶ درصد و در مجموع ۹۶ درصد از کل تغییرات صفات مربوط به مقاومت را توجیه کردند (جدول ۵). با توجه به پلات دوبعدی مؤلفه اصلی (شکل ۳) و نمودار خوشه‌ای (شکل ۲)، پراکنش ارقام در صفحه مختصات دو مؤلفه

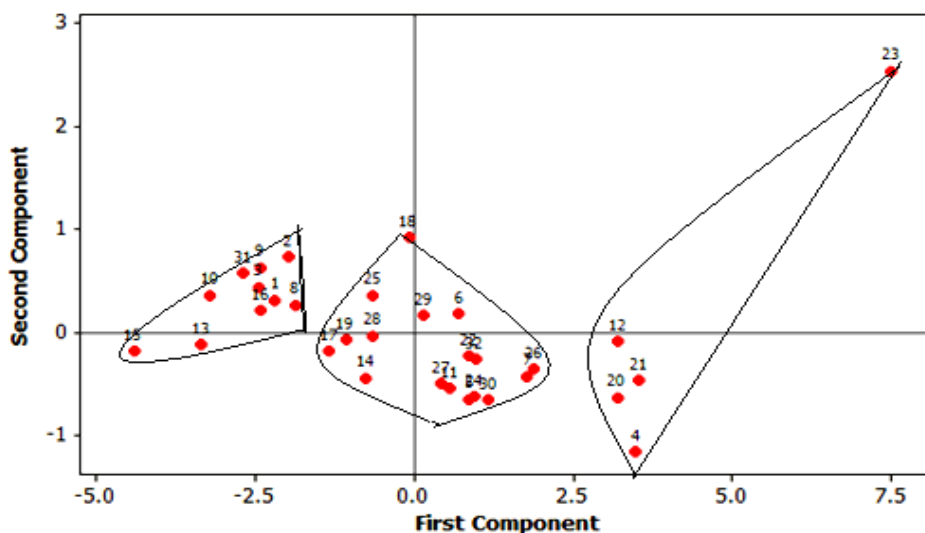
ک توده‌های ایزابل و شادگانی ۲ بیشترین فاصله (۲۷/۲۱) و توده‌های بهار و جارجو (۰/۲) نیز کمترین فاصله را برای صفات بررسی شده داشتند. همچنین گروه اول و دوم بیشترین فاصله (۱۴/۶۳) را داشتند (جدول ۴) که می‌توان از این توده‌ها به‌منزله والدین تلاقی برای دستیابی به هتروزیس مناسب برای صفات مورد نظر استفاده کرد.

دوبعدی مؤلفه‌های اصلی فاصله نسبتاً بالایی با سایر ژنوتیپ‌های گروه اول داشت که احتمالاً به این دلیل باشد که مؤلفه اول حدود ۹۰ درصد از کل تغییرات را توجیه می‌کند و منجر می‌شود که این ژنوتیپ در فاصله بیشتر نسبت به سایر توده‌های هم‌گروه قرار گیرد.

اصلی اول و دوم (نمایش دوبعدی) با دندروگرام مطابقت داشت. اما همان‌طور که مشاهده می‌شود، با توجه به اینکه توده ایزابل که یک رقم خارجی است و به‌منزله شاهد در آزمایش استفاده شد براساس نتایج حاصل از گروه‌بندی توده‌ها در گروه اول قرار گرفت اما در نمایش

جدول ۵. بردارهای مشخصه، ریشه‌های مشخصه، واریانس‌های توجیه‌شده نسبی و تجمعی در دو مؤلفه اصلی اول

متغیرها	مؤلفه اول	مؤلفه دوم
پراکسیداز	۰/۳۷	۰/۱۶
پلی‌فنل اکسیداز	۰/۳۹	-۰/۱۲
فنل کل	۰/۳۶	-۰/۴۹
کاتالاز	۰/۳۸	-۰/۱۸
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۳۹	-۰/۱۲
AUDPC	-۰/۳۳	-۰/۸۱
شدت بیماری	-۰/۳۹	-۰/۰۶
مقادیر ویژه	۶/۳۱	۰/۴۴
واریانس نسبی	۰/۹۰	۰/۰۶
واریانس تجمعی	۰/۹۰	۰/۹۶



شکل ۳. بای پلات ۳۲ ژنوتیپ خربزه و طالبی برای صفات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل کل، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و شدت بیماری در پاسخ به پژمردگی آوندی فوزاریومی

نتیجه‌گیری کلی  
به‌طورکلی، نتایج این پژوهش نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان ترکیبات فنلی، به‌منزله پنج عامل اساسی دفاع بیوشیمیایی در برهم‌کنش توده‌های مختلف خربزه و طالبی با عامل پژمردگی آوندی افزایش می‌یابند.

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌های ایرانی خربزه و طالبی مانند زرد ایوانکی ۱، جاپالیزی ۱ و مگسی با توده خارجی ایزابل که به‌منزله شاهد مقاوم در این آزمایش به کار رفت در یک گروه قرار گرفتند که با پژوهش‌های بیشتر بر روی این توده‌ها می‌توان از آنها به‌منزله جمعیت‌های پایه بومی مقاوم به عامل پژمردگی آوندی فوزاریومی استفاده کرد.

## 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, 589-596.

2. Anand, T., Raguchander, T., Karthikeyan, G., Prakasam, V. & Samiyappan, R. (2007). Chemically and biologically mediated systemic resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) against *Pseudoperonospora cubensis* and *Erysiphe cichoracearum*. *Phytopathologia Mediterranea*, 46, 259-71.
3. Banihashemi, Z., 1968. 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, 114p, USA.
4. Banihashemi, Z., 1982. A new physiological race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* in Iran. *Iranian Journal Plant Pathology*, 18, 1-4. (In Farsi).
5. Banihashemi, Z. & Dezeeuw, D. J. (1975). The behavior of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in the presence and absence of host plants. *Phytopathology*, 65, 1212-1217.
6. Baek, K. H. & Skinner, DZ. (2003). Alternation of Antioxidant Enzyme Gene Expression during Cold Acclimation of Near-Isogenic Wheat Lines. *Plant Science*, 165, 1221-27.
7. Behruzian, M. (1997). Effect Puccinia striiformis on some physiologic, biochemical and histological phenomenon of two wheat cultivars. Ph.D. Thesis. Tarbiat Modares University, 199p, IRAN.
8. Bradford, M. M. (1976). A rapid and susceptible method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annal Biochemistry*, 72, 248-54.
9. Bruce, R. J. & West, C. A. (1989). Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor bean. *Plant physiology*, 91, 889-897.
10. 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, 463-468.
11. 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. 161-202.
12. Charmet, G., Balfourier, F. & Bion, A. (1990). Agronomic evaluation of a collection French perennial rye grass populations multivariate classification using genotype  $\times$  environment interactions. *Agronomic*, 10, 507-523.
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. Dehdari, A., rezaie, A. & Mili, M. (2002). Study of optical characteristics, crop and grouping of genotypes of Iran.onoin. *Science and Technology of Agriculture and Natural Recourses Esfahan*, 5, 111-123. (In Farsi).
15. De Vecchi, L. & Matta, A. (1988). An ultrastructural and cytochemical study of proxidase, polyphenoloxidases and phenols in xylem of tomato plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* or *melonis*. *Caryologia*, 42, 103-114.
16. Falconer, D. S. & Mackay T. F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. Fourth edition. Addison Wesley Longman, Harlow, Essex, UK. pp. 406.
17. Frik, W. (1976). The inherent dynamics of radiological diagnosis and ways of controlling it. *RöFo: Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin*, 124(2), 161.
18. García-Limones, C., Hervás, A., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, RM. & 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, 325-337.
19. 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, 357-364.
20. Giannopolitis, CN. & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology*, 59, 309-314.
21. Goodman, R. N., Király, Z. & Wood, K. R. (1986). *The biochemistry and physiology of plant disease*. University of Missouri Press. 433 pp.
22. Kahn, V. (1975). Polyphenol oxidase activity and browning of three avocado varieties. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 26, 1319-1324.
23. Khan, M. & Panda, S. (2008). Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 81-89.
24. Kosuge, T. (1969). The role of phenolics in host response to infection. *Annual review of phytopathology*, 7, 195-222.
25. Krahl, K. H., Lansari, A. & Lezzoni, A. F. (1991). Morphological variation within a sourcherry collection. *Euphytica*, 52, 47-55.
26. Lee, J. M. (2003). Cultivation of grafted vegetables L. Current status, grafting methods, and benefits. *HortScience*, 29, 235-239.

27. Macko, V., Woodbury, W. and Stahmann, M. (1968). The effect of peroxidase on the germination and growth of mycelium of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, 58, 1250-1254.
28. Madadkhah, E., Lotfi, M., Nabipour, A., Rahmanpour, S., Banihashemi, Z. & Shoorooei, M. (2012). Enzymatic activities in roots of melon genotypes infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1. *Science Horticulture*, 135, 171-176.
29. 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, 56-61.
30. Mas, P., Molot, P. M. & Risser, G. (1981). *Fusarium wilt of muskmelon*. In: *Fusarium, Disease, Biology and Taxonomy* ed. Nelson, P. E., Toussen, T. A. and Cook, R. J. Pennsylvania state university press. pp169-177, USA.
31. Minitab (2007). Minitab 15. Users Guided. Pennsylvania, USA.
32. Mohammadi, S. A., & Prasanna B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants: Salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43, 1235-1248.
33. 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, 262-77.
34. Morkunas, I. & Gemerek, J. (2007). The possible involvement of peroxidase in defense of yellow lupin embryo axes against *Fusarium oxysporum*. *Plant Physiology*, 164, 497-506.
35. Namiki, F., Shiomi, T., Nishi, K., Kayamura, T., Tsuge, T., 1998. Pathogenic and genetic variation in the Japanese strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Phytopathology*, 88, 804-810.
36. Patykowski, J., Urbanek, H. & Kaczorowska, T. (1988). Peroxidase Activity in Leaves of Wheat Cultivars Differing in Resistance to *Erysiphe graminis* DC. *Journal of Phytopathology*, 122, 126-134.
37. Peeters, J. P. & Martinelli, J. A. (1989). Hierarchical clustering analysis as a tool to manage variation in germplasm collection. *Theoretical and Applied Genetics*, 78, 42-48.
38. Perchepped, L. & Pitrat, M. (2004). Polygenic inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* race 1.2 in melon. *Phytopathology*, 94, 1331-1336.
39. Pitrat, M. (2002). Gene list for Melon. CGC. NCSU. USA.
40. Rahai, M., Seadtabatabaie, A., Shah Nejat Busheri, A. A., Abdemishani, S. & Malboobi, M. A. (2004). RFLP using the techniques to assess genetic diversity in canola. *Seed and Plant Improvement Journal*, 19, 469-481. (In Farsi).
41. Risser, G. & Rode, J. C. (1973). *Breeding for resistance to Fusarium oxysporum f. sp. melonis*. In: *Euphytica " La sélection du melon*. Montfavet-Avignon. Fr. Pp 37-39
42. SAS Institute (1996). SAS/STAT Users Guide. SAS Inst., Cary.
43. Sestili, S., Campanelli, G., Ferrari, V., Belisario, A., Papa, R. & Ficcadenti, N. (2005). Development of molecular markers linked to the resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1,2w in melon. Proc. XLIX Italian Society of Agricultural Genetics. Annual Congress. Potenza, Italy. Pp. 25.
44. Shafagh, N., Falahati Rastegar, M. & 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 province. *Research Journal of Biological Sciences*, 3 (7), 790-793.
45. Sherf, A. F. & MacNeb, A. A. (1986). *Vegetable disease and their control*. A Wiley Interscience Publication, John Wiley and Sons. New York. 728 pp.
46. Steiner, U. & Schönbeck, F. (1995). Induced disease resistance in monocots. Induced resistance to disease in plants. *Dordrech: Kluwer Academic publisher*, 4, 86-110
47. 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, 63-68.
48. Uritani, I. (1965). Molecular pathology in the plant field with special regard to defence action of the host. Deut. Akademic. Landwirtschaftswiss. Berlin DDR. *Tagungsber*, 74, 201-218.
49. Wallace, G. & Fry, S. C. (1994). Phenolic components of the plant cell wall. *International review of cytology*, 151, 229-268.
50. 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.
51. Yan, W. & Kang, M. S. (2003). GGE Biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders, Geneticists, and Agronomists. CRC press, Boca Raton, FL, USA.
52. Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y. & Chet, I. (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil*, 235, 235-242.