وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

موسسه تحقیقات علوم باغبانی

پژوهشکده سبزی و صیفی

دستنامه

سازوکار معرفی رقم مقاوم به بیماری پژمردگی آوندی خربزه و طالبی

نگارش:

رامین رافضی، محسن خدادادی و رامین حاجیان فر

تابستان ۱۳۹۷

شماره ثبت:

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی

پژوهشکده سبزی و صیفی

دستنامه

سازوکار معرفی رقم مقاوم به بیماری پژمردگی آوندی خربزه و طالبی

نگارش:

رامین رافضی

محسن خدادادی

رامین حاجیان فر

تابستان ۱۳۹۷

شماره ثبت:

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

موسسه تحقیقات علوم باغبانی

پژوهشکده سبزی و صیفی

- عنوان دستنامه : سازوکار معرفی رقم مقاوم به بیماری پژمردگی آوندی خربزه و طالبی
- نام و نام خانوادگی نگارنده گان: رامین رافضی ، محسن خدادادی، رامین حاجیان فر
- ناشر (موسسه / مرکز ملی): مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی
- شمارگان(تیراژ): ۲۰ نسخه
- تاریخ انتشار:تابستان ۱۳۹۷

فهرست

عنوان | صفحه

مقدمه..... ۱

رده‌بندی گیاهی..... ۳

معرفی بیماری پژمردگی آوندی (پژمردگی فوزاریومی) خربزه و طالبی..... ۵

اهمیت بیماری..... ۷

علایم بیماری..... ۱۰

روش‌های کنترل بیماری..... ۱۲

مکانهای مقاومت و نژادهای بیماری..... ۱۵

برنامه‌های افزایش مقاومت..... ۱۹

شناسایی نژاد های عامل بیماری..... ۲۰

اثبات بیماری زایی..... ۲۱

تعیین فرم اختصاصی..... ۲۱

تعیین نژاد..... ۲۳

ارزیابی مقاومت‌های تک ژنی (Fom_1 و Fom_2)..... ۲۵

اثر محیط روی علائم بیماری و استفاده از نشانگر های DNA ۲۶

گزینش به کمک نشان گر ها..... ۲۹

نحوه امتیازدهی به علایم بیماری از روی فنوتیپ (ارزیابی فنوتیپی)..... ۳۳

مسئله ژنهای R..... ۳۶

رفتار پیچیده نژاد ۲-۱..... ۳۷

QTL ها و نژاد ۲-۱..... ۳۹

جمع‌بندی و نتیجه‌گیری..... ۴۳

فهرست منابع..... ۴۵

مقدمه

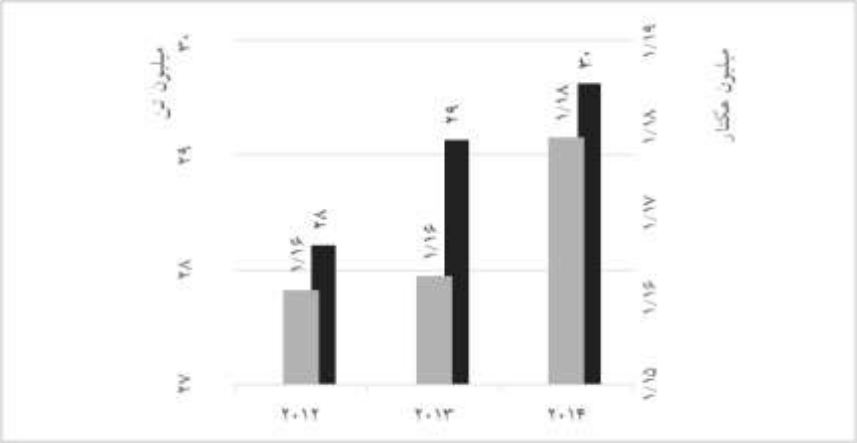
اهمیت سبزی در ایران

به دلایل زیر، موقعیت کنونی سبزی‌ها را در ایران می‌توان یک موقعیت ممتاز نامید:

- کشور ایران یکی از خاستگاه‌ها یا نواحی مهم تنوع در سبزی‌هایی مانند ملون‌ها یا تره‌ی ایرانی بوده است.
- شرایط آب هوایی ایران اجازه‌ی تولید پیوسته‌ی سبزی‌ها را در کشور فراهم می‌کند. علاوه بر آن، امکان تولید مستمر سبزی‌ها در طول سال با استفاده از گلخانه یا محیط‌های کنترل‌شده در سالیان اخیر به نحو مطلوبی در کشور فراهم شده است.
- سطح زیر کشت سبزی و صیفی، این محصولات را پس از غلات در مقام دوم قرار می‌دهد. بطوریکه سبزی‌ها از مهم‌ترین تولیدات اقتصادی کشور محسوب می‌شوند.
- با تولید محصولات سبزی و صیفی، سایر بخش‌های کشاورزی و صنعتی در زمان کوتاه قابل فعال شدن می‌باشند، همانند صنایع بسته‌بندی، حمل‌ونقل، صنایع دارویی و صنایع آرایشی که درمجموع گردش مالی قابل‌توجهی را شامل می‌شود. ازآنجاکه این گردش مالی متمرکز نبوده و در سطوح کوچک و به‌صورت پراکنده در تمام نقاط کشور توزیع شده است، به‌اندازه فرایندهای متمرکز اقتصادی موردتوجه قرار نمی‌گیرد.
- سبزی و صیفی در کشت‌های مخلوط، کشت‌های توأم و نظام‌های تولید زراعی و باغی در کشور دارای نقش چشم‌گیر می‌باشند.
- سبزی‌ها در سلامت جامعه انسانی در کشور نقش غیرقابل‌انکاری دارند. مصرف سرانه سبزی‌ها با سطح سلامت جامعه انسانی در هر ناحیه جغرافیایی همبستگی مثبت و معنی‌دار داشته و مصرف بالای سبزی‌ها در کشور یکی از ارکان سلامت جامعه را تشکیل می‌دهد.

موقعیت‌های اقتصادی

بذر و میوه‌ی شمار شایان توجهی از گیاهان تیره‌ی کـدوییان (*Cucurbitaceae*)، در گـروه سـبزی‌هـا قرارگرفته و مصارف خوراکی، دارویی و آرایشی دارند. گردش مالی درخـور توجـه در تجـارت بـذر و میوه این تیره، اهمیت اقتصادی آن‌ها را نشان می‌دهد. تجارت بسیار پرسودی در بازار بـذر و میـوه ایـن جنس حاکم است. خربزه و طالبی (*Cucumis melo* L. ssp. *melo*, 2n=2x=24) در حال حاضر یکـی از سبزی‌های مهم جهان تلقی می‌شود. شکل (۱) وضعیت تولید و سطح زیـر کشـت را در بـازه زمـانی ۲۰۱۲ تا ۲۰۱٤ نشان می‌دهد.



شکل ۱. میزان تولید و سطح زیر کشت جهانی **خربزه و طالبی طی سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱٤** (FAO, 2017)

جمهوری خلق چین با افزایش سطح زیر کشت طی سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱٤ به حدود چهل درصد از سطح زیر کشت جهانی ملون‌ها[1]، نیمی از کل محصول جهان را تولید می‌کند. جمهوری اسلامی ایران ازنظر میزان تولید و سطح زیر کشت پس ازجمهوری ترکیه در جایگاه سوم جهانی قرار می‌گیرد (جدول ۱). درایران، استان خراسان رضوی با بیش از سی‌وپنج هزار هکتار هزار هکتار سطح زیر کشت، ۵۷۳۰۰۰ تن

[1] در متن حاضر ، واژه بیگانه ملون (Melon) به مجموعه خربزه ها و طالبی ها اطلاق می گردد و به معنی میوه هایی از گونه melo که جدیدا در کشور مورد کشت و زرع قرار گرفته اند و به این نام مشهور و معروف شده اند، بکار برده نشده است. بنا بر این خواننده باید در نظر داشته باشد که واژه بیگانه ملون به تمامی میوه های گونه *C. melo* اطلاق شده است

(۳۷/۵ درصد) از کل خربزه کشور را به خود اختصاص داده است (بی‌نام، ۱۳۹٤). استان‌های سیستان و بلوچستان و خوزستان در رتبه‌های بعدی هستند. بالاترین عملکرد متعلق به استان قزوین با حدود ۳۵ تن در هکتار است. یکی از عوامل تأثیرگذار برافزایش سطح زیر کشت خربزه و طالبی در دشت قزوین از سال ۱۳۸۰ تاکنون، خسارت ناشی از گسترش بیماری‌های خاک زاد در استان‌های نزدیک تولیدکننده خربزه نظیر سمنان بوده است.

جدول ۱. سطح زیر کشت (هکتار) و میزان تولید (تن) خربزه و طالبی طی سالهای ۲۰۱۲ تا ۲۰۱٤ و سهم هر یک از سه کشور عمده تولید کننده (درصد) (FAO,2017)

کشور	۲۰۱۲		۲۰۱۳		۲۰۱۴	
	سطح زیر کشت	میزان تولید	سطح زیر کشت	میزان تولید	سطح زیر کشت	میزان تولید
جمهوری خلق چین	۴۱۰۳۷۰ (۳۵/۳۵٪)	۱۳۳۱۵۸۳۰ (۴۷/۲٪)	۴۲۳۱۰۰ (۳۶/۴٪)	۱۴۳۳۸۰۰ (۴۹/۲٪)	۴۳۸۹۰۰ (۳۷/۲۳٪)	۱۴۷۵۲۰۰۰ (۴۹/۷۹٪)
جمهوری اسلامی ایران	۷۷۱۴۲ (۶/۶۴٪)	۱۴۳۷۶۸۸ (۵/۱٪)	۷۶۹۷۷ (۶/۶۲٪)	۱۴۵۷۲۴۵ (۵٪)	۷۶۸۱۶ (۶/۵۲٪)	۱۴۷۶۸۰۱ (۴/۹۸٪)
جمهوری ترکیه	۱۰۲۰۰۰ (۸/۷۹٪)	۱۷۰۸۴۱۵ (۶/۰۶٪)	۱۰۱۵۰۰ (۸/۷۳٪)	۱۶۹۹۵۵۰ (۵/۸۳٪)	۱۰۱۰۰۰ (۸/۵۷٪)	۱۷۰۷۳۰۲ (۵/۷۶٪)

رده‌بندی گیاهی

سابقاً گونه ی *Cucumis melo* به ده زیرگونه تقسیم می‌شد که برای اطلاع خوانندگان، شکل میوه آن‌ها در این متن آورده شده است(شکل ۲). چانگ[1] و همکاران (۲۰۰٦)، (نقل از استاب[2] و همکاران،۲۰۰۸) ، تمامی زیرگونه‌های گونه ی*melo* را در دوزیرگونه بزرگ *melo* و *agrestis* طبقه‌بندی نمودند (شکل۲).

شکل ۲. تاکسونومی گیاهان تیره کدوئیان (نقل از استاب و ونر، ۲۰۰۸)

1 . Chung, S. M.
2 . Staub, J.

سپس، بر اساس مقاله چانگ (۲۰۰٦) و ملاحظه تمامی شواهد موجود، در کنگره ی استانداردسازی تیپ‌های تجاری ملون‌ها که توسط سازمان توسعه و همکاری‌های تجاری[1] (OECD) برگزار شد، طبقه‌بندی به‌صورتی که درجدول (۲) دیده می‌شود ، پذیرفته شد.

جدول ۲. گروه‌های گیاه‌شناسی ملون‌ها بر اساس رده‌بندی پذیرفته‌شده، با در نظر گرفتن زیرگونه و واریته

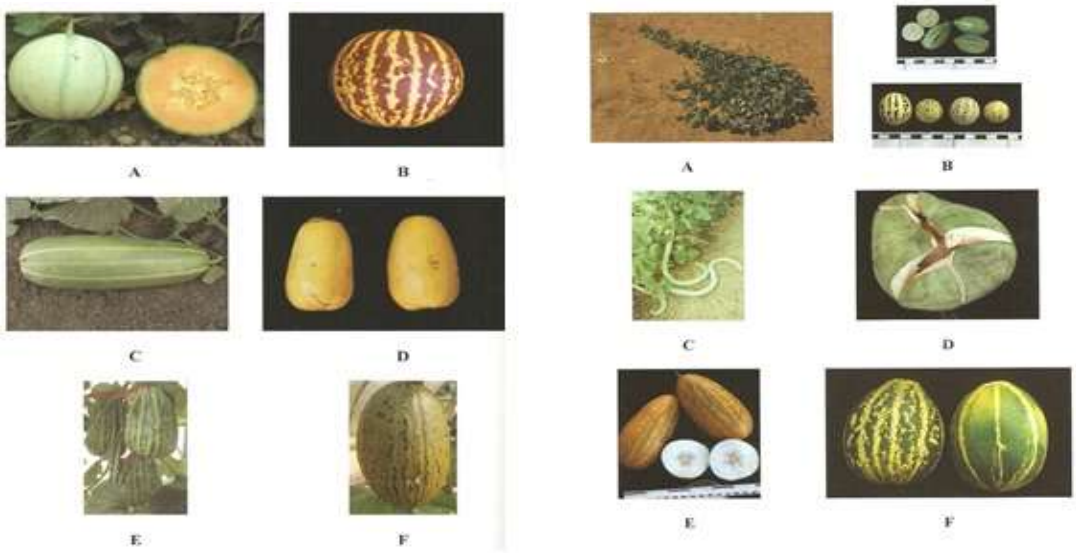
گونه:*Cucumis . melo* L.	زیرگونه : *agrestis*	زیرگونه : *melo*
شیرین هستند	*makuwa, chinensis*	*adana, ameri, cantalopensis, chandalak, reticulatus, inodorus*
شیرین نیستند	*acidulous, conomon, momordica,*	*chate, flexusus, tibish*
معطر هستند		*dudaim*

بررسی شباهت‌های ژنومی در هسته و کلروپلاست تیره ی کدوییان و تجزیه ی کلاستر بر اساس این شباهت‌ها (رنر[2] و همکاران، ۲۰۰۷) تائید کرد که گونه ی *C. melo* می‌تواند به دو زیرگونه ی *C. melo* subsp. *melo* و *C. melo* subsp. *agrestis* تفکیک شود. این مطلب که همه ی خربزه هارا متعلق به یک زیرگونه خاص نظیر *inodorus* بدانیم درست نیست. به‌عنوان‌مثال خربزه‌های PI 161375 و PI 255478 که متعلق به کشور چین و کره هستند، در زیرگونه *chinensis* قرار می‌گیرند. درحالی‌که خربزه‌های MR-1 در گروه *inodorus* قرار گرفته و PI 414723 به گروه *momordica* تعلق دارند. در خصوص خربزه و طالبی ایرانی، خربزه ایوانکی (جلالی) متعلق به گروه *inodorus* است در حالی که طالبی سمسوری به گروه *cantalopensis* تعلق دارد.

اگرچه شرق آفریقا قاره به‌عنوان خاستگاه خربزه پذیرفته‌شده و هم‌اکنون نیز انواعی از خربزه‌های وحشی در آفریقا رشد می‌کنند .. میوه دئر ملونها اشکال متفاوت دارند و متعلق به زیر گونه ها یا واریته های متفاوت هستند (شکل ۳)، بااین‌حال ملونها در مراکز تنوع متعددی گسترش و تکامل پیداکرده‌اند. بخش مرکز تنوع

1 . Organization for Economic Cooperation andDevelopment
2 . Renner, S. S.

عمده در آسیا و مراکز کم‌اهمیت‌تر در شرق دور و جنوب اروپا بوده است. شاید به جرات بتوان فلات ایران را مهم‌ترین مرکز تنوع ثانویه ملون‌ها نامید. پیترا (۲۰۰۸) رویشگاه‌ها و نواحی گسترش خربزه ها در جهان را گزارش کرده است.



شکل ۳. شکل میوه در واریته های زیر گونه های *melo* و *agrestis*. سمت راست، A و B ، بوته و میوه خربزه وحشی (*C. melo subsp. agrestis*) که اجداد خربزه های کنونی هستند (شرق افریقا).شکل C : *C. melo var flexcuocus* که در ایران بنام خیار چنبر می شناسیم. D: *C. melo var momordica* ، E : *C. melo var acidulus* ، F : *C. melo var tibish* . سمت چپ، A : *C. melo subsp. melo* .C *C.melo subsp. melo var dodaim* :B *subsp. melo var cantalopensis* cultigroup **charentais *C.melo subsp.* :F: *C.melo subsp. melo var chinensis* :E *C.melo subsp. melo var makuwa* :D *var conomon* *melo var inodorus* cultigroup **Piel de sapo** . تعداد زیادی از خربزه های تجاری کشور متعلق به واریته هستند که از معروف ترین آنها می توانیم به خربزه زرد ایوانکی (جلالی) اشاره کنیم**

درمجموع می‌توان اعلام کرد که اهمیت زراعی خربزه های بومی کشور (و البته به‌طورکلی موضوع سبزی‌ها)، بسیار بکر باقی‌مانده است ، درحالی‌که حرکت به سمت پویا کردن بازارهای سبزی و صیفی با تکیه بر برنامه‌های به زراعی و به‌ویژه به نژادی ، گردش مالی بزرگی را در بخش کشاورزی ایجاد خواهد نمود.

بیماری پژمردگی آوندی (پژمردگی فوزاریومی) خربزه و طالبی

بیماری پژمردگی فوزاریومی خربزه که به آن پژمردگی آوندی نیز اطلاق می‌گردد (پرچپید[1] و پیترا[2]، ۲۰۰٤)، برای نخستین بار از ایالت‌های نیویورک و مینه سوتا گزارش شد (اعتباریان، ۱۳۷٦) و توسط استارجس[3] (نقل از بنی‌هاشمی[4]، a ۱۹٦۸) ، شناسایی گردید. عامل این بیماری یک قارچ ناقص خاک زاد به نام :

Fusarium oxysporum Schlechtend. :Fr. f. sp. *melonis* .(Leach & Currence) W. C. Snyder & H. N. Hans

است که به‌اختصار *Fusarium* f. sp *melonis* یا FOM نامیده می‌شود. این آغاز چالش جدی محققین با بیماری پژمردگی فوزاریومی بود. بعدها در سال ۱۹٤۵ نژاد دوم این بیماری از غرب کالیفرنیا و شمال انتاریو در کانادا گزارش شد. در سال ۱۹۸۵ نژاد یک این بیماری از مریلند و در سال ۱۹۸۷نژاد صفر آن از تگزاس نیز گزارش گردید. در نهایت مشخص شد که نژاد غالب در ایالات‌متحده نژاد دوم این بیماری است (اعتباریان، ۱۳۷۷). این بیماری در مناطق مختلف دنیا انتشارداشته وازعوامل محدودکننده ی کشت خربزه و طالبی (ملونها) در سطح جهانی است (ماس[5] و همکاران، ۱۹۸۱و مارتین[6] و گوردون[7]، ۱۹۹٦). گزارش‌های این بیماری از اروپا (بلیزاریو[8] و همکاران، ۲۰۰۰)، امریکای شمالی و مرکزی (زونیگا[9] و همکاران، ۱۹۹۷)، آسیا (بنی‌هاشمی، a ۱۹٦۸ ، بنی‌هاشمی ، b ۱۹٦۸ ، بنی‌هاشمی،۱۹۸۲ و ارزه روم[10] و همکاران، ۱۹۹۹) و آفریقا (شرودر[11] و همکاران، ۲۰۰۰) ارایه شده است. پونجا[12] و همکاران (۲۰۰۱) نیز

---

[1] Perchepied, M.
[2] Pitrat, M.
[3] Sturgis, W. C.
[4] Banihashemi, Z.
[5] Mas, P.
[6] Martyn, R. D.
[7] Gordon, T. R.
[8] Belisario, A.
[9] Zuniga, T. L.
[10] Erzurum, K.
[11] Schreuder, W.
[12] Punja, Z. K.

این بیماری را مجدداً از کانادا گزارش و تعیین نژاد نمودند. این بیماری در ایران بـرای اولـین بـار از مـزارع خربزه مشهد گزارش و تعیین نژاد گردید (بنی‌هاشمی، b ۱۹٦۸). سپس عامل بیماری ازروی طالبی در فارس (بنی‌هاشمی ،b ۱۹٦۸) و در سال ۱۳٦۸ از خربزه‌های گرمسار جدا گردید (بنی‌هاشمی،۱۹۸۲). در ایران نژاد ۱ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی از خربزه‌های گرمسار و مشهد و نژاد ۲-۱ از کشـت‌هـای نمونـه هـای آلوده خربزه در استان فارس جدا شد. گزارش‌ها نشان می‌دهد که نژادهای بیماری‌زای این بیمـارگردر ایـران شامل نژاد ۱ (در منطقه گرمسار) و نژاد ۲-۱ (در استانهای فارس و اصفهان) هستند (بنی‌هاشمی، ۱۹۸۹).

اهمیت بیماری

تجارت بذر و میوه خربزه و طالبی، جزو فعالیت‌های پرسود کشاورزی در ایران تلقی می‌شـود کـه بـازار بسیار فعال و با گردش مالی بالا بر آن حکم فرماست. این بازار با تعدادی بیماری تهدید می‌شود. ملون‌ها به تعدادی از بیماری‌ها حساس هستندکه می‌توانند کمیت و کیفیت ایـن محصـول را کـاهش دهنـد. پژمردگـی فوزاریومی بیماری شایعی در دنیا و درایران می باشد. شاید شیوع آن در سال‌های همه‌گیری، با بیماری‌هـای ویروسی که پس از سال ۲۰۰۰ میلادی در کشور گزارش شدند، قابل‌مقایسه باشد. گروه تحقیقـاتی مشـترک Iran-Inra در سال ۲۰۰۰ میلادی نمونه‌هایی از خربزه‌هـای مشـکوک بـه آلـودگی‌هـای ویروسـی را مـورد ارزیابی دقیق قراردادند که نتیجه بسیار نگران‌کننده بود. اما اهمیت بالای بیماری های ویروسی در ملـون‌هـا، اهمیت بیماری پژمردگی فوزاریومی را کاهش نمی‌دهد. علل اهمیت بیماری پژمردگی فوزاریومی را می‌تـوان به‌صورت زیر خلاصه نمود:

۱. خسارت این بیماری در سال‌های همه‌گیری معمولاً بسیار شدید است و دامنه گسترش این خسارت تمامی نواحی کشت خربزه و طالبی در تمام جهان را دربرمی گیرد (ماس[1] و همکاران، ۱۹۸۱ و مارتین[2] و گوردون، ۱۹۹٦). در نواحی مرکزی ایالت مینه سوتا ، خسارت از ۹۰ تا ۱۰۰ درصد گزارش‌شد. در ایران ، در سال‌های همه‌گیری خسارت بیماری به صد درصد می‌رسد. به‌طور متوسط خسارت این بیماری در کشت ملون‌ها بین ۲۰ تا ۸۰ درصد برآورد شده است. عامل بیماری به گیاه خیارچنبر (که جزو زیرگونه *melo* است) نیز حمله می‌کند، ولی گیاهانی مثل هندوانه یا کدو در دامنه میزبانی آن قرار نمی‌گیرند. ذاکری و بنی‌هاشمی (۱۳۷۰) با استفاده از محیط کشت نیمه اختصاصی PDA ، قارچ *F. oxysporum f. sp melonis* را از ریشه سیب‌زمینی (*Solanom tuberosum*) ، یونجه (*Medicago sativa*) ، علف‌های هرز شیرین‌بیان (*Glycirrhiza glabra*) و خارشتر (*Alhagi camelorum*) جدا کردند. این بررسی نشان داد که عامل بیماری به‌صورت کلامیدوسپور در تناوب با گیاهان غیر میزبان نیز در خاک باقی می‌ماند. گوردون و همکاران (۱۹۸۹)، نیز گزارش مشابهی را ارایه نمودند. اگرچه در این بررسی عامل بیماری از ریشه‌های گیاهانی نظیر آفتابگردان، ذرت ، گندم ، گوجه‌فرنگی، یا علف‌های هرزی نظیر سلمه تره ، علف باغ، ترشک و پیچک صحرایی جدا نشد. عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی می‌تواند به مدت ده‌ها سال به‌صورت کلامیدوسپور در خاک باقی بماند(کان وی[3]، ۱۹۹٦). به‌طوری‌که حتی پس از ۱۲ ماه از آلودگی از گیاهان آلوده جداسازی شده است(سوارزاسترلا[4] و همکاران، ۲۰۰٤). فرم مقاوم کلامیدوسپور سبب می‌شود تا عامل بیماری در ریشه گیاهانی که در تناوب با خربزه و طالبی قرار

1. Mas, P.
2 . Martyn, R. D.
3 . Conway, K. E.
4 . Suares-Estrella, F.

می‌گیرند کلـونیزه شـوند(بنی‌هاشـمی و دوزیـو[1]،۱۹۷۵، گـوردون و همکـاران، ۱۹۸۹ و زونیگـا[2] و همکاران، ۱۹۹۷). ذاکری و بنی‌هاشمی (۱۳۷۰) قارچ عامل بیماری را از عمق ۷۰ سانتیمتری خـاک جدا کردند.

۲. ازآنجایی‌که علایم بیماری عمدتاً زمانی ظاهر می‌شود که بیش از یک تا دو هفته تـا زمـان برداشـت باقی نمانده است، بنابراین قسمت عمده هزینه‌های کاشت و داشت صرف شـده‌انـد. بـدین ترتیـب زمانی برای جلوگیری از افزایش خسارت مالی باقی نمی‌ماند.

۳. عامل بیماری قارچ خاک زاد است. با توجه به طبیعت پایای عامل بیماری در خاک و بـذر ، چرخـه بیماری می‌تواند تا چندین بـار تکـرار شـود (فـریمن،۲۰۰۱). عامـل بیمـاری بـا جابجـایی خـاک کشاورزی، بستر های کشت آلوده و ادوات کشاورزی و یا بقایای کشت در زمین های کشـاورزی ، همچنین بذر آلوده و حتی باد به سهولت و به‌سرعت در مناطق کشت گسترش می‌یابد. عدم رعایت بهداشت در مزارع برشدت همه‌گیری بیماری می افزاید.

٤. اندام‌های غیرجنسی این قارچ شامل میکرو کنیدی، ماکرو کنیدی، کلامیدوسپور و میسلیوم می‌توانند به‌عنوان اینوکولوم بیماری عمل نماید (آگریوس[3]، ۱۹۸۸) و این مسئله باعث مـی‌شـود تـا آلـودگی به‌سرعت گسترش پیدا کند. البته این ویژگی در بسیاری از قارچ های بیماری‌ها وجود دارد.

۵. تغییر نظام‌های تولید، عامل دیگر گسترش این بیماری در کشور بوده اسـت. کمبـود آب در کشـور، یک عامل محدودکننده برای نظام‌های تولید به‌ویژه در سبزی‌ها است. در سـال‌هـای اخیـر رویکـرد خوبی به سمت کاهش مصرف آب در کشت سبزی‌ها به دو روش صـورت گرفـت. اول در جهـت تغییر شیوه‌های آبیاری از روش‌های سطحی به روش‌های تحت‌فشار نظیر قطره‌ای یـا نـواری و دوم

---

1 . Dezeeuw, D.
2 . Zuniga, T. L.
3 . Agrios, J.

استفاده از مالچ‌ها. متأسفانه فن آوری های گفته شده بدرستی مدیریت نمی شدند. این امر باعث شد تا رطوبت در ناحیه اطراف ریشه[1] به نفع پاتوژنهای خاک زاد، افزایش یابد. سپس همه‌گیری‌های گسترده‌ای از پژمردگی فوزاریومی خربزه پس از استفاده از مالچ‌ها که عمدتاً از جنس پلاستیک بودند در کشور رخ داد. استفاده از مالچ، درصورتی‌که با مدیریت رطوبت در اطراف ریشه همراه نباشد، خسارت‌های شدید به بار می‌آورد.

علایم بیماری

علایم اولیه ی بیماری شامل زردی و پژمردگی گیاه است. خربزه گیاهی با چندین شاخه (لاله[2]) جانبی است. ازآنجاکه معمولاً تمامی لاله‌های فرعی در یک‌زمان درگیر نمی‌شوند، ظهور علایم پژمردگی دریک لاله فرعی یا یک طرف بوته، یکی از علایم شاخص این بیماری به شمار می‌رود. علایم بیماری برخلاف پژمردگی‌های ناشی از قارچ‌هایی نظیر فیتوفترا و پیتیوم، در سنین بالا در بوته‌ها ظاهر می‌شوند. شرایط بهینه فعالیت قارچ در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد است و فعالیت آن در دمای بالا تر از ۳۵ درجه ی سانتی‌گراد متوقف می‌شود (اعتباریان، ۱۳۷٦). در شرایط گلخانه ای و یا اتاق‌های رشد، ژنو تیپ‌های حساس در مدت یک هفته پس از تلقیح عامل بیماری به ریشه ها علایم بیماری را نشان می‌دهند که این زمان در ژنو تیپ‌های متحمل‌تر بسیار طولانی‌تر است. در برخی از موارد نیز معمولاً علایم برگی زارعین را متوجه بیماری می‌کند. به طوری که ممکن است این بیماری با بیماری های هوازاد اشتباه شود. (شکل‌های ٤ و ٥).

چرخه زندگی عامل بیماری

---

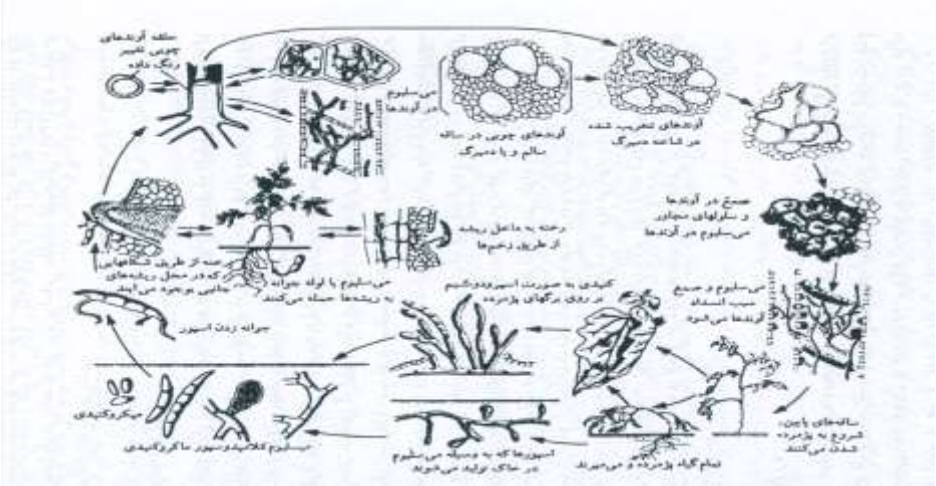
[1] . Rhyzosphere
[2] Vine

شکل (٦) چرخه ی عمومی فوزاریوم ها را نشان می‌دهد. بر اساس این چرخه، اینوکولوم عامل بیماری که می‌تواند هر اندامی از قارچ باشد، از محل زخم‌های ریشه نظیر محل قطع تارهای کشنده به ریشه واردشده و پس از رشد در آوندها آن‌ها را مسدود نموده و سبب خشکی گیاه در بخشی که آوند مسدود

شکل٤. علایم اولیه شامل آغاز پژمردگی روی بوته (راست)، مراحل پیشرفته و آغاز خشکی در لاله های فرعی (چپ).

شکل ٥. آخرین مرحله خسارت بیماری و مرگ کامل بوته در جمعیت جلالی گرمسار (راست) علایم برگی(چپ)

شده است می‌شود. نکته اینجاست که معمولاً زمانی علایم دیده می‌شوند که عامل بیماری کاملاً رشد کرده و آوندها تخریب شده‌اند.



شکل ٤. چرخه (عمومی) بیماری پژمردگی فوزاریومی(آگریوس،١٩٨٨)

روش‌های کنترل بیماری

هدف همه روشهای کنترل بیماری های خاکزاد ، از جمله پژمردگی آوندی خربزه عبارت است از کاهش جمعیت پاتوژن . روشهای کنترل متعدد هستند. هر یک از روشها در زمان مناسب، کارآمد هستند و در زمانها یا شرایط نامناسب بهره برداری کارایی خود را تا حد زیادی از دست می دهند و باعث تحمیل هزینه به تولید کنندگان خواهند شد. در این قسمت سعی می شود روشهای قابل بهره برداری در کشور بهمراه مزایا یا کاستی های آنها بررسی گردد:

۱. روش‌های کنترل زراعی : این روشها عموما در چرخه زندگی عامل بیماری اخلال ایجاد می‌کنند و می‌توانند شامل موارد زیر باشد:

۱-۱- توصیه‌های عمومی در جهت افزایش بهداشت مزارع نظیر عدم بهره‌برداری از آب‌هایی که از زمین های آلوده عبور می‌کنند.

۱-۲- رعایت آیش و تناوب با گیاهان غیر میزبان وکشت در زمان مناسب بطوریکه شرایط محیطی فعالیت عامل بیماری را محدود کند

۱-۳-مدیریت درست آبیاری وافزایش فواصل آبیاری به حداکثر زمان ممکن ، یا آفتاب دهی خاک در تابستان که به‌ویژه در سطوح کوچک گلخانه‌ها اقتصادی است.

۳. کنترل شیمیایی با سمومی نظیر متام سدیم یا کلروپیکرین یا متیل بروماید. اثرات کشنده این سموم روی انسان و دام، خطرات محیطی[1] و اثرات سوء جانبی آن‌ها برای ارگانیسم‌های غیر هدف[2] و هزینه‌های بالای آن بارها در منابع بحث شده و باعث شده است که این روش، در اولویت انتهایی شیوه های کنترل بیماری قرار گیرد. این سموم تنها و تنها زمانی که آلودگی بسیار شدید و غیرقابل‌کنترل است و تنها

---

[1] . Environmental hazards
[2] . Side effects for non targets

یک‌بار ممکن است در طول مدت چندین ساله تولید مورد بهره‌برداری قـرارگیرنـد. اغلـب ایـن سـموم تدخینی هستند و برای کشت های فضای باز با توجه به وسعت آن‌ها توصیه نمی‌شوند. البته در گلخانـه های فوق‌العاده آلوده می‌توان تنها یک‌بار برای دوره تولید چندین ساله از ایـن ترکیبـات اسـتفاده نمـود، مشروط بر اینکه کارشناسان قادر به انتخاب هیچ راهکار دیگری (حتی تغییر محصول و تنوع‌بخشی بـه کشت یا آیش یا تناوب) نباشند. سمومی نظیـر رورال تـی اس[1] یـا متالاکسـیل سـموم بسـیار مناسـبی هستندوممکن است در یک دوره کشت بارها مورداستفاده قرار گیرند. به هر حـال یـک سـم کـم‌خطـر، بی‌خطر نیست و باید تبعات آن را پذیرفت. علف‌کش‌هایی نظیر دی نیتروآنیلین نیز در کنترل این بیماری مؤثر هستند و شدت بیماری را از طریق افزایش مقدار اسید های آمینه آزاد در گیـاه کـاهش مـی‌دهنـد. روش‌های کنترل زیستی : در این روشها، بوته‌ها با سویه‌های غیـر بیمـاری زای *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ، تیمار می شوند. نظیر روشی که فریمن[2] و همکاران (۲۰۰۱)، ارایه کردنـد. ایشـان بـا تـابش UV بر روی نژاد وحشی و مهاجم قارچ توانستند دو نژاد جهش‌یافته غیر بیمـاری‌هـا از نـژاد ۲-۱ ایـن قارچ موسوم به ۱۵/۱۵ و ٤/٤ ایجاد کنند. تیمار گیاه‌چـه هـای خربـزه بـا سوسپانسـیون ایـن دو سـویه توانست آلودگی به فوزاریوم را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. روش دیگر، به‌کارگیری باکتری‌هـای آنتـا گونیست نظیر سـویه شـماره ۱۱۵ از گونـه *Stereptomyces olyvaceus* اسـت (شـهیدی بنجـر[3] و همکاران، ۲۰۰٦). پژوهش دیگر حاکی از بکار بردن سـویه غیـر بیمـاری‌هـای Fo 47 و کنتـرل موفـق بیماری است(آلابووت[4] و همکاران، ۱۹۸۰). دانگ[5] و کوهن[6]، ۲۰۰۱ هـم اعـلام نمـوده‌انـد کـه کـاربرد

---

1 . Reveral TS
2 . Freeman, S.
3 Shahidi Bonjar, G. H.
4 . Alabouvette, C.
5 . Dong, H.
6 . Cohen,Y.

گونه‌ای از قارچ پنی‌سیلین بنام *Pennicillium chrysogenum* می‌تواند مقاومت به قارچ پژمردگی فوزاریومی را در خربزه القا نماید.

این روش‌ها هنوز جایگزین مناسبی برای روش‌های شیمیایی نیستند زیرا:

۱-۳- بسیار پرهزینه بوده و در سطوح گسترده صرفه اقتصادی ندارند. ممکن است تنها در سطوح گلخانه‌ای کوچک و توسط تولیدکنندگان ریسک‌پذیر[1] که دارای بنیه اقتصادی قوی‌تری هستند مورداستفاده قرار گیرند

۲-۳- بکار گیری این گروه مواد، نیاز به تخصص بالای استفاده‌کنندگان دارد.

۳-۳- مواد زیستی، موجودات زنده هستند و برای فعالیت به شرایط محیطی مناسب نیاز دارند. به‌عنوان‌مثال نیاز به محیطی با مواد آلی بالا دارند که معمولاً در خاکهای ایران تأمین نمی‌شود. ازاین رو این گروه از مواد بیولوژیک در خاکهای ایران قادر به فعالیت بهینه نیستند. البته در سطوح کوچک نظیر گلخانه‌ها می‌توان با تأمین مواد آلی از طریق اضافه کردن کود دامی پوسیده یا کاهش pH خاک با ترکیبات اسیدی آلی نظیر اسید هیومیک در زمان مناسب از این مواد استفاده نمود و البته هزینه های نسبتاً قابل‌توجه آن را هم پذیرفت. شرایط رطوبتی و دهایی مناسب برای فعالیت این مواد نیز در کشت های فضای باز به‌راحتی قابل تأمین نیست. نتیجه اینکه در حال حاضرترکیبات بیولوژیک تنها با صرف هزینه های مرتبط و در شرایط گلخانه‌ای قابل توصیه هستند.

٤. پیوند ارقام حساس روی ریشه های کدو یا ملون‌های مقاوم: پیوند گیاه‌چه های جوان خربزه روی پایه حاصل از تلاقی دو گونه کدو (*Cucurbita maxima×C. moschata*) یا روی پایه های ملون نظیر

1 . Venture farmers

Dinero مقاومت خربزه را در برابر عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی افزایش می‌دهد (ماروکاوا[1]،۱۹۷۹). این روش برای کشت‌های فضای باز بسیار پرهزینه است. در سال‌های اخیر حرکت های خوبی در استفاده از نشای پیوندی آغازشده است. ریشه های یک‌پایه مناسب علاوه بر بیماری های خاک زاد، به تنش های غیر زیستی نظیر شوری یا خشکی نیز مقاوم هستند. در شرایط خاکهای ایران و با رویکرد تولید محصول سالم، با توجه به بهای مناسب حاکم بر میوه و بذر خربزه و طالبی ، استفاده از نشا های پیوندی توجیه اقتصادی پیدا می‌کند. بهترین شرایط استفاده از نشای پیوندی در کشت های گلخانه‌ای ملاحظه شده است.

۵. استفاده از ژنو تیپ‌های مقاوم، کم‌هزینه‌ترین و مطمئن‌ترین روش کنترل بیماری‌های گیاهی به شمار می‌رود (مارتین و گوردون، ۱۹۹٦). ایجاد مقاومت در یک ژنوتیپ مستلزم شناخت تیپ‌های بیماریزا و ژن‌های مقاومت است که ازاین‌پس به این موضوع می‌پردازیم.

مکانهای ژنی مقاومت و نژادهای بیماری

تا سال ۲۰۱۰ چهار نژاد برای عامل بیماری پژمردگی آوندی خربزه وطالبی (*Fusarium oxysporum f. sp. melonis*) پذیرفته‌شده بود که عبارتند از نژادهای صفر، یک، دو و یک-دو(ریسه[2] و همکاران ، ۱۹۷٦ و ماس و همکاران، ۱۹۸۱). در سال ۲۰۱۰ نژاد پنجم موسوم به *Fom 4* ، برای این بیماری پیشنهاد شد (اومولود[3] و همکاران، ۲۰۱۰) . مکان ژنی Fom_1 مقاومت به نژادهای صفر و دوی این بیماری را در گیاه سبب می‌شود درحالی‌که مکان Fom_2 سبب ایجاد مقاومت به نژادهای صفر و یک می‌شود. با هرمی کردن مکانهای Fom_1 و Fom_2 ، نژادهایی با سطوح مقاومت بسیار بالا به نژادهای صفر، یک و دو تولید و به بازار مصرف عرضه شده‌اند. مقاومت به نژاد یک-دو نظیر آنچه در مورد سه نژاد قبل گفته شد ساده نیست.

---

1 . Marukawa, S.
2 . Risser, G.
3 Oumouloud, A.

مقاومت به این نژاد خاص از نوع کمی است و مقاومت قطعی به این نژاد در هیچ‌یک از منابع علمی و در هیچ‌یک از جمعیت‌ها گزارش نشده است (پرچپید[1] و پیترا ، ۲۰۰٤ و سستیلی[2] و همکاران، ۲۰۰۵). مقاومت به نژاد یک–دو، به مقاومت به مکان های دیگر غالبیت دارد (پرچپید و همکاران، ۲۰۰۵) و بنابراین لاین های متحمل به نژاد یک–دو اساساً تحمل به سایر نژادها را نیز سبب می‌شود، درصورتی‌که عکس این قضیه امکان‌پذیر نیست. تحمل به این نژاد در جمعیت‌هایی از شرق دور (ریسه و رود[3]، ۱۹۷۳ و پرچپید و همکاران، ۲۰۰۵) و به‌ویژه در جمعیت موسوم به Ogon 9 (ریسه و رود۱۹۷۳) وجود دارد. نژاد یک – دوی این بیماری دو واریانت متفاوت دارد. یکی از واریانت ها که پس از ایجاد علایم زردی گیاه را می‌کشد، به واریانتy ۲–۱ موسوم است. این واریانت در کشور فعال است و از منطقه اصفهان و فارس گزارش‌شده است (بنی‌هاشمی،۱۹۸۲). واریانت y ۲–۱ ، واریانت شایع در فرانسه نیز هست (پرچپید و همکاران، ۲۰۰۵).

بدیهی است برای تعیین این نژادها ، به ارقام افتراقی(Differential Set) نیاز داریم. خوشبختانه ارقام متعددی برای تعیین نژاد در این بیمارگر ایجاد شده‌اند. ابتداریسر و همکاران (۱۹۷٦) اولین دسته ارقام افتراقی را به‌صورت جدول۳ پیشنهاد کردند.

1 . Perchepied, L.
2 . Sestili, S.
3 . Rode, J. C.

جدول ۳. ارقام افتراقی ریسه و همکاران(۱۹۷۵) برای تعیین نژاد قارچ Fusarium oxysporum f. sp. melonis . R : واکنش مقاومت، S : واکنش حساسیت.

Fusarium oxysporum f.sp. *melonis* races	Differential Cultivars and Resistance Genes			
	Charentais T	Isoblon (*Fom1*)	Isovac (*Fom2*)	Margot
0	S	R	R	R
1	S	S	R	R
2	S	R	S	R
1,2	S	S	S	S

S= susceptible (yellowing and death); R= resistant (no symptoms, healthy plants).

تا دهه ۸۰ میلادی، سه مکان ژنی برای کنترل بیماری قائل بودند که شامل مکانهای Fom_1 در لاین های دوبلون و ایزوبلون ، Fom_2 در CM 17187 و Fom_3 در لاین اینبردPerlita بود. جیکوپسن[1] و گوردون (۱۹۸۸) واکنش ٤ نژاد شناخته‌شده بیماری را روی پنج رقم افتراقی به‌صورتی که در جدول ٤ دیده می‌شود، بررسی نموده و نژادهای بیماری را مشخص کردند. مکان ژنی Fom_3 توسط زینک[2] و گوبلر[3](۱۹۸۵)

جدول ٤. گروهبندی نژاد های *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* بر اساس واکنش بیماری به کولتی وار های افتراقی *Cucumis melo* (جیکوپسن و گوردون،۱۹۸۸)

Races of *F. o.* f. sp. *melonis*	Differential cultivars and their gene for resistance				
	Charentais/T	Doublon (*Fom* 1)	CM 17187 (*Fom* 2)	Topmark	Perlita (*Fom* 3)[b]
Race 0	C[c]	I	I	C	I
Race 1	C	C	I	C	C
Race 2	C	I	C	C	I
Race 1,2[d]	C	C	C	C	C

C : سازگار (بیماری و مرگ گیاه)، I : ناسازگاری(عدم بیماری زایی)

توصیف شده بود. هم‌اکنون برای مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی دو مکان ژنی Fom_1 در لاین اینبرد دوبلون وFom_2 در لاین اینبرد CM 17187 در فرم غالب قایل هستند و Fom_3 موردتوجه قرار

1 . Jacopson, D. J.
2 . Zink, F. W.
3 . Gubler, W. D.

نمی‌گیرد. لاین حساس استانداردکه مکان هـای Fom_1 و Fom_2 را در فـرم مغلـوب دارد و بـه‌عنـوان رقـم افتراقی حساس به تمامی نژادهای این بیماری پذیرفته شده است، رقم شـارنته تـی (Charenteis T) نـام دارد. رقم Véderantais فرمی از شارنته تی است که تمامی ویژگی‌های شارنته را دارد و حامـل ژن Fom_1 است و در آزهایش های تعیین نژاد یـا پـژوهش هـای مبتنـی بـر نشـانگرهای مولکـولی بـه‌فراوانـی مـورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد. با توجه به فاصله زیاد ژنتیکی این پایه‌ها برنامه‌ای در INRA[1] تدوین شد که لاین های ایزوژنی از شارنته برای مکانهای ژنی *Fom* ساخته شود. درنتیجه ، لاین های اینبرد شارنته فوم یـک و شارنته فوم دو تولید شدند که لاین های تقریبا ایزوژن(Near Isogenic Lines)بـرای شـارنته تـی بودنـد. برنامه انتقال این تحمل به ارقام تجاری اروپا به همراه سایر برنامه‌های هرمی کـردن ژن‌هـا بـه معرفـی رقـم تجاری ویرگوس (Virgos) منجر شد. ویرگوس تنها به نژاد یک – دو حساس است. تحمل به نژاد یک–دو، با تلاقی بین لاین اینبرد Ogon 9 با رقم استاندارد شارنته تی و پیشرفت نسل‌ها و بـک کـراس تکمیلـی بـا شارنته تی انجام شد. واریته استاندارد حاصل بنام ایزابل نام‌گذاری شد و بدین ترتیب آخـرین مـاده گیـاهی لازم برای مجموعه ارقام افتراقی به شکل استاندارد در INRA تولید شد که به تمام نژادهای عامـل بیمـاری مقاوم بود(پرچپید و همکاران، ۲۰۰۵). بدین ترتیب دسته استاندارد جدیدی از ارقام افتراقی با خصوصیات تجاری بهتر و فاصله ژنتیکی کمتر تولید شد و به‌عنوان ارقام افتراقی اروپا معرفی گردید.

این مجموعه که در جدول ۵ آورده شده است، هم‌اکنون در بسیاری از مقالات مورد بهره‌برداری و استناد قرار می‌گیرد.نژاد پنجم موسوم به Fom_4 هنوز مورد توافق تمامی بیماری شناسان نیست و بنا بر ایـن هنـوز رقم افتراقی آن رسما وارد برنامه های تعیین نژاد نشده است. ایزابل ، پایه متحمل به پژمردگی فوزاریـومی را در بسیاری از برنامه‌های به‌نژادی تشکیل می‌دهد. جدول۵ واقعیت‌های بالا را به‌طور خلاصه نشان می‌دهد.

---

1 . L'Institut National de la Recherche Agronomique (موسسه ملی تحقیقات کشاورزی کشور فرانسه)

جدول ۵. ارقام افتراقی استاندارد پس از تولید لاین های ایزوژن نزدیک از شارنته تی و ایزابل

تیپ بیماری‌ها	ارقام افتراقی				
	شارنته تی	شارنته فوم ۱	شارنته فوم ۲	ویرگوس	ایزابل
صفر	+	–	–	–	–
یک	+	+	–	–	–
دو	+	–	+	–	–
یک-دو	+	+	+	+	–

+: سازگاری پاتوژن و میز بان، حساسیت و مشاهده نشانه های بیماری، -: ناسازگاری، مقاومت و سلامت گیاه

البته ژن‌های Fom1 و Fom2 تنها در چند لاین یا رقم فوق خلاصه نمی‌شود. امروزه ، با استفاده از پایه‌های اولیه ی مقاوم، در هر کشور، ارقام تجاری مقاوم موردنیاز تولیدشده و می‌تواند در برنامه‌های به نژادی مرتبط مورداستفاده قرارگیرد. لاین اینبرد بنام BG-5384 نسبت به نژاد ۲- ۱ عامل این بیماری مقاومت نشان می‌دهد و می‌تواند درمجموعه ی ارقام افتراقی یا برنامه‌های به‌نژادی مورداستفاده قرار گیرد. این ژنوتیپ متعلق به زیرگونه *cantalopensis* است. فیچادنتی[1] و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از رقم ایزابل (لاین بهنژادی INRA) به‌عنوان گرده دهنده مقاوم به واریانت w (Wilting) نژاد ۲-۱ ، و رقم تجاری Giallo di Paceco، رقم دابل هاپلویید Nad-1 را تولید کردند. تحمل این کولتیوار نسبت به نژاد ۲-۱ در سطح ارقام شاهد متحمل به نژاد ۲-۱ شامل لاین ASR 04993033 (لاین شرکت Asgrow کشور ایتالیا) و هیبرید تجاری Deniro و ایزابل ارزیابی گردید.

برنامه‌های افزایش مقاومت

برنامه‌های افزایش مقاومت در برابر این بیماری شامل مراحل ثابتی است. این مراحل عبارت‌اند از:

1 . Ficcadenti, N.

۱. شناسایی نژادهای بیماری‌های یک عامل بیماری در منطقه

۲. شناسایی منابع مقاومت

۳. انتقال ژن‌های مقاومت با روش‌های ساده یا پیچیده

٤. ارزیابی نهایی و معرفی رقم مقاوم

شناسایی نژادهای عامل بیماری

تهیه جدایه های *Fusarium oxysporum* : بدین منظور نمونه‌برداری درمناطق مختلف از بوته‌های آلوده با علایم زردی،پژمردگی، کوتولگی یا تغییر رنگ آوندی انجام شده ونمونه‌ها بـه آزمایشـگاه انتقـال یافتـه و جداسازی به دو روش برداشت آوندهای تغییر رنگ یافته ساقه گیاه و یا قطعه‌قطعه نمودن طوقه و ساقه گیاه و ضدعفونی سطحی آن آغاز می شود. ضد عفونی سطحی با محلول رقیق شده هیپوکلریت سدیم پنج درصد (با نسبت یک حجم هیپوکلریت سدیم و پنج حجم آب سترون) انجـام مـی شـود. سـپس قطعـات گیـاهی برروی محیط غذایی PDA اسیدی (با pH بین ٤ تا ٥) قرار داده شده و در دمای حدود۲۰ تـا ۲۵ درجـه و فتو پریود ۱۲ ساعته در داخل ژرمیناتور قرار داده می شوند. قارچ عامل بیماری پس از ٤٨ ساعت از محـیط PDA جداسازی و سپس به روش تک اسپور خالص می‌گردد. کاهش pH به جهـت کـاهش بـار باکتریـایی محیط است. چون معمولاً در زمان آلودگی قارچ *F. oxysporum* در ساقه و طوقه ، کلـونیزه مـی‌شـود. در جداسازی قارچ از این اندام‌ها تنها به اسیدی کردن محیط PDA برای جلوگیری از رشد بـاکتری‌هـا بسـنده می‌کنند. در صورت اقدام به جداسازی قارچ از ریشه، با توجه به تعدد انواع قارچ‌ها در محیط ریشه، معمولاً از محیط اختصاصی *F. oxysporum* به نام KOMADA استفاده می‌شود. تک اسپور کـردن عامـل بیمـاری تنوع حاکم در اسپور های آلوده‌کننده را کاهش می‌دهد. بدین ترتیب تغییرات در علایـم بیمـاری بـه‌احتمـال بسیار بالا به تنوع در ژنوتیپ قارچ وابستگی پیدا نمی‌کنند.

اثبات بیماری‌زائی

در مرحله اول جدایه های *F. oxysporum* جمع آوری شده بر اساس کلید مربوطه شناسایی شده و باتوجه به خصوصیات فنوتیپی مثل رنگ رشد شعاعی، شکل کلنی و مناطق جمع‌آوری جدا شده وگروهبندی و کدگذاری می‌گردند. سپس برای تکثیردر دمای اتاق روی محیط PDA قرار داده می‌شوند. در مرحله دوم بذور رقم حساس که می‌تواند شارنته تی باشد، با هیبوکلریت سدیم ۵٪ که یک حجم آن با ۵ حجم آب مقطر سترون رقیق شده است، به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شده و پس از شستشوی کافی با آب مقطر سترون، در گلدان حاوی ورمیکومیت یا پیت یا پیت ماس سترون‌شده کشت می‌گردند. گیاهان در مرحله دو برگ حقیقی (یا بعد از تشکیل اولین برگ حقیقی) از بستر کشت برداشت شده و ریشه آن‌ها در سوسپانسیون اسپور به میزان $۱۰^{٦}$ اسپور در میلی لیتر (تهیه‌شده از کشت ۷ روزه) به مدت دو تا ده دقیقه قرار داده می‌شوند. از آب مقطر استریل به‌عنوان شاهد استفاده می‌شود. گیاه‌چه های حاصل در گلدان حاوی ورمیکولیت و پیت ماس استریل به نسبت۱:۱ یا مخلوط پیت ماس و پرلیت با نسبت گفته‌شده یا مخلوط خاک زراعی سترون، پیت ماس و پرلیت به نسبت ۱: ۱ : ۱ قرار داده‌شده و سپس به گلخانه در دمای ۲۷-۲۰ درجه ی سانتی‌گراد با فتو پریود ۱۲ ساعت روشنایی منتقل می‌شوند. بلافاصله ثبت علایم بیماری آغازشده وثبت علایم بیماری شامل زردی ، پژمردگی و مرگ بوته ، تا ٦-٤ هفته بعد از مایه‌زنی ادامه می‌یابد. جهت تایید آلودگی مرتباً از قسمت‌های ساقه نمونه‌برداری شده و نمونه‌ها در محیط‌هایی مثل PDA کشت می‌شوند. باملاحظه رشد عامل بیماری در محیطی که نمونه‌ها در آن قرار داده‌شده است، وجود عامل بیماری اثبات می‌گردد. معمولاً به‌طور هم‌زمان و در صورت اطمینان از فرم اختصاصی عامل بیماری، صفات بیان‌کننده گسترش بیماری نظیر درصد آلودگی وشدت آلودگی، سطح زیر منحنی توسعه بیماری محاسبه و ثبت می‌گردند.

تعیین فرم اختصاصی بیماری :

معمولاً ارقامی از سایر سبزی‌ها و سایر کدوییان، همانندخیار ،گوجه‌فرنگی ، کدو و سیب‌زمینی، هندوانه یا نخود به همراه شارنته تی(به‌عنوان شاهد حساس) با سوسپانسیون اسپور هایه‌زنی شده و از علایم بیماری یادداشت برداری می‌شود. یادداشت برداری همانند روش ذکرشده در مرحله بیماری‌زائی صورت می‌گیرد. فراوانی یا امتیاز یا مقیاس آلودگی در شارنته تی (یا هر واریته حساس دیگر در آزهایش) با آلودگی در ارقام ذکرشده (معمولاً به کمک آزمون χ^2) مقایسه شده و درصورتی‌که فراوانی آلودگی در شارنته تی به‌طور معنی‌داری با فراوانی آلودگی در سایر گیاهان بیشتر باشد، فرم اختصاصی *F. oxysporum* f.sp. *melonis* اثبات می‌گردد. معمولاً تفاوت به‌قدری فاحش است که نیازی به انجام آزمون آماری نیست. شفق[1] و همکاران (۲۰۰۸) برای تعیین فرم اختصاصی جدایه های جمع‌آوری‌شده ، آن را روی نخود رقم جم، خیار سوپردامینوس، هندوانه کریمسون سوئیت، خربزه خاتونی و شارنته تی هایه‌زنی کردند. نتایج به‌صورت جدول (۱۰) بود که نشان می‌داد فرم اختصاصی مایه زنی شده *melonis* است.

جدول ٦ . امتیاز علایم بیماری بر روی چند گیاه انتخابی فرم اختصاصی بمنظور تشخیص فرم اختصاصی ملونیس (شفق و همکاران، ۲۰۰۸)

Isolate	Jamm	Super dominous	Crimps on sweet	Khatooni	Charentais T
Fm_1	1	1	1	2	2
Fth_1	1	1	1	5	5
Fth_2	1	1	1	3	4
Fk_1	1	1	1	2	4
Fk_2	1	1	1	2	2
Fk_3	1	1	1	3	3
Fkh_1	1	1	1	3	4
Ft_1	1	1	1	4	5
Ft_2	1	1	1	3	4
Fs_1	1	1	1	2	3
Fs_2	1	1	1	4	5
Fs_3	1	1	1	4	4
Fs_4	1	1	1	2	2
Fs_5	1	1	1	2	3
Ff_1	1	1	1	3	3

[1] Shafaq, N.

تعیین نژاد

ابتدا جدایه های *F. oxysporum* f. sp *melonis* بر اساس خصوصیات فنوتیپی مثل رنگ، رشد شعاعی، شکل کلنی و مناطق جداسازی در گروه‌هایی طبقه‌بندی شده و سپس بذر و ارقام افتراقی استاندارد (جدول ۵)، در گلدان‌های حاوی هر یک از بستر های فوق‌الذکر کشت شده و در مرحله تشکیل برگ حقیقی همانند روش اثبات بیماری‌زائی هایه‌زنی می‌شوند. این آزهایش معمولاً تکرار دار است. در مقالات مختلف، برای هر تیمار چهار تا هفت تکرار(گلدان) و جمعاً ۱۲ تا ۲۱بوته در نظر گرفته شده است. میزان آلودگی بر اساس زردی، پژمردگی و مرگ بوته‌ها بلافاصله تا ٤ هفته بعد از هایه‌زنی شروع شده و حداکثر تا ۸ هفته بعد ادامه می‌یابد. بوته‌های کاملاً سالم به‌عنوان مقاوم (R) و ژنو تیپ‌هایی که بیش از ۵۰ درصد آلودگی را نشان داده یا از بین رفته‌اند، به‌عنوان حساس (S) در نظر گرفته شده و تعیین نژاد انجام می‌شود(فیچادنتی و همکاران،۲۰۰۲). غلظت اسپور معمولاً $۱۰^{٦}$ کنیدی در میلی‌لیتر در نظر گرفته می‌شود. ممکن است بجای از خاک با بافت شنی که اتوکلاو شده استفاده شود. همچنین برگر[1] و همکاران(۲۰۰۳)، پیش از قرار دادن گیاه‌چه های خربزه در محلول سوسپانسیون اسپور (که دو روز پس از جوانه‌زنی انجام شد) ، نیمی از طول ریشه‌ها را قطع نموده و با این کار زمان غوطه‌ورسازی[2] ریشه‌ها را به کمتر از ۲ دقیقه کاهش دادند.

در روش‌های آلوده سازی مصنوعی تأمین شرایط رشد گیاه، نگهداری جدایه ها و روش آلوده سازی بسیار مهم هستند. روشی که در سطر های بالا ملاحظه شد ، یک روش عمومی است و ممکن است در مقالات متعدد، به آیین‌نامه های کمابیش متفاوتی برخورد کنیم. نظیر آنچه در مقاله وچر[3] و همکاران (۱۹۹۵)، به‌صورت زیر به آن اشاره شده است:

۱. تأمین شرایط رشد گیاهان مورد آزمون

---

1 . Burger, Y.
2 . Dipping
3 . Wechter, W. P.

- کشت بذر در گلدان‌های پلاستیکی با سطح ۱۰ سانتی‌مترمربع ، در بستر های مناسبی که فوق اشاره شد
- تأمین دهای ۲۵± ٦°C در طول دوره رشد
- تأمین نور کافی با لامپ سدیم با نور چگالی بالا در فاصله ساعت ۱۷ تا ۲۳.

روش آماده‌سازی جدایه قارچ

- نگهداری کشت قارچ در محیط PDA یا SNA. SNA به PDA ترجیح داده می‌شود
- نگهداری جدایی در انکوباتور در دهای۲۲ ± ۱°C به مدت ١٤ روز تماماً در زیر نور فلورسنت به‌منظور تسهیل نمو کنیدی های قارچ.
- تجدید کشت قارچ در فاصله زمانی هر شش ماه یک‌بار به‌منظور اطمینان از حفظ ویژگی بیماری‌زایی عامل بیماری

۲. روش آلوده سازی

- تهیه سوسپانسیون غلیظ قارجی از کشت های نژاد یک با آب مقطر سترون
- چهار بار پالایه کردن محلول با استفاده از پارچه نازک
- رسانیدن غلظت محلول به $۱۰^{٤}$ ماکرو کنیدی در میلی‌لیتر
- بوته‌ها از گلدان خارج و ریشه به‌دقت شسته شده و یک سانتی‌متر از انتهای مجتمع ریشه‌ها با تیغ استریل قطع می‌شود. ریشه‌ها به مدت ۱۰ ثانیه در سوسپانسیون قارچ غوطه‌ور شده سپس به گلدان خود برگردانده می‌شوند. ریشه ی گیاهان شاهد به همین ترتیب درآب مقطر استریل، قرار داده می‌شود.

- نمونه های برگی موردنیاز (مثلاً برای استخراج و بررسی DNA یـا پـروتئین) در مرحلـه ی ۵ برگی و از دومین برگ حقیقی تهیه می‌شود. آلوده سازی مصنوعی می‌تواند در روز اخذ نمونه های برگی یا یک روز پس‌ازآن صورت گیرد

شفق و همکاران (۲۰۰۸)، برای انجام آلودگی مصنوعی ، بر اسـاس کـار برگـر و همکـاران (۲۰۰۳)، بوته های خربزه را در" تاریکی " به مدت ۱۲ ساعت در۲۵ درجه سانتی‌گـراد و " نـور" بـه مـدت ۱۲ ساعت در دهای ۲۷ درجه ی سـانتی‌گـراد پـرورش داده و از سوسپانسـیون بـا غلظـت $۱۰^{٦}$ کنیـدی در میلی‌لیتر کردند. برای تهیه ی کنیدی‌ها از کشت های ۵ روزه ی *F. oxysporum* f. sp *melonis* نـژاد یک که روی محیط PDA رشد کرده بود، استفاده گردید. ثبت علایم بیماری نیـز تـا ۲۱ روز ادامـه مـی یابد.

ارزیابی مقاومت‌های تک ژنی (Fom_1 و Fom_2)

مهم‌ترین بخش یک برنامه ی افزایش مقاومـت، ارزیـابی مقاومـت و تشـخیص گیاهـان سـالم و بیمـار و امتیازدهی[1] یا مقیاس دهی[2] صحیح است. این مسئله فوق‌العاده حساس است و موفقیت برنامه‌هـای بهنـژادی برای افزایش مقاومت را تضمین می‌کند. طبعاً چون عامل بیماری موجود زنده است، ارزیـابی‌هـا بـه‌سـادگی تنش‌های غیر زیستی نخواهند بود. پیش از همه چیز بایستی تعیین فرم بیماری‌ها و نژاد انجام شود. ارزیـابی در برابر نژادهای یک و دو، نسبت به نژاد ۲-۱ ساده‌تر است. در مورد بیماری‌هـای قـارچی خـاک زاد نظیـر پژمردگی فوزاریومی در خربزه و طالبی، مایه زنی مصنوعی عامل بیماری اندکی ساده‌تر از بیماری‌های هوازاد است. در مقابل اندازه‌گیری (Scoring) علایم زردی یا پژمردگی بسیار مشکل تر است.

---

[1] . Disease scoring
[2] . Disease scaling

اثر محیط روی علایم بیماری و استفاده از نشانگرهای DNA

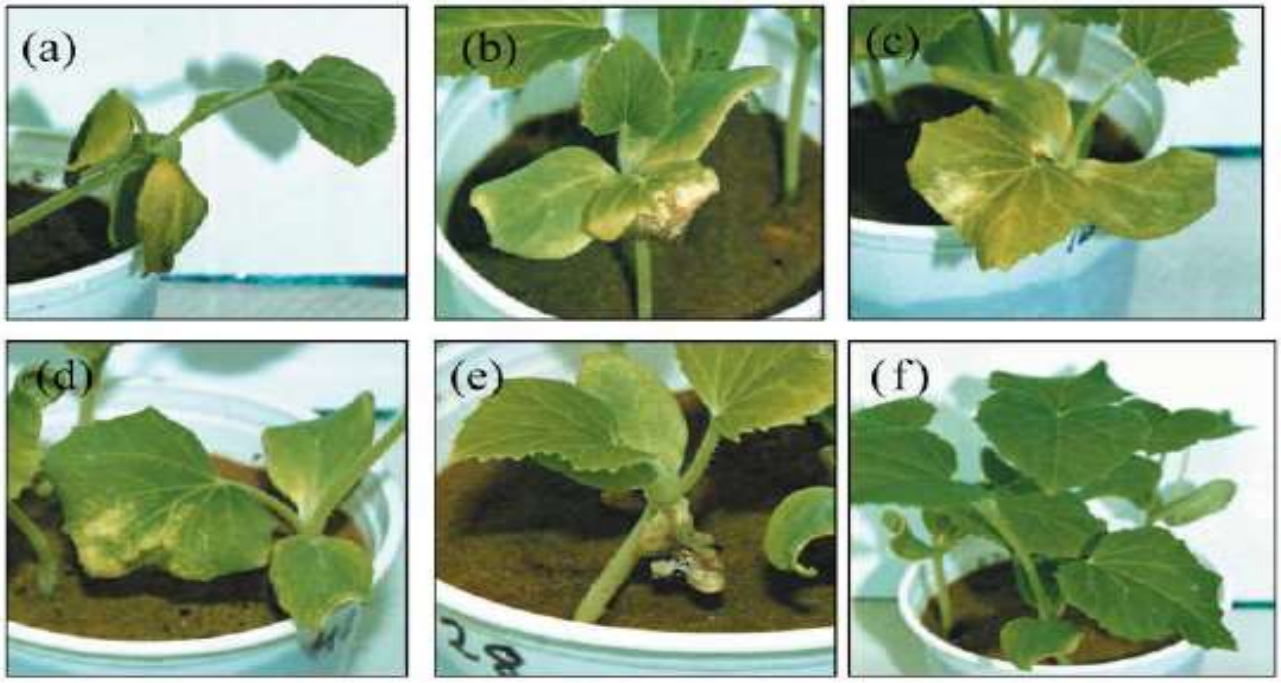
مقاومت‌های تک ژنی معمولاً در منابع با مسئله بودن یا نبودن بیان می‌شوند. لاین های حساس علایم را نشان می‌دهند، درحالی‌که لاین های مقاوم کاملاً عاری از علایم بیماری (Symptomless) باقی می‌مانند. غربال کردن ژنوتیپ‌های خربزه با روش‌های مایه زنی مصنوعی، در جهت به‌گزینی به نفع یکی از مکانهای ژنی *Fom* (یک یا دو)، معمولاً ساده نبوده و بیماری دامنه ی وسیعی از وضعیت‌های پژمردگی یا زردی را در ژنوتیپ‌ها ایجاد می‌کند. قاعدتاً زمانی که مقاومت به یک نژاد بیماری توسط یک مکان ژنی کنترل می‌شود، نباید چنین دامنه وسیعی از علایم روی ژنوتیپ‌ها دیده شود. بدین ترتیب مسئله Scoring و یا Scaling صحیح علایم بیماری اهمیت پیدا می‌کند. یک برنامه به نژادی موفق به مواردی مثل در دسترس بودن منابع "باکیفیت" مقاومت و به کارگیری روش‌های صحیح و مؤثر مایه زنی مصنوعی و روش درست به‌گزینی در جهت افزایش مقاومت بستگی دارد. علایمی که پس از آلوده سازی مصنوعی روی ژنوتیپ‌ها ایجاد می‌شود، بسته به تغییرات درزمینه ی ژنتیکی گیاه (ماس و همکاران، ۱۹۸۱)، تغییرات شرایط محیطی نظیر شدت نور و دما (کوهن و همکاران، ۱۹۹٦) و یا تغییرات ژنتیکی در جدایه های مورداستفاده (نامیکی[1] و همکاران، ۱۹۸۸) تغییر می‌کنند. گروه برگر و همکاران (۲۰۰۳)، به‌راحتی با ایجاد دو تیمار شدت نور (به ترتیب شامل ٦۰ و ۹۰ میکرو ارگ بر مترمربع در ثانیه) و دو تیمار دمایی (شامل ۲۷ و ۳۱ درجه ی سانتی‌گراد) بر روی ۱۷ ژنوتیپ و امتیازدهی به علایم به‌صورت صفر تا صد در اتاق رشد ، نشان دادند که شدت نور اثر معنی‌داری در بیان میزان علایم دارد(جدول ۷. تجزیه ی واریانس و شکل ۱۰ دامنه ی علایم رانشان می‌دهد. شکل ۷ دامنه وسیع شکل علایم نژاد یک بیماری را روی یک رقم حساس نشان می دهد. همچنین ممکن است در یک گیاه حساس هیچ علامتی از بیماری ملاحظه نشود (شکل ۷، f). تنها راه ممکن برای دوری جستن از چنین وضعیت هایی بهره برداری از نشانگر های ژنتیکی است.

---

1 . Namiki, F.

جدول ۷ . تجزیه واریانس واکنش ۱۷ ژنوتیپ مورد آزمایش گروه برگر و همکاران(۲۰۰۳) درچهارمحیط متفاوت

Source	df	SS	MS	*F*	*P*
Genotype	15	182404·50	12160·04	35·0	0·0001
Light	1	7003·19	7003·19	20·18	0·0001
Temperature	1	1094·43	1094·43	3·15	0·0769
Light × genotype	15	9333·80	622·25	1·79	0·0359
Genotype × temperature	15	22832·40	1522·16	4·38	0·0001
Light × temperature	1	97·59	97·59	0·28	0·5963
Light × temperature × genotype	15	9823·08	654·87	1·88	0·0248
Residual	253	87783·75	346·97		



شکل ۷. علایم نژاد یک قارچ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* روی ژنوتیپ‌های مورد آزهایش. (a) علامت تیپیک پژمردگی روی ژنوتیپ حساس آناناسی Ein Dor. (b تا e)، تنوع علایم ناشی از اثر محیط، ،(f) گیاه حساس مایه زنی شده بدون علائم بیماری

بیان مبهم علایم بیماری به‌سادگی سبب اشتباه در به‌گزینی گیاهان مقاوم شده که به‌نوبه ی خود سبب طولانی‌تر شدن برنامه‌های اصلاحی می‌شود. گروه برگر به گیاهان حساسی برخورد کردند که به علت پدیده ی فرار از بیماری (Escape) به لحاظ علایم فنوتیپی تفاوت کافی با گیاهان مقاوم نداشتند. ایشان پیشنهاد کردند که استفاده از نشانگرهای DNA در این موارد می‌تواند کاراتر از ارزیابی های فنوتیپی باشد. چراکه انتقال قطعه‌ای از کروموزوم را که حاوی ژن موردنظر است (که در آزهایش آنان مکان Fom_2 بود) تائید

می‌کند. دومین مزیت مهم استفاده از نشانگرها در به‌گزینی ژن‌های مقاومت، زمانی ملاحظه می‌شود که گزینش برای مقاومت به چند بیماری به‌طور هم‌زمان یا چند نژاد یک عامل بیماری صورت گیرد. در چنین وضعیتی مسئله حفاظت تقاطعی (Cross Protection) پیش می‌آید (ماس و همکاران، ۱۹۸۱). ملاحظه شده است که بوته های یک جمعیت کاملاً حساس از خربزه که با نژاد یک عامل بیماری آلوده شده و علایم بیماری را نشان نداده‌اند، در آلودگی بعدی به نژاد دوی همان بیماری هیچ علایمی از خود نشان نمی‌دهند، درحالی‌که مکان ژنی fom_1 را (فرم مغلوب) با خود حمل می‌کنند. در صورت ارزیابی فنوتیپی، چنین گیاهی مقاوم به نژاد دو ارزیابی می‌شود درصورتی‌که فاقد الل غالب در مکان ژنی مقاومت (مکان ژنی Fom_2) است. علاوه بر آن این گروه نشان دادند که ارزیابی فنوتیپی روش مطمئنی نیست. این گروه از نشانگر DNA موسوم به اسکار[1] (SCAR) استفاده کردند. نشانگر اسکار قادر است مکان های ژنی هموزیگوت را از هتروزیگوت تشخیص دهد. بررسی فراوانی افراد مقاوم و حساس در نتاج حاصل از تلاقی جمعیت هموزیگوت مقاوم (Meqdimon) با هموزیگوت حساس (Ein Dor) با آزمون کای دو (χ^2) نشان داد که این فراوانی‌ها با نسبت ۳:۱ مطابقت آماری ندارد. درحالی‌که تفرق دو نشانگر SCAR موسوم به AM و FM تطابق خوبی با نسبت ۱:۲:۱ داشت (P<۰/٦٥). به عبارت ساده‌تر نشانگرها درزمینه ی تشخیص تفرق ژن‌ها بهتر از فنوتیپ‌ها عمل کرده بودند (جدول ۸).

جدول ۸. مقایسه فراوانی افراد حساس و مقاوم در ارزیابی های مبتنی بر فنوتیپ ونشانگر SCAR

Host	Symptoms	Number of plants			Expected ratio	χ^2	P
		Susceptible	Resistant[a]				
Ein Dor (susceptible)	Wilting	21	3				
Maqdimon (resistant)	Wilting	0	17				
Segregating population	Wilting	8	98		1 : 3	17·22	<0·001
	Wilting + leaf necrosis	13	93		1 : 3	9·17	<0·01
	Genotyping with SCAR markers	*fom-2 / fom-2*[b]	*fom-2 / Fom-2*	*Fom-2 / Fom-2*			
	AM and FM	23	53	30	1 : 2 : 1	0·94	0·65

[1] . SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions)

در آزمایش برگر و همکاران (۲۰۰۳)، ارزیابی های فنوتیپی برخلاف ارزیابی های مبتنی بر نشانگر SCAR از فراوانی های مورد انتظار پیروی نکردند. به‌طورکلی جدا کردن اثر محیط در ظهور علایم بیماری در گیاه بسیار مشکل است. هورسفال[1] و دیاموند[2](۱۹۵۷) در توضیح تفاوت بیان علایم در محیط های متفاوت، اعلام نمودند که علایم برخی از بیماری‌ها، در حضور قند بالا، گسترش واضح‌تری پیدا می‌کنند و به این دست از بیماری‌ها واژه ی (High Sugar Diseases) را اطلاق نمودند.. کوهن[3] و همکاران (۱۹۹٦)، با افزایش شدت نور تغییر معنی‌داری در علایم ناشی از نژاد یک بیماری پژمردگی فوزاریومی گزارش کرد. به‌عبارت‌دیگر علایم بیماری در چگالی نور بالا، به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط نور پایین کمتر شده بودند و این مسئله به تبع افزایش قند اتفاق افتاد. بنا به راین بیماری در گروه بیماری‌های فعال در قند پایین (Low Sugar Diseases) قرار گرفت. در حال حاضر و با دانش کنونی نمی‌توان علت تغییر در علایم بیماری به تبعیت از تغییر محیط را به‌دقت توضیح داد چراکه این پدیده علاوه بر محیط به زمینه ژنتیکی گیاه مورد آزمون نیز بستگی دارد. ساده‌ترین فرضیه ، دخالت ژن‌های تغییردهنده (Modifier) در شرایط متفاوت محیطی است. به نظر می‌رسد بایستی یک آستانه چیرگی[4] عامل بیماری زا بر شاهد حساس وجود داشته باشد و علایم زمانی ظاهر می‌شوند که پاتوژن از آستانه ی فیزیولوژیک چیرگی عبور کرده باشد.

گزینش به کمک نشانگر ها

نشانگرها تحت تأثیر محیط و تغییرات فیزیولوژیک گیاه که ناشی از محیط باشد، قرار می‌گیرند و از این نظر ابزار قدرتمندی به شمار می‌روند. انتخاب لاین یا رقم حساسی که در تمامی محیط ها به طور مطمئنی

1. Horsfall, J. G.
2 . Diamond, A. E.
3 . Cohen, R .
4 . Overcoming treshold

حساسیت خود را حفظ کند، یک امر بسیار مهم در آزمایش های حساسیت و مقاومت می باشد که با استفاده از نشانگر های ژنتیکی امکان پذیر است. ژنگ[1] و ولف[2] (۲۰۰۰)، یک نشانگرRAPD موسوم به E 07 را در فاصله ۱/٦ سانتی مورگان از مکان Fom_2 معرفی نمودند. برگر و همکاران (۲۰۰۳) این نکته را مورد تأکید قراردادند که ارقام یا لاین های حساس یا مقاوم که معمولاً به‌عنوان شاهد در برنامه‌های مرتبط با بیماری مورداستفاده قرار می‌گیرند، باید در تمام محیط‌ها واکنش مورد انتظار را نشان دهند. در آزهایش ایشان ارقام حساس Ein Dor و Noy Amid (Yellow Canary) بین ۸٤ تا ۱۰۰ درصد علایم پژمردگی را در شرایط محیطی مختلف مورد آزهایش نشان دادند، درحالی‌که بیان علایم در رقم حساس Noy Yizre'el بین ٦ تا ۱۳ درصد بود. بدین ترتیب رقم Ein Dor به‌عنوان رقم حساس مطمئن در آزمایش‌های مرتبط اعلام گردید. گروه برگر از نشان گر های CAPS[3] استفاده کردند. نشانگر CAPS با هضم تکمیلی نشانگر اسکار به دست آمد. با هضم بیشتر یک نشانگر غالب، الل ها روی ژل جدا می‌شوند و ژنو تیپ‌های هتروزیگوت از ژنو تیپ‌های هموزیگوت تفکیک می‌شوند و بنابراین افراد هموزیگوت غالب به‌سرعت گزینش می‌گردند (شکل ۸ ، a و b).

وچر[4] و همکاران (۱۹۹۵) در ارزیابی نسل های حاصل از تلاقی لاین خربزه MR-1 (مقاوم به نژادهای صفر، یک و دو بر اساس گزارش زینک[5] و توماس[6](۱۹۹۰) و لاین AY (حساس به‌تمامی نژادهای بیماری) یک مارکر RAPD به شدت پیوسته با مکان ژنی Fom_2 معرفی نمودند. این گروه باتلاقی AY×MR-1♂ و خودگشنی افراد مقاوم به نژاد یک عامل بیماری در F2 به ارزیابی مقاومت در ٤۰ فرد در F3 حاصل با روش‌های مایه زنی مصنوعی پرداخته و در صورت عدم ظهور علایم بیماری در هیچ‌یک از ٤۰ بوته های

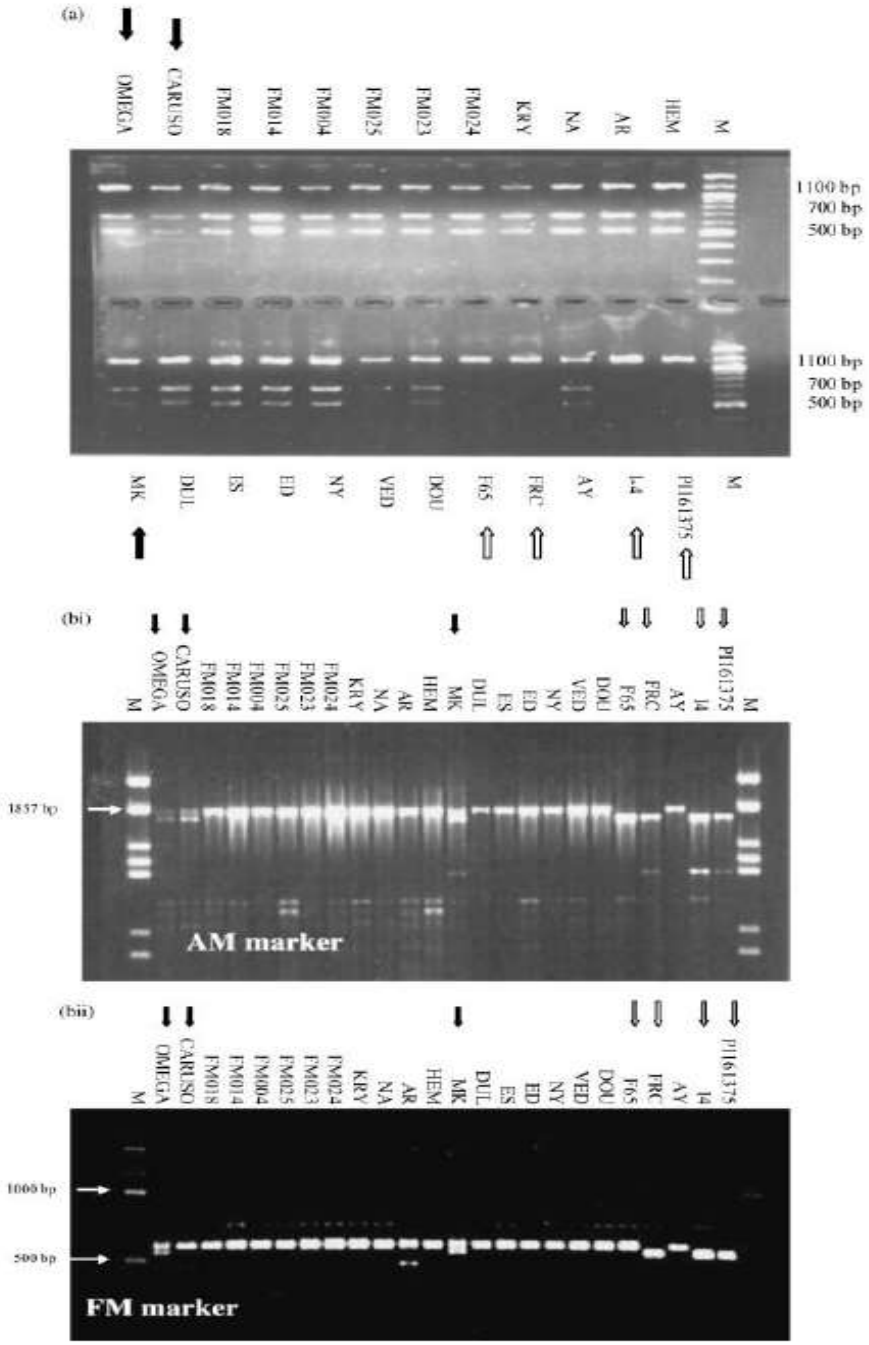
1 . Zheng, X. Y.
2 . Wolff, D. W.
3 Cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS)
4 Wechter, W. P.
5 Zink, F. W.
6 Thomas, C. E.

F3 نتیجه‌گیری می‌نمودند که فرد F2 موردنظر در مکان ژنی Fom_2 هموزیگوت می باشد. درنهایت گروه وچراعلام کرد که این نشانگرتنها زمانی که پایه ی مقاومت، لاین MR-1 است، قادر به تفکیک بوته های حساس و مقاوم می باشد (شکل ۹). این نشانگر به طول ۱/٦ کیلو باز و در فاصله ی ۲/۲ سانتی مورگان از مکان Fom_2 قرار داشت. در مرحله ی بعد ۱۲رقم تجاری (شامل ۳ رقم مقاوم و ۹ رقم حساس) با نشانگر موردنظر ارزیابی شدند. ایشان نتوانستند این نشانگر را در ناحیه ۱/٦ کیلو بازی تکثیر نمایند، درنتیجه این نشانگر نتوانست جمعیت های حساس و مقاوم را در این آزهایش تفکیک نماید. درنهایت این محققین اعلام کردند که این نشانگر قدرتمند می‌تواند با آسودگی خاطر در به‌گزینی لاین های مقاوم مبتنی بر لاین MR-1 مورداستفاده قرار گیرد. ارزش این مطلب زمانی روشن می‌شود که بدانیم لاین MR-1 به علت اینکه مقاومت به ۳ نژاد را با خود حمل می‌نهاید، به‌طور گسترده در برنامه‌های اصلاحی موردتوجه قرار می‌گیرد. البته اشکال این نشانگر " وابسته به والدین بودن " آن است و این امر محدودیت جدی در استفاده از این نشانگر ایجاد می‌نماید. وابستگی نشانگرها به والدین در آزمایش های دیگر هم گزارش‌شده است. همانند گزارش برگر و همکاران (۲۰۰۳) که در آن اعلام نمودند که نشانگر FM تنها زمانی که لاین F 65 Galia به‌عنوان لاین مقاوم در برنامه‌ها به کار نرفته باشد، می تواند به‌عنوان نشانگر مطمئن بکار رود (شکل ۸). در مورد مقاومت‌های تک ژنی که وضعیت غالب یا مغلوب دارند، بهره‌برداری از نشانگرهایی که بتواند الل مربوط را نشان دهد، به نشانگرهایی که توان جدا کردن هموزیگوتها از هتروزیگوتها را ندارند، ترجیح داده می‌شوند. ازآنجایی‌که نشانگر اسکار قادر به جداسازی هتروزیگوتها نیست، ژنگ و ولف، ۱۹۹۹، نشانگرهای CAPS[1] را بررسی نمودند.

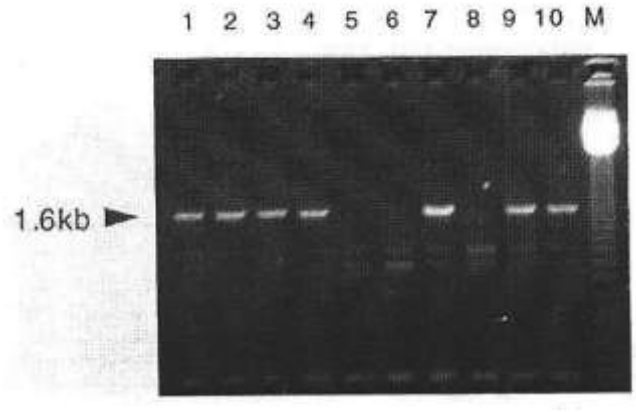
---

[1] .

در خاتمه بحث در مورد نشانگرها، باید این نکته مهم را یادآور شد که ارزیابی های نادرست فنوتیپی سبب طولانی‌تر شدن برنامه‌های اصلاحی و صرف هزینه های اضافی می‌شوند. این مشکل در به‌گزینی مبتنی بر نشانگرها ملاحظه نمی‌شود. یک نشانگر مؤثر باید حتی‌الامکان دارای سه ویژگی سادگی ، سرعت و هزینه های قابل توجیه برخوردار باشد. از طرفی نشانگر مورداستفاده تحت تأثیر والدین نیز قرار می‌گیرد. به طوری که تصمیم‌گیری در مورد نشانگرها به والدین مورداستفاده در برنامه افزایش مقاومت ربط پیدا می‌کند.



. شکل ۸. (a): هموزیگوت های مقاوم با ژنوتیپ Fom_2/Fom_2 با فلش های توخالی مشخص شده‌اند و فاقد باند در ناحیه bp ۷۰۰ و bp ۵۰۰ می‌باشند. هتروزیگوتهای مقاوم با فلش تو پر مشخص شده اند. (نشانگر CAPS). (b) نشانگر SCAR ، bi ، نشانگر AM تمام ژنو تیپ‌های مقاوم را از ژنو تیپ‌های حساس تفکیک می‌کند. bii ، نشانگر FM در تفکیک لاین F65 به‌عنوان لاین مقاوم موفق نبود



شکل ۹. تفکیک ژنوتیپ هـای حسـاس از مقـاوم بـرای مکان ژنی *Fom_2* با استفاده از پرایمـر UBC # 596 ، ژنو تیپ‌های حساس ٥،٦، و ٨ را از ژنو تیپ‌های مقاوم ١ تا ٤ و ٧ و ٩ تا ١٠ تفکیک کند. پایـه مقـاوم MR-1 بود.(وچر و همکاران، ١٩٩٥)

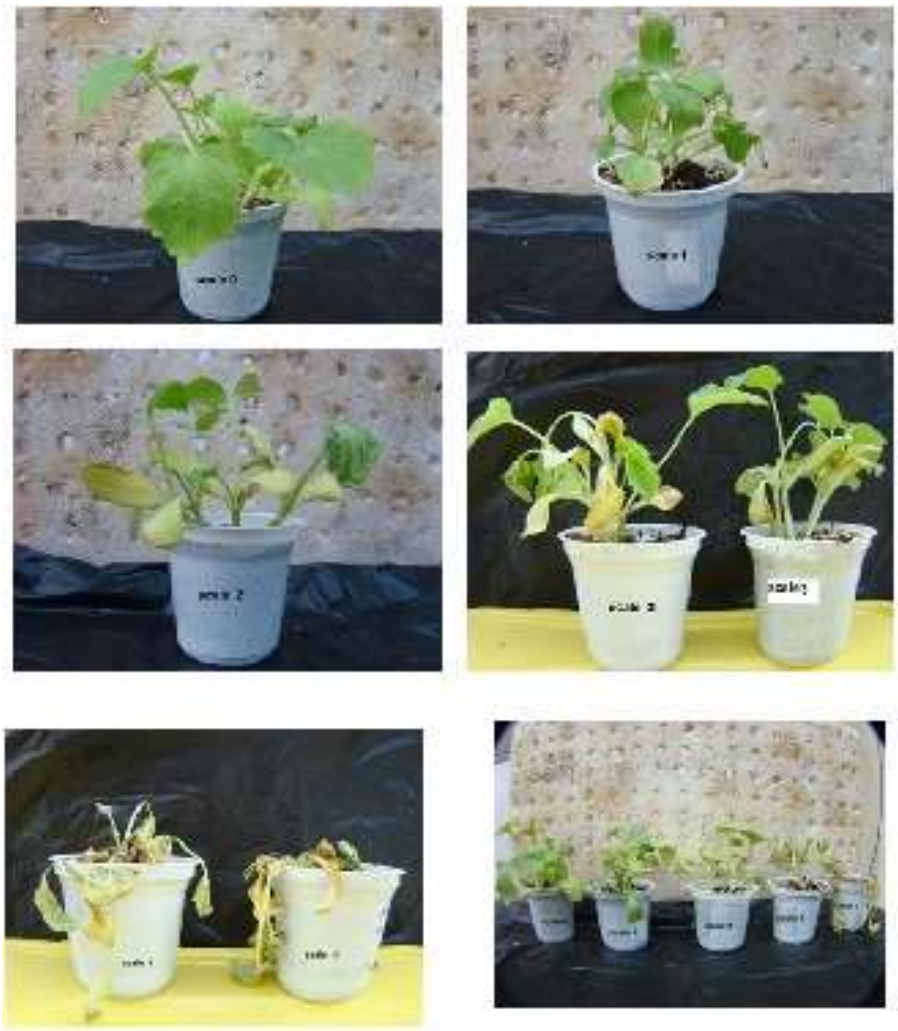
بهر حال همان‌گونه که ژنگ[1] و ولف[2](۲۰۰۰)، تأکید نمودند، درصورتی‌که نشانگر غالـب بـوده و فاقـد کارایی لازم را در تفکیک مکانهای هتروزیگوت از هموزیگوت غالب به‌ویژه در مکان ژنی *Fom_2* باشد، بهتر است که چنین نشانگرهایی تنها در مراحل اولیه برنامه‌های بهنژادی که معمولاً هدف حذف تعداد بی‌شماری از افراد حساس (و نه انتخاب تعدادی فرد مقاوم) است، مورد بهره‌برداری قرار گیرد. بدین ترتیب ، دومین نقص نشانگرها را می‌توان، ناتوانی تعدادی از آن‌ها در تفکیک مقاومـت‌هـای هموزیگـوت از هتروزیگـوت دانست.

نحوه امتیازدهی به علایم بیماری از روی فنوتیپ (ارزیابی فنوتیپی)

به‌منظور یکسان کردن معیار های امتیازدهی به علایم بیماری، پرچپید و پیترا (٢٠٠٤)، علایـم پژمردگـی را در برابر نژاد ۲-۱ بیماری در ۵ گروه (امتیاز ۱ تا ۵) طبقه‌بندی کردند. شفق و همکاران (۲۰۰۸)، نیـز از این امتیازها در امتیازدهی به علایم بیماری استفاده کردند. شکل ۱۰ این امتیازها را از روی فنوتیـپ بوتـه‌هـا نشان می‌دهد.

---

[1] . Zheng, X. Y.
[2]. Wolff, D. W.



شکل ۱۰. دادن مقیاس یا امتیاز به علایم بیماری که توسط نژاد یک بیماری ایجاد شده است(عکس‌ها از مددخواه)

مقیاس علایم به‌صورت ۵ گروهی به شکل زیر است (پرچپید و پیترا،۲۰۰٤):

۱. بوته کاملاً سالم و بدون علایم زردی ، نکروز یا پژمردگی، مقیاس ۱

۲. زردی لپه‌ها یا اولین برگ حقیقی

۳. پژمردگی دو برگ حقیقی اول

٤. پژمردگی ۳ برگ حقیقی یا بیش از آن و قهوه‌ای شدن ساقه

۵. خشکی کامل و مرگ گیاه

اتحادیه UPOV نیز برای ارزیابی کولتیوار هـای در دسـت ثبـت ، روش زیـر را ارایـه کـرده اسـت (سـند TG104/6، ۲۰۰٦) :

۱. نگهداری نژاد های عامل بیماری روی محیط آگار و باز کشت نژاد ها هر ماه یکبار
۲. آزمون گیاه جه ها در مرحله رشد کامل برگ های لپه ای، گیاهچه ها با کشت بـذر در پتـری دیـش تولید می شوند.
۳. دمای آزمون بترتیب ۲٤ درجه سانتی گراد و ۱۸ درجه سانتی گراد در روز و در شب
٤. تامین نور کافی بمدت ۱۰ تا ۱۲ ساعت در طول دوره آزمون
۵. مایه زنی با فرو بردن ریشه ها در سوسپانسیون اسپور قارچ انجام می شود
٦. پس از مایه زنی گیاه چه ها به محیط ماسه سترون منتقل گردیده و به نحو مناسب بـا اضـافه کـردن محلول مغذی به بستر ماسه تغذیه می شوند.
۷. زمان کشت بذر تا مایه زنی بین ۱۰ تا ۱۵ روز
۸. زمان مایه زنی تا پایان آزمایش (مرگ گیاه چه های حساس) ۲۰ روز
۹. تعداد گیاه چه مورد آزمون از هر رقم، ۳۰ گیاه چه
۱۰. طول زمان ثبت علایم بیماری سه هفته است و تازمانی ادامه می یابد که شاهد حساس کاملا از بـین برود.

چیخ روبو[1] و همکاران (۲۰۱۱)، از مقیاس صفر تا چهار بجای مقیاس ۱ تـا ۵ اسـتفاده نمـوده‌انـد. بـه نظـر می‌رسد امتیازدهی ۱ تا ۵ مناسب‌تر از ۰ تا ٤ باشد. چراکه امتیازدهی ۰ تا ٤ وزن صفر بـه بوتـه هـای سـالم می‌دهد.

[1] . Chikh-Rouhou, H.

مسئله ژن‌های R

هم‌اکنون ،مکانهای Fom_1 و Fom_2 به‌طور گسترده‌ای برای تولید کولتیوار های مقاوم خربزه و طالبی به کار می‌روند. با توجه به آنچه در منابع در مورد ژن‌های R ذکرشده است، نگرانی شکستن مقاومت این مکانهای ژنی و ایجاد ابر نژادهای (Super Races) بیماری‌ها پیش می‌آید. نیکز [1] و روبیالس [2] (۲۰۰۲)، خاطرنشان ساخته‌اند که تداوم مقاومت به یک بیماری بستگی به توان تکاملی بالقوه جمعیت پاتوژن دارد. به نظر پینگ [3] (۲۰۰۲)، این مسئله در مواردی قابل‌اغماض است. دفاعی که پینگ از ژن‌های R منتشر کرده است، به‌طور خلاصه شامل موارد زیر است:

۱. مقاومت به بیماری (ژن های R) ، تنها یکی از صفاتی است که به نژادگران احتمالاً به کولتیوار های جدید وارد می‌کنند. یک کولتیوار تنها با اصلاح مقاومت ، تجاری نمی‌شود.

۲. به نژادگران پس از آزاد کردن کولتیوار های جدید، مسئول ژن‌های R در کولتیوار های خود نیستند، این کولتیوار ها ممکن است توسط سایر به نژادگران برای برنامه‌های دیگر مورداستفاده قرار گیرند.

۳. ممکن است بهره‌برداری از ژن‌های R تنها راه پیش رو در افزایش مقاومت باشد.

٤. بر اساس قوانین حقوق به نژادگران، حقوق یک بهنژادگر تنها زمانی به ثبت می‌رسد که کولتیوار خود را به‌صورت تجاری معرفی کرده باشد. حقوق بهنژادگران تنها با انتقال ژن R مورد ثبت قرار نمی‌گیرد.

۵. امروزه روش‌های کنترل جایگزین مناسبی برای بیماری‌ها در دسترس است. نظیر سموم کم‌خطرتر (بیولوژیک) یا روش‌های زراعی بهتر که باعث می‌شود پایداری ژن‌های R تا زمان‌های طولانی حفظ شود. این مسئله به‌هیچ‌عنوان به مفهوم تائید استفاده از سموم نیست

---

1. Niks, R. E.
2 . Rubiales, D.
3. Pink, D. A. C.

٦. فشار ناشی از تجارت پرسودی که بر بازار بذر (به‌ویژه در سبزی‌ها) حاکم است، سبب می‌شود تا به نژادگران سریع‌ترین راه را برای افزایش مقاومت بکار گیرند. ژن‌های R ماهیتاً به‌سرعت به کولتیوار های جدید منتقل می‌شوند (تک ژنی هستند).

با توجه به اینکه پاتوژن موردبحث یک قارچ بدون چرخه جنسی (یا دقیق‌تر این است که گفته شود هنوز چرخه جنسی برای آن دیده نشده است) و از پاتوژنهایی است که به‌سختی نژاد جدید در آن ایجاد می‌شود، ارقام تجاری مقاومی که تولید می‌شوند تا سالیان متمادی ارزش تجاری و صفت مقاومت را به شکل پایداری حفظ می‌کنند. این مقاومت معمولاً به‌راحتی شکسته نمی‌شود. و این امر مزیت نسبی کشور ایران را با توجه به خزانه ژنتیکی بسیار غنی ملون‌ها و امکان معرفی هر نوع واریته با هر کیفیت به همراه صفت مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی نشان می‌دهد.

رفتار پیچیده نژاد۲-۱

مقاومت به نژاد ۲-۱ (هر دو واریانت y و w) ، از نوع کمی (افقی) است و در منابع محدودی که در این زمینه وجود دارد، از آن به‌عنوان مقاومت جزئی یا Partial resistance نیز نام برده شده است(پرچپید[1] و پیترا[2]، ۲۰۰٤ و پرچپید و همکاران، ۲۰۰۵). مقاومت به نژاد ۲-۱ بیماری پژمردگی فوزاریومی خربزه در تعدادی از لاین های سرزمین‌های شرق دور دیده شده است. به‌عنوان‌مثال می‌توان از لاین های Ogon 9 ، Kogane Nashi و Makuwa نام برد (ریسه و رود، ۱۹۷۳). کولتیوار Isabelle نیز با هدف معرفی رقم مقاوم به نژاد ۲-۱ بیماری پژمردگی فوزاریومی ، در سال ۱۹۷۸ در موسسه ملی پژوهش های کشاورزی کشور فرانسه(INRA) تولید شد. ریسه در سال ۱۹٦۳ لاین Ogon 9 را که مقاوم به نژادهای

1. Perchpei, L.
2 . Pitrat, M.

صفر ، یک و ۲-۱ بوده و متعلق به کشور چین است، از آییزوکا[1]، تهیه کرده بود. او نسل F1 حاصل از تلاقی ♀T Ogon 9×Charenteis را با خودگشنی به F3برد. این بوته‌ها در F3 با گرده های لاین Doublone (متعلق به]INRA که حامل مکان *Fom1* است)، تلاقی داده‌شده و نسل حاصل مجدداً ٦ نسل خودگشن گردید. بدین ترتیب ریسه موفق شد مکانهای *Fom1* و *Fom2* را به همراه مقاومت کمی به نژاد ۲-۱ که از Ogon 9 به برنامه به نژادی خود وارد کرده بود، در ایزابل " هرمی" کند. گزارشی هم از فیچادنتی و همکاران(۲۰۰۲)، نشان می‌دهد که چگونه از ایزابل ، لاین های دابل هاپلوئید مقاوم به نژاد ۲-۱، موسوم به Nad-1 و Nad-2 را به دست آوردند. این لاین های دابل هاپلوئید به سبب یکنواختی ژنتیکی ازنظر ارزیابی‌های مقاومت در برابر نژاد ۲-۱ بسیار مهم تلقی می‌شوند. چراکه هر تنوع در درون لاین های دابل هاپلوئید ناشی از محیط است. برای ارزیابی علایم بیماری در نژاد ۲-۱، دسته دیگری از مواد گیاهی نیز تولیدشده‌اند. پرچپید و پیترا(۲۰۰٤)، با استفاده از پایه Védrantais شرکت ویلمورن ،(که واجد مکان ژنی *Fom1* و حساس به نژاد ۲-۱ بود) ، ایزابل (مقاوم به نژاد ۲-۱)،Ogon 9 (پایه مقاوم به نژاد ۲-۱) و دو کولتیوار تجاری مقاوم به نژاد ۲-۱ به نام‌های Mana (شرکت Claus-Tezier) و Manta (شرکت Nunhems)آزمایشی برای نشان دادن ماهیت پلی ژنیک کنترل مقاومت به نژاد ۲-۱ را طراحی کردند. ۱۲۰ لاین اینبرد نوترکیب مورداستفاده ایشان، نسل های F6 ،F7 و F8 از تلاقی Véderantais×Isabelle بود. این لاین های اینبرد در برنامه‌های بعدی به‌منظور یافتن QTL های مقاومت به نژاد ۲-۱ بکار رفتند. این جمعیت بعداً بنام جمعیت Vedisa مشهور شد و امروزه در منابع از آن به همین نام یاد می‌شود (پرچپید و همکاران، ۲۰۰۵). ایشان از دو جدایه استانداردTST (جدایه ای که زردی ایجاد می‌کند) و جدایه8 D'Oléon (جدایه ای که پژمردگی ایجاد می‌کند) ، روی لاین های اینبرد نوترکیب (RIL) Vedisa ، در ٦ مکان مختلف ، آلودگی ایجاد کرده و روند گسترش بیماری را در مقیاس ۱ تا ۵ ، با استفاده از سطح زیر

1 . Iisoka, M.

منحنی توسعه بیماری(AUDPC) مورد تحلیل قراردادند. ارزیابی‌ها در فواصل زمانی ۳ تـا ٤ روزه، پـس از ظهور علایم بیماری و به مدت سه هفته ادامه یافت. ریشه‌ها با سوسپانسیون نسبتاً غلیظـی از واریانـت هـا (Strain ها) هایه‌زنی شدند(۲×۱۰^{٦} کنیدی در میلی‌لیتر). گیاهان مورد آزهایش در شرایط دمـایی ۱۸ درجـه سانتی‌گراد در "شب" و ٢٤ درجه سانتی‌گراد در "روز" با فتو پریود ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند. لاین های Vedisa در ٥ شرکت تولید بذر و موسسه اینرا، مستقلاً ارزیابی می‌شدند که به آن‌ها "مکان" اطلاق شد. در نهایت وراثت پذیری صفات مرتبط با مقاومت بین ۸۰ تا ۹ درصد برآورد گردید که براورد بسیار بـالایی بـه حساب می آید.

QTL ها و نژاد ۲-۱

بلافاصله با درک ماهیت پلی ژنیک مقاومت به نژاد ۲-۱ ، محققین به فکر شناسایی QTL های کنترل‌کننده بیماری افتادند. پرچپید و همکاران (۲۰۰٥)، با استفاده از لاین های Vedisa که قبلاً در سال ۲۰۰٤ در برابر دو واریانت استاندارد TST و D'Oléon 8 ارزیابی فنوتیپی شده بودند، توانستند یک QTL اختصاصی برای هر واریانت (یا Strain) از نژاد ۲-۱ شناسایی کنند. DNA با اسـتفاده از روش بودراکـو آرنـاس[1](۱۹۹٥) استخراج گردید. در این بررسی از ۳۹ ترکیب پرایمـری AFLP ، ٤٥ پرایمـر SSR[2] (کـاتزیر[3] و همکـاران، ۱۹۹٦ و دانین پولگ[4] و همکاران،۲۰۰۱)، ٤٦ نشانگر بین ریز ماهواره[5](IMA)و دو نشانگر مبتنـی بـر PCR موسوم به AM و FM (ونگ[6] و همکاران، ۲۰۰۰) استفاده کردند. ۳۰/٤ درصد از نشـانگرهای IMA ، ۱٥/٥ درصد از نشانگرهای SSR و تنها ۸/٦ درصـد از نشـانگرهای AFLP ، چنـد شـکل بودنـد. ایـن میـزان از

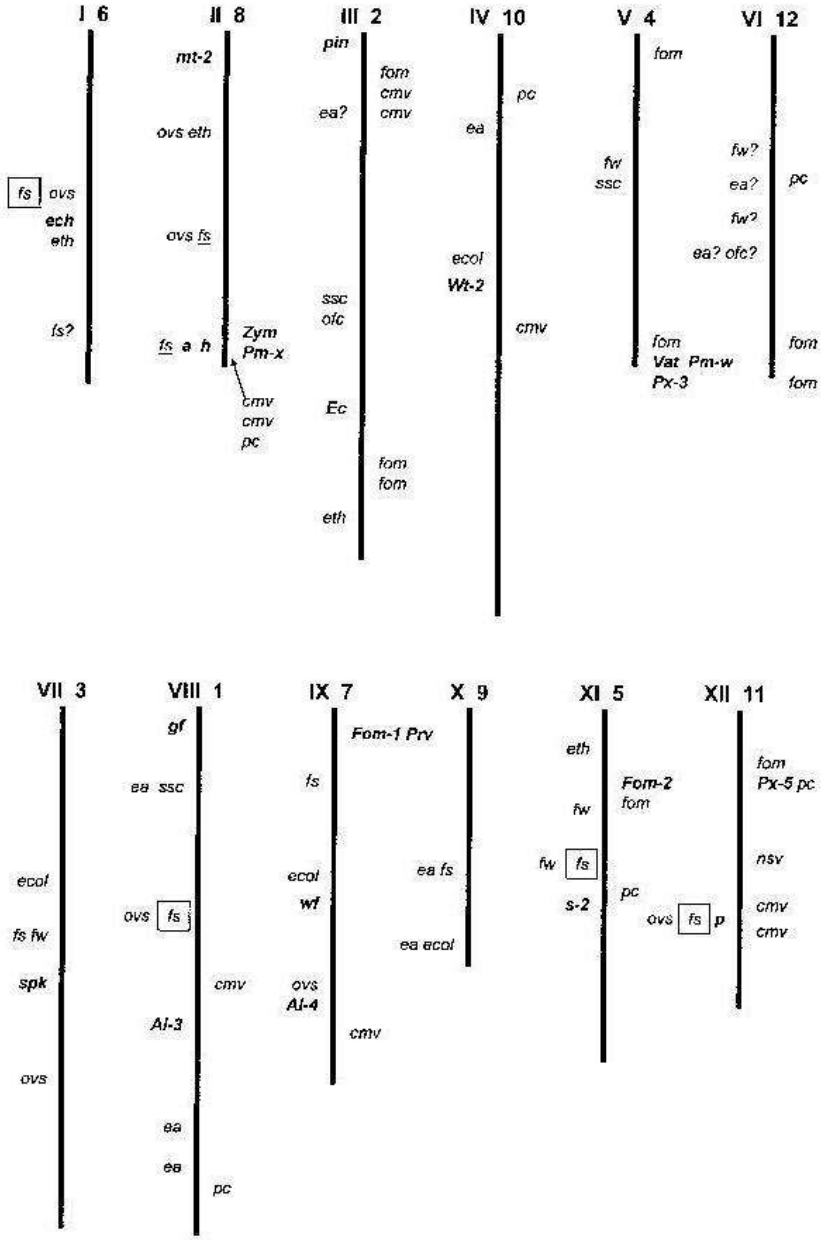
---

[1]. Baudracco- Arnas, S.
[2]. Simple Sequence Repeats
[3]. Katzir, N.
[4]. Danin- Poleg, Y.
[5] . Inter Microsatelite
[6] . Wang, Y. H.

چندشکلی برای نشانگر AFLP ، به‌طور معنی‌داری کمتر از مقدار چندشکلی گزارش‌شده توسط پرین[1] و همکاران(۲۰۰۲) در جمعیت حاصل از تلاقی Véderantais×PI 161375 بود. پرچپید و همکاران(۲۰۰۵)، اعلام نمودند که یکی از دلایل چندشکلی پایین در نشانگرها می‌تواند پایه ژنتیکی محدود برای F2 تلاقی Véderantais×Isabelle باشد. ایشان نتیجه‌گیری نمودند که اکثر QTL های شناسایی‌شده، مغلوب می‌باشند. گزارش دیگری نیز ازسستیلی و همکاران(۲۰۰۵) در مورد شناسایی QTL هایی که در مقاومت به نژاد ۲-۱ درگیر هستند، وجود دارد. ایشان در آزهایش خود از تلاقی مستقیم و معکوس لاین دابل هاپلوئید مقاوم به نژاد ۲-۱، موسوم به Nad-1 و لاین اینبرد کاملاً حساس شارنته تی، دو جمعیت F1 و به تعاقب آن، دو جمعیت در حال تفرق F2 تولید کردند. نمونه DNA ی ۱۹۲ فرد F2 وارد یک برنامه BSA[2] تغییریافته شد. درنهایت با استفاده از نشانگرهای AFLP ، تعداد ۹ QTL برای مقاومت به نژاد ۲-۱، واریانت پژمردگی شناسایی گردید. مکان‌یابی و جستجوی QTL ها برای صفات دیگر در ملون‌ها انجام‌شده است. یکی از آخرین نقشه های پیوستگی به نقل از پیترا(۲۰۰۸) در شکل (۱۱) ملاحظه می‌شود.

---

1. Périn, C.
2 . Modified Bulk Sergeants Analysis



شکل ۱۱. نقشه مقدماتی پیوستگی ژن‌های صفات مهم در خربزه. گروه‌های پیوستگی یا با شماره های رومی (پرین و همکاران،a ۲۰۰۲) و یا با شماره های معمولی، (اولیور[1] و همکاران، ۲۰۰۱)، برچسب دار شده‌اند. ژن‌ها و QTL ها به ترتیب با کاراکتر های پررنگ عادی نشان داده‌شده‌اند. این شبهه وجود دارد که QTL هایی که روی گره های پیوستگی I ، III وVI با علامت سؤال نشان داده‌شده‌اند متعلق به مکان دیگری باشند.

1 . Oliver, J. L.

توضیح دقیق‌تر شکل (۱۱): ژ نها یا QTL های مرتبط با مقامت به بیماری‌ها در سمت راست و ژن‌ها یا QTL های مرتبط با سایر صفات نظیر گلدهی یا مشخصات میوه ، در سمت چپ گروه‌های پیوستگی نشان داده‌شده‌اند. **ژن‌های مقاومت به بیماری شامل** : *Fom* ، پژمردگی فوزاریومی، *nsv*، ویرس نقطه نکروتیک خربزه، *Pm* ، سفیدک حقیقی، *Prv* ، ویروس لکه حلقوی پاپایا، *Px* ، سفیدک حقیقی ناشی از *Podosphoera xanthii* ، *Vat* ، مقاومت به ویروس‌هایی که با شته منتقل می‌شوند، *Zym* ، ویروس موزاییک زوخینی (موزاییک زرد کدو). QTL **های مقاومت به بیماری**: *cmv* ، ویروس موزاییک خیار، *fom* ، نژاد ۲-۱ پژمردگی فوزاریومی، *Pc* ، سفیدک کرکی (*Pseudoperonospora cubensis*)،

ژن‌های سایر صفات : *a* ، گیاه با گل نر تک‌پایه ، *Ab* ، تشکیل لایه جداکننده(Abscission layer)، *Ec*، خالی از گوشت میوه(Empty cavity)، *ech*، انحنای بیش‌ازحد و مبالغه‌آمیز قلاب انتهای پیچک، *gf* ، گوشت میوه سبزرنگ، *h* ، لپه های هاله‌دار، *mt* ، میوه خالدار، *p* ، تخمدان ۵ برچه‌ای با ۵ بساک روی پرچم،*pin* ، شکل میوه به شکل میوه درخت کاج (در PI 161375)، *s*، دیده شدن ردی از لاله‌ها در میوه (suture)، *spk* ، اپیدرم میوه لک‌دار، *wf* ، رنگ گوشت سفید ، *Wt* ، رنگ سفید بذر

QTL **های کنترل‌کننده سایر صفات میوه**: *ea* ، زودرسی ، *ecol*، رنگ خارجی میوه ، *eth*، کنترل‌کننده هورمون اتیلن، *fs* ، شکل میوه، *fw* ، وزن میوه، *ofc* ، میوه به رنگ نارنجی، *os* ، شکل تخمدان، *ssc* ، مواد جامد محلول (soluble solid content) که می‌توان آن را معادل TSS (Total soluable solids) دانست.

QTL هایی که مسئول کنترل شکل میوه بوده و توسط پرین[1] و همکاران(۲۰۰۲) توصیف شده‌اند، با خط کوچکی در زیر QTL مشخص شده‌اند. QTL هایی که توسط مونفورت[2] و همکاران(۲۰۰٤) ارایه شده‌اند

1 . Périn, C.
2. Monforte, A. J.

به‌صورت عادی وQTL هایی که مشترکا توسط هر دو محقق گزارش‌شده‌اند، در مستطیل کوچکی قرار داده‌شده‌اند. بدیهی است که صفات یا QTL های غالب با حرف بزرگ و صفات یا QTL های مغلوب با حرف کوچک شروع شده‌اند. نقل از پیترا، ۲۰۰۸). این ژن‌ها و برخی از QTL ها در لیست ژن‌های خربزه(پیترا، ۲۰۰۲) به همراه نام ژنوتیپی که دارای صفت موردنظر است، توسط CGC [1]، منتشر شده‌اند.

جمع‌بندی و نتیجه‌گیری:

پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی بیماری بسیار مهمی است که در تمام دنیا گسترش دارد و ازنظر اقتصادی بسیار مهم تلقی می‌شود. این بیماری در کشور ایران نیز حائز اهمیت فراوان بوده و در سال‌های همه‌گیری تا ۱۰۰ درصد کشت‌ها را از بین می‌برد.بر اساس دانش کنونی، تولید ارقام مقاوم تنها راه اقتصادی است که سلامت نوع بشر را تهدید نمی‌کند. با توجه به اینکه مقاومت به نژاد ۲-۱ این بیماری کمی و چندژنی است، به احتمال قریب به یقین این نژاد در آینده، نژاد غالب نواحی آلوده خواهد بود. تمامی نژادهای این بیماری (ازجمله ۲-۱) در واریته تجاری Isabelle هرمی شده است بنا براین، این پایه به عنوان پایه مناسب گرده دهنده در برنامه‌های مقاومت در کشور پیشنهاد می‌گردد. پیش‌تر نیز بیان شد پاتوژن مورد بحث، یک قارچ بدون چرخه جنسی بوده (یا لااقل تاکنون فرم جنسی برای آن یافت نشده است) و از پاتوژنهایی است که به‌سختی نژاد جدید در آن ایجاد می‌شود، ارقام تجاری مقاومی که تولید می‌شوند تا سالیان متمادی ارزش تجاری و صفت مقاومت را به شکل پایداری حفظ می‌کنند. این مقاومت معمولاً به‌راحتی شکسته نمی‌شود. شناسایی QTL ها نیز ارزشمند است مشروط به اینکه هدف از شناسایی QTL به‌درستی تفسیر و مشخص شده و گیاه موردنظر(خربزه) دقیقاً شناخته شود. به‌عنوان‌مثال ، هم اکنون جستجوی QTL های بزرگ اثر مرتبط با عملکرد دانه، در گیاه ذرت کار بی‌نتیجه‌ای خواهد بود چراکه تمام

1. Cucurbits Genetics Cooperative (North Carolina State University, USA)

این QTL ها در جمعیت های ذرت تثبیت شده‌اند. خوشبختانه مواد ژنتیکی موجود در ملون‌ها در کشور بکر و دست‌نخورده باقی‌مانده‌اند. این مطلب به‌نوعی باعث ناراحتی اهل‌فن می‌شود. چراکه پژوهش در قلمرو ملون‌ها در کشورهایی مثل ایالات‌متحده، فرانسه، ایتالیا، اسپانیا، فلسطین اشغالی و چین، از سال‌های پیش از دهه نود میلادی در حال انجام است. از طرف دیگر بررسی منابع ، این نوید را به ما می‌دهد که در مورد ملون‌ها ، فاصله زمانی پژوهشی زیادی بین ایران و سایر کشور های جهان وجود ندارد. چراکه پژوهش‌های بسیار قوی درزمینه ملون‌ها در مراجع آموزشی و پژوهشی کشور آغازشده و به‌طور فراگیری در حال گسترش است. مسئله بعدی تولید جمعیت های مناسب، بر اساس ژرم پلاسم بومی ملون‌ها در کشور است. نگارندگان پیشنهاد می‌کنند این فرایند به‌طور مداوم در برنامه‌های پژوهشی در نظر گرفته شود

فهرست منابع:

- **اعتباریان، ح. ر.** ۱۳۷۶. بیماری های سبزی و صیفی. دانشگاه تهران. صص۱۱۷-۱۲۰.
- **بی نام**، ۱۳۹۵. آمار نامه سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ دفتر آمار و فن آوری اطلاعات، وزارت جهاد کشاورزی.
- **ذاکری، ع. و بنی‌هاشمی، ض**. ۱۳۷۰. نقش علفهای هرز در بقاء قارچ *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* عامل پژمردگی فوزاریومی *Cucumis melo*. در استان فارس. خلاصه مقالات دهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. کرمان. ص ۱۲۸.
- **عرشی، ی**. ۱۳۷۹. اصلاح ژنتیکی سبزیجات زراعی(ترجمه). جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد.
- **Alabouvette, C. , Tramier, R. and Grouet, D. (1980)**. Recherches sur la résistance des sols aux maladies VIII. Perspectives d'utilisation do la résistance des sols pour lutter contre les Fusarioses vasculaires. Ann. Phytopatol. **12**:83-93.
- **Anonymous. (2006).** Comercial types of melons. (International standardization of fruits and vegetables. OECD/OCDE. Paris. Fr. 81pp.
- **Anonymous. (2006**). Melon, Guidelines for the conduct of tests for distincness, uniformity and stability. UPOV document number: TG/104/5. UPOV. Geneve. 51 pp.
- **Banihashemi, Z. (1968a)**. The biology and ecology of *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis* in soil and root zones of host and non host plants. PhD thesis. Michigan State Univ. 114p.
- **Banihashemi, Z. (1968b)**. The existance of fusarium wilt in Iran. Proc. first Pl. Prot. Cong. Iran:47-48.
- **Banihashemi, Z. (1982)**. A new physiological race of *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis* in Iran. Iran J. Pl. Pathol. **18**:1-6.
- **Banihashemi, Z. (1989)**. The existame of race 1 of *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis* in long melon in Garmsar and its virulence to different cultivars of *cucumis melo*. Proc. 9th. Pl. Prot. Congress:97.
- **Banihashemi, Z. and Dezeeuw, D. J. (1975)**. The behavior of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in the presence and absence of host plants. Phythopathology. **65**: 1212-1217.

- **Baudracco – Arnas, S. (1995)**. A simple and inexpensive method for DNA extraction from *Cucumis* melo L. Cucurbit. Genet. Coop. Rep. **18**: 50-51.
- **Burger, Y. , Katzir, N. , Tzuri, G. , Portnoy, V. , Saar, U. , Shriber, S. , Perl-Treves, R. and Cohen, R. (2003)**. Variation in response of melon genotypes to *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis* race 1 determined by inoculation tests and molecular markers. Plant Pathology **52**:204-211.
- **Chikh-Rouhou, H. , Gonzalez-Tores, R. , Oumouloud, A. and Alvarez, J. M. 2011.** Inheritance of race 1. 2 Fusarium wilt resistance in fourmelon cultivars. Euphytica. 182: 177-186
- **Cohen, R. , Blier, B. , Schaffer, A. A. and Katan,J. (1996)**. Effect of acetochlor treatment of fusarium wilt and sugar content in melon seedlings. Europian Jour. Plant Pathol. **102** :45-50.
- **Conway, K. E. (1996)**. An overview of the influence of sustainable agricultural systems on plant microbial degradation of lignins. Enzyme microbial Techno. **6**: 434-442.
- **Danin – Poleg, Y. , Reis, N. , Tzuri, G. and Katzir, N**. **(2001)**. Development and characterization of micro satellite markers in *Cucumis*. Theor. Appl. Genet. **102**: 61-72.
- **Dong, H. and Cohen, Y. (2001**). Extracts of killed Penicillium chrysogenum induce resistance against Fusarium wilt in melon. Phytoparasitica. **29**: 1-9.
- **Erzurum, K. , Taner, Y. , Secer, E. , Yamnaz, R. and Maden, S**. (**1999)**. Occurrence of races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing wilt on melon in central Anatolia. J. Turkish Phytopathol. **28**:87-97.
- **F.A.O. (2017). FAOSTAT** agricultural database in: " http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC"
- **Ficcadenti, N. , Sestili, S. , Annibali, S. and Campanelli, G. (2002)**. Resistance to *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis*. Race. 1,2 in muskmelon lines Nad-1. and Nad-2. Plant Disease. (86) **8**:897-900.
- **Freeman, S. , Zveibil, A. , Vintal, H. and Maymon, M. (2001)**. Isolation of nonpathogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for biological control of Fusarium wilt in cucurbits. Phytopathol. **92**: 164-168.
- **Gordon, T. R. and Okamoto, D. and J Jacobson, D. J. (1989)**. Colonization of muskmelon and nonsusceptible crops by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and other species of Fusarium. Phytopathol. **79**:1095-1100.

- **Horsfall, J. G. and Diamond, A. E. (1957).** Interactions of tissue sugar, growth substances and diseases susceptibility. Zeitchrift für pflanzenkrankheitenpflanzen pathologie und pflanzrenschuts. **64**: 415-421.
- **Jacobson, D. J. and Gordon, T. R. (1988)**. Vegetative compatibility and self incompatibility within *Fusarium Oxysporum* f. sp. *melonis*. Phytopatology. (78) **6**: 668-672.
- **Katzir, A. , Danin-Poleg, Y. , Tzuri, G. , Karchi, Z. , Lavi, U. and Cregan, P. B. (1996).** Length polymorphism and homologies of microsatellites in several *Cucurbitaceae* species. Theor. Appl. Genet. **93**: 1282-12900.
- **Lecoq, H. , Pitrat, M. , Bananej, K. and kheyr-pour, A. (2000)**. Field survey of cucurbit viruses in north east and central regions of Iran. Report of framework of Iran-France project on the studies of cucurbit diseases. AREO. IRAN.
- **Martyn, R. D. and Gordon, T. R. (1996)**. Fusarium wilt of melon. In: Zitter, T. A. , Hopkins, D. L. and Thomas, C. E. (Eds). Compendium of cucurbit diseases. APS press. U. S. A. pp11-13.
- **Marukawa, S. (1979)**. Studies on varieties of Cucurbita spp. as rootstocks for cucurbitaceous vegetables, with special reference to grafting compatibility. Bull. Ibaraki-Ken Hortic. Exp. Stn. Special Issue No. **5**.
- **Mas, P. , Molot, P. M. and Risser, G. (1981)**. Fusarium wilt of muskmelon. In: Nelson, P. E. , Toussen, T. A. and Cook, R. J. (Eds). Fusarium, Disease, Biology and Taxonomy. Pennsylvania state university press. U. S. A. pp169-177.
- **Namiki, F. , Shiomi, T. , Nishi, K. , Kayamora,T. and Tsuge, T. (1998).** Pathogenic and genetic variation in Japanese strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Phytopathology. **88** :804-810.
- **Niks, R. E. and Rubiales, D. (2002)**. Potatially durable resistance mechanisms in plants to specialized fungal pathogenes. Euphytica. **124**: 201-216.
- **Perchepied, L. and Pitrat, M. (2004)**. Polygenic inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1. 2 in melon. Phytopathology. **94**: 1331-1336.
- **Perchepied, L. , Dogimont, C. and Pitrat, M. (2005)**. Strain specific and recessive QTLs involved in the control of *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis* race 1,2 in

a recombinant inbred line population of melon. Theoretical and applied genetics. **111**:65-74.

- **Périn C. , Hagen, L. S. , do Conto, V. , Katzir, N. , Danin – Poleg, Y. , Portnoy, V. , Baudracco – Arnas, S. , Chadoeof, J. , Dogimont, C. and Pitrat, M. (2002).** A reference map of *Cucumis melo* L. based on twoi recombinant inbred line populations**.** Theor. Appl. Genet. **104**: 1017-1034.
- **Pink, D. A. C. (2002).** Stratregies using genes for non durable disease resistance. Euphytica. **124**: 224-236.
- **Pitrat, M. (2002)**. 2002 Gene list for Melon. CGC. NCSU. USA.
- **Pitrat, M**. **(2008).** Melon. In: Prohens, J. and Nuez, F. (Eds) " Vegetables I, Asteraceae, Brassicaseae, Chenopodiaceae and Cucurbitaceae. Springer. 283-315.
- **Punja, Z. K. , Parker, M. and Elmhirst, J. F. (2001)**. Fusarium wilt of field-grown muskmelon in British Columbia. Can. Jour. Plant Pathol. **23**: 403-410.
- **Renner, S. S. , Schaefer, H. and Kocyian, A. (2007)**. Phylogenetics of Cucumis (*Cucurbitaceae*): Cucumber (C. *sativus*) belongs an Asian/Australian clade far from melon (C. *melo*). BMC Evolutionary Biology. **7**: 58.
- **Risser, G. and 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.
- **Risser, G. , Banihashemi, Z. and Davis, D. W. (1976).** A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in Cucumis melo. Phytopathol. **66**: 1105-1106.
- **Schreuder, W. , Lamprecht, S. C. and Holz, G**. (**2000)**. Race determination and vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* from South Africa. Plant Dis. **84**:231-234.
- **Sestili, S. , Campanelli, G. , Ferrari, V. , Belisario, A. , Papa, R. and Ficcadenti, N. (2005)**. Development of molecular markers linked to the resistance to *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis* race 1,2w in melon. Proc. XLIX Italian Sco. Agr. Genet. Annual Congress. Potenza. Italy.
- **Shafagh, N. , Falahati Rastegar, 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 Nnorthern and Razavi Khorasan province. Research Journal of Biological Sciences. **3** (7): 790-793.

- **Shahidi Bonjar, G. H. , Rashid Farrokhi, P. , Bafti, S. , Aghighi, S. , Mahdavi, M. J. and Aghelizadeh, A. (2006)**. Laboratory preparation of a new anti-fungal agent from Streptomyces olyvaceous in control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* of Cucurbits in greenhouse. Journal of A[pplied Sciences. **6** (3): 607-610.
- **Staub, J. E. , Robbins, M. D. and Wehnner, T. C. 2008**. Cucumber. In: Prohens, J. and Nuez, F. (Eds) " Vegetables I, Asteraceae, Brassicaseae, Chenopodiaceae and Cucurbitaceae. Springer. pp243-282.
- **Suarez-Estrella, F. , Vargas-Garcia, M. C. , Lopez, M. J. and Moreno, J. (2004).** Survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* on plant waste. Crop Protection. **23**:127-133.
- **Wang, Y. H. , Thomas, C. E. and Dean, R. (2000)**. Genetic mapping of Fusarium wilt resistance gene Fom-2 in melon (*Cucumis melo* L.). Mol. Breed. **6**: 379-389.
- **Wechter, W. P. , Whitehead, P. , Thomas, C. E. and Dean, R. A. (1995)**. Identification of a Randomly Amplified Polimorphic DNA marker linked to the Fom-2 Fusarium wilt resistance gene in muskmelon MR-1. Molecular Plant Pathology. **85** (10) :1245-1249.
- **Whitaker, T. W. and Davis, G. N. (1962).** Cucurbits: botany, cultivation and utilization. Leonard Hill Ltd. London. UK.
- **Zheng, X. Y. , Wolff, D. W. , Baudracco-Arnas, S. and Pitrat, M. (1999).** Development and utility of cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) and restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) linked to the Fom-2 fusarium wilt resistance gene in melon (Cucumis melo L.). Theoretical and applied genetics, 99(3-4), pp. 453-463.
- **Zheng, X. Y. and Wolff, D. W. (2000**). Development of a SCAR marker associated with Fusarium wilt resistance and the evidence of its segregation with Fom-2 gene in melon (*Cucumis melo* L.). Subtropical Plant Science. **52**: 1-7.
- **Zink, F. W. and Thomas, C. E. (1990).** Genetics of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 0, 1 and 2 in muskmelon line MR-1. Plant dis. **80**: 1230-1232.

- **Zuniga, T. L. , Zitter, T. A. , Gordon, T. R. , Schroeder, D. T. and Okamoto, D. (1997)**. Characterization of pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing Fusarium wilt of melon in New York. Plant Dis. **81**: 592-596.

MINISTRY OF JIHAD – E- AGRICULTURE

AGRICULTURE RESEARCH, EDUCATION AND EXTENSION ORGANIZATION

Hoeticultural Science Research Inistitute (HSRI)

Vegetable Research Center

Handbook Title : Method for releasing resistant virieties against Vascular wilting of melon

By: Rafezi, R, Khodadadi, M. and Hajiyanfar, R

Circulation: 20 copies

DATE OF ISSUE: Summer 2018

Publisher: Horticultural Research Institute of I.R. IRAN

MINISTRY OF JIHAD-E-AGRICULTURE

AGRICULTURE RESEARCH, EDUCATION AND EXTENTION ORGANIZATION

HORTICULTURAL SCIENCE RESEARCH INSTITUE

VEGETABLE RESEARCH CENTER

HANDBOOK:

Method for releasing resistant virieties against Vascular wilting of melon

By:

Ramin Rafezi, Mohsen Khodadadi and Ramin Hajiyanfar

Summer 2018

REGISTER NO:

فرم ثبت انتشارات وزارت جهاد کشاورزی

عنوان : سازوکار معرفی رقم مقاوم به بیماری پژمردگی آوندی خربزه و طالبی

نویسنده: رامین رافضی ، محسن خدادادی

مترجم :

گرد آورنده : رامین رافضی، محسن خدادادی، رامین حاجیان فر

در صورتی که اثر ترجمه باشد، لطفا عنوان و مشخصات کامل ماخذ اصلی را مرقوم فرمایید

ناظـــر :

ویراستار: محمد رضا ایمانی، رامین روح پرور

چاپ :

در صورتی که اثر ترجمه باشد، لطفا عنوان و مشخصات کامل ماخذ اصلی را مرقوم فرمایید

ویرایش :

محل نشر: پژوهشکده ی سبزی و صیفی ، موسسه تحقیقات علوم باغبانی

نام ناشر:

تاریخ انتشار: تابستان ۱۳۹۷

تعدادصفحات : ۵۰

تیراژ: ۱۰ نسخه

زبان اصلی: فارسی

لطفا موضوع کتاب یا نشریه خود را در ۵۰ کلمه مرقوم فرمایید

دستینه حاضر به تشریح وضعیت بیماری مهم پژمردگی آوندی خربزه و طالبی در سطح جهانی و در کشور پرداخته و راهکار های کنترل بیماری را با تأکید بر تولید ارقام مقاوم ارایه می نماید.

نوع : کتاب ☐ نشریه ■ نشریه ادواری ☐