**دانشکده تولید گیاهی**

**پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی‌ارشد در رشته**
**بیماری‌شناسی گیاهی**

# بررسی سازگاری و ناسازگاری رویشی و تنوع ژنتیکی جدایه‌های فوزاریوم عامل پژمردگی گیاهان جالیزی

**پژوهش و نگارش:**
فاطمه خیری

**استاد راهنما:**
دکتر کامران رهنما

**استاد مشاور:**
دکتر احد یامچی

**تابستان ۱۳۹۳**

## تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه انجام فعالیت‌های پایان‌نامه‌های تحصیلی با بهره‌گیری از حمایت‌های علمی، مالی و پشتیبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت می‌پذیرد، به منظور رعایت حقوق دانشگاه، نسبت به رعایت موارد زیر متعهد می‌شوم:

۱. این گزارش حاصل فعالیت‌های علمی- پژوهشی و دانش و آگاهی نگارنده است مگر آنکه در متن به نویسنده یا پدید آورنده اثر ارجاع داده شده باشد.

۲. چاپ هر تعداد نسخه از پایان‌نامه با کسب اجازه کتبی از مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه خواهد بود.

۳. انتشار نتایج پایان‌نامه به هر شکل (از قبیل کتاب، مقاله و همایش) با اطلاع و کسب اجازه کتبی از استاد راهنما خواهد بود. نام کامل دانشگاه:

به فارسی: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

و به انگلیسی: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

در بخش آدرس‌دهی درج خواهد شد.

٤. در انتشار نتایج پایان‌نامه در قالب اختراع، اکتشاف و موارد مشابه، نام کامل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به عنوان عضو حقوقی در انتهای فهرست اسامی درج گردد.

۵. تعیین ترتیب اسامی نویسندگان در انتشار نتایج مستخرج از پایان‌نامه و هر گونه تفاوت احتمالی در آن با فهرست مصوب اسامی هیات راهبری پایان‌نامه با تایید استاد راهنمای اول خواهد بود.

اینجانب **فاطمه خیری** دانشجوی رشته **بیماری‌شناسی گیاهی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیم به

بی‌دلیل‌ترین گنجینه‌های هستی

پدرم

به پاس زلال باطنش، بلندای نگاهش، که هرچه دارم همه از سخاوت اوست

مادرم

الهه مهرم، مظهر عشقم، او که دعاهایش بزرگ‌ترین سرمایه‌ام در زندگی است

# تشکر و قدردانی

سپاس بی‌پایان پروردگار بی‌همتا را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت‌های او ندانند. سپاس او که فرصت آموختن علم و دانش را ارزانیم داشت و در تمام مراحل زندگی یاریم نمود. حال که نگارش این رساله به اتمام رسیده است، بر خود لازم می دانم کمال تقدیر و تشکر خود را نثار کسانی کنم که در این مسیر پر فراز و نشیب لحظه ای از راهنمایی، پشتیبانی و تشویق من دریغ نکردند. از استاد بردبارم، جناب آقای دکتر کامران رهنما، که تمام روزهایی که تحت نظارت ایشان مشغول به کار بودم سرشار از آموختن علم بود، نهایت تشکر را دارم. استاد مشاور، آقای دکتر احد یامچی بی‌شک بهره‌مندی از مشاوره و مصاحبت علمی با شما فرصتی مغتنم بود که موجب ارتقاء دانش و غنای کارم شد. سپاس مرا پذیرا باشید. از دوستان عزیزم که مرا در راستای انجام مراحل مختلف پایان نامه همراهی کردند سپاسگزارم.

## چکیده

بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp *melonis* متداول‌ترین و گسترده‌ترین بیماری در خربزه است که در چند کشور جهان و از جمله ایران گزارش شده است. استفاده از ارقام مقاوم یکی از موثرترین روش‌های مدیریت این بیماری محسوب می‌شود، اما به منظور انتخاب و توسعه ارقام مقاوم آگاهی از تنوع ژنتیکی جمعیت‌های این قارچ ضروری است. در این مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت این بیمارگر در استان خراسان رضوی بررسی گردید. بدین منظور ۲۰ جدایه قارچ *F. oxysporum* f.sp. *melonis*، عامل پژمردگی خربزه از استان خراسان (کلکسیون گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) انتخاب و با استفاده از گروه‌های سازگاری رویشی و روش ISSR تنوع ژنتیکی آن‌ها بررسی شد. برای بررسی گروه‌های سازگاری رویشی، ابتدا جهش‌یافتگان نیت به صورت سکتورهائی در محیط‌های مختلف کلرات‌دار تولید شده، سپس کلاس فنوتیپی جهش‌یافتگان براساس مشخصات رشدی پرگنه آن‌ها روی محیط پایه حاوی یکی از پنج نوع منبع نیتروژن (نیترات سدیم، نیتریت سدیم، تارتارات آمونیوم، اسید اوریک و هیپوزانتین) تعیین گردید. بر این اساس ٦٨٪ از موتانت‌های نیت در کلاس فنوتیپی nit1، ١٨٪ آن‌ها در کلاس nit3 و ١٤٪ آن‌ها در کلاس فنوتیپی nitM قرار گرفتند. به منظور انجام آزمون‌های مکمل‌سازی و تعیین گروه‌های سازگاری رویشی، بین تمامی جهش یافتگان nitM هر جدایه با جهش یافتگان nit1 یا nit3 سایر جدایه‌ها کشت متقابل انجام شد. در نتیجه بین جدایه‌ها، سازگاری رویشی مشاهده نشد و جدایه‌ها در ۲۰ گروه سازگاری رویشی قرار گرفتند. همچنین تنوع ژنتیکی این جدایه‌ها با استفاده از بیست آغازگر بررسی شد. تجزیه خوشه‌ای داده‌های ISSR با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه SM جدایه‌ها را در سطح تشابه ٦٠ درصد در پنج گروه قرار داد. این نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در بین جدایه‌های قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی خربزه در استان خراسان رضوی وجود دارد. از طرف دیگر با توجه به آنالیز کلاستر و دندروگرام ترسیم شده چنین نتیجه گیری شد که به جز موارد محدود بین پراکنش جغرافیایی و گروه‌های ژنتیکی ارتباط مشخصی وجود نداشت.



***واژه‌های کلیدی:*** هتروکاریون، سازگاری رویشی، تنوع ژنتیکی، نشانگر ISSR، *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**


**فصل اول**

۱-۱ خاستگاه و تاریخچه طالبی و خربزه ..... ۲

۱-۲ گیاهشناسی ..... ۲

۱-۳ ارقام طالبی و خربزه ..... ۳

۱-٤ شرایط آب و هوایی ..... ۳

۱-۵ اهمیت اقتصادی طالبی و خربزه ..... ٤

۱-٦ اهداف ..... ۵

**فصل دوم**

۲-۱ قارچ *Fusarium oxysporum* ..... ۸

۲-۲ تاریخچه پیدایش و بیماریزایی قارچ *F. oxysporum f. sp. melonis* ..... ۸

۲-۳ علائم بیماری ..... ۹

۲-٤ چرخه بیماری ..... ۱۰

۲-۵ مکانیسم بیماریزایی *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* ..... ۱۰

۲-٦ نژادهای فیزیولوژیک و ژن‌های مقاومت *F. oxysporum f .sp. melonis* ..... ۱۲

۲-۷ کنترل قارچ *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* ..... ۱۲

۲-۸ استفاده از ارقام مقاوم جهت کنترل بیماری ..... ۱۳

۲-۹ معرفی VCG ..... ۱٤

۲-۱۰ اهمیت VCG در شناسایی قارچ *Fusarium oxysporum* ..... ۱۵

۲-۱۱ بررسی سازگاری رویشی در قارچ *Fusarium oxysporum* ..... ۱٦

۲-۱۲ تشخیص گروه‌های سازگاری رویشی ..... ۱٦

۲-۱۳ اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی ..... ۱۷

۲-۱٤ نشانگرهای ژنتیکی ..... ۱۸

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**


۲-۱۵ نگرشی بر بررسی‌های تنوع ژنتیکی قارچ فوزاریوم ..... ۱۹

**فصل سوم**

۳-۱ بررسی گروه‌های سازگاری رویشی (VCG)..... ۲۲

۳-۱-۱ تولید جهش یافتگان نیت..... ۲۲

۳-۱-۲ شناسایی جهش یافتگان نیت ..... ۲۲

۳-۱-۳ تعیین کلاس فنوتیپی جهش یافتگان نیت ..... ۲۲

۳-۱-٤ آزمون مکمل سازی فیزیولوژی جهش یافتگان نیت و تعیین گروه‌های سازگاری رویشی۲۳

۳-۲ بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با استفاده از نشانگر مولکولی ..... ۲٤

۳-۲-۱ تولید انبوه میسلیوم ..... ۲٤

۳-۲-۲ استخراج DNA..... ۲۵

۳-۲-۳ تعیین کمیت و کیفیت DNA..... ۲۵

۳-۲-٤ روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)..... ۲٦

۳-۲-۵ تهیه ی ژل و انجام الکتروفورز برای بررسی نتایج آزمون PCR..... ۲٦

۳-۳ ارزیابی نتایج ..... ۲۸

**فصل چهارم**

٤-۱ مشخصات گونه‌های *F. oxysporum* مورد مطالعه..... ۳۰

٤-۲ نتایج سازگاری رویشی..... ۳۱

٤-۲-۱ جداسازی جهش یافتگان نیت ..... ۳۱

٤-۲-۲ کلاس فنوتیپی جهش یافتگان نیت ..... ۳۳

٤-۲-۳ آزمون مکمل سازی و تعیین گروه‌های سازگاری رویشی (VCG)..... ۳٤

٤-۳ نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی با نشانگر ISSR..... ۳۵

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**


٤-٣-١ چندشکلی آغازگرها ..... ٣٥
٤-٣-٢ تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها ..... ٣٦
٤-٣-٣ تجزیه خوشه‌ای داده‌های ISSR ..... ٣٦
بحث ..... ٣٨
پیشنهادها ..... ٤٣
منابع ..... ٤٦
ضمائم ..... ٥٤

## فهرست جدول‌ها

**عنوان** **صفحه**

جدول ۱-۱ سطح زیر کشت و عملکرد محصول خربزه در شهرستان‌هایی از خراسان رضوی که سطح زیر کشت بالای ۱۰۰۰ هکتار را دارا می‌باشند ..... ۵
جدول ۳-۱ تعیین کلاس فنوتیپی جهش یافتگان نیت روی پنج محیط نیتروژن دار مختلف ..... ۲۳
جدول ۳-۲ مشخصات ایزوله‌های قارچی مربوط به قسمت‌های مختلف استان خراسان..... ۲٤
جدول ۳-۳ چرخه‌ی دمایی واکنش زنجیرهای پلیمراز ..... ۲٦
جدول ۳-٤ نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده در واکنش ISSR-PCR..... ۲۷
جدول ٤-۱ درصد فراوانی فنوتیپ‌ها روی محیط کشتهای حاوی کلرات ..... ۳۳
جدول ٤-۲ مشخصات جدایه‌های *F. oxysporum* براساس نام جدایه، محل جغرافیایی و VCG..... ۳٤
جدول ٤-۳ تعداد کل نوارهای تکثیر شده، نوارهای چندشکل و میزان PIC ترکیبات آغازگری ISSR..... ۳٦

## فهرست شکل‌ها

**عنوان** **صفحه**


شکل ٤-١: مشخصات ریخت شناسی *F. oxysporum* روی محیط کشت PDA ..... ٣١
شکل ٤-٢: رشد نامنظم قطاعها از کلنی تیپ وحشی ..... ٣٢
شکل ٤-٣: رشد گسترده و فاقد ریسه هوایی موتانت نیت روی محیط حداقل ..... ٣٣
شکل ٤-٤: رشد گسترده روی محیط کشت دارای یکی از پنج منبع نیتروژن ..... ٣٤
شکل ٤-٥: الگوی نواری حاصل از تکثیر آغازگر UBC-809 ..... ٣٥
شکل ٤-٦: گروه‌بندی جدایه‌های قارچ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* از مزارع مختلف
استان خراسان براساس نشانگر ISSR، با استفاده از روش UPGM ..... ٣٧
شکل ٤-٧ پلات سه بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ..... ٣٨

# فصل اول

# مقدمه و کلیات

## ۱-۱ خاستگاه و تاریخچه طالبی و خربزه

نام علمی: *Cucumis melo* L.

طالبی و خربزه متعلق به تیره کدوئیان (cucurbitacea) از مهمترین گیاهان این خانواده محسوب می‌شوند، که در نواحی گرم و خشک کشت می‌شوند (فرحوش و مبشر، ۱۳۸۵). برای نخستین بار اسم طالبی در اروپا در سال ۱۳۸۸ میلادی به وسیله وایکلیف برده شده است (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). خربزه یک گونه گرمسیری بسیار قدیمی است که طبق نظر دکاندول از آفریقا منشا گرفته است (عرشی، ۱۳۷۹). قدمت کشت آن به حدود ۲٤۰۰ سال قبل از میلاد مسیح در مصر برمی‌گردد (نوروزی و همکاران، ۱۳۹۰). کشورهای آسیایی نظیر افغانستان، چین، هند، ایران، عربستان سعودی، جنوب روسیه و ترکیه مراکز مهم ژنی هستند که سبب ایجاد ارقام زراعی خربزه شده‌اند. نقطه اولیه برای ایجاد تنوع در خربزه جنوب غربی آسیا و آسیای میانه و عمدتاً ترکیه، سوریه، ایران، افغانستان، هند و ازبکستان است (عرشی، ۱۳۷۹). کاشت گونه‌های مختلف این گیاه امروزه در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر رایج است و در آسیا، شمال آفریقا، اسرائیل و در اروپا در ایتالیا و یونان به کشت آن در سطوح بزرگ می‌پردازند (پیوست، ۱۳۸۱).

## ۱-۲ گیاه‌شناسی

خربزه و طالبی گیاهان یک‌ساله دارای ساقه‌ی بالا رونده، خزنده، پوشیده از کرک‌های ریز است. برگ‌های طالبی و خربزه پوشیده از کرک با دمبرگ طویل و به طور متناوب روی ساقه قرار گرفته و از محور برگ‌ها پیچک‌های ساده و بدون انشعاب خارج می‌شود (فرحوش و مبشر، ۱۳۸۵؛ پیوست، ۱۳۸۱؛ بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). خربزه و طالبی یک پایه هستند و گل‌های نر و ماده از هم جدا بوده، ضمن اینکه بوته دارای گل‌های کامل هم است. گل‌های این گیاهان در محور برگ‌ها تشکیل می‌شوند و گل‌های نر آن به‌طور چندتایی با هم مجتمع شده و به‌صورت یک خوشه در می‌آید (پیوست، ۱۳۸۱؛ بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). گل‌های ماده به صورت انفرادی تشکیل می‌شود (فرحوش و مبشر، ۱۳۸۵؛ بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). این گیاهان دارای دو نوع گل هستند. گل‌های کامل و گل‌های ناقص (نر) که در ابتدا گل‌های ظاهر می‌گردند و تعداد آن‌ها بیشتر از گل‌های کامل است. درجه حرارت مناسب تلقیح گل‌ها ۳۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد است (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰)

که حشرات در گرده افشانی آن نقش اساسی دارند (پیوست، ۱۳۸۱؛ دانشور، ۱۳۷۹). سیستم ریشه‌ای خربزه و طالبی از ریشه اصلی با ریشه‌های محوری تشکیل شده که به عمق خاک فرو می‌رود (پیوست، ۱۳۸۱؛ بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰).

## ۱-۳ ارقام طالبی و خربزه

زیر گونه‌های *Cucumis melo* عبارتند از:

Cantaloupensis, Inodorous, Flexuosus, Conomon, Chito, Dudiam. در آمریکا دو نوع reticulatus و inodorous دارای ارزش اقتصادی بوده و به طور وسیعی کشت می‌گردند.

برخی ارقام کشت شده در ایران عبارتند از:

تاشکندی، مشهدی عباسی، گرگاب، شاه آبادی، جعفری، خاقانی، حاج ماشاءاللهی، گرمساری، محمدآبادی، مجیدی، روستاق، صابونی، جعفرآبادی، عباس شوری، ایوانکی، سمسوری ورامین (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰).

## ۱-٤ شرایط آب و هوایی

خربزه و طالبی بهترین نتیجه را در آب و هوای گرم و خشک می‌دهند. آن‌ها گیاهان یک ساله‌اند و احتیاج به فصل رشد طولانی دارند. این گیاهان در مناطقی کاشته می‌شوند که بین آخرین سرمای بهاره و اولین سرمای پاییزه حدود ۱٤۰ روز فاصله باشد (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). هوای مرطوب، ابری و بارانی در موقع رسیدن میوه باعث می‌شود که خربزه و طالبی طعم مطبوع و کیفیت لازم را پیدا نکند و میوه آن‌ها در این آب و هوا شیرین نمی‌شود (پیوست، ۱۳۸۱). طالبی و خربزه در خاک‌های شنی یا سیلتی لوم حاصلخیز که دارای مواد غذایی آلی و معدنی کافی باشند بهترین نتیجه را می‌دهند (مبلی و پیراسته، ۱۳۷۷؛ بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). مناسب‌ترین pH برای کاشت خربزه و طالبی بین ٦ تا ۷ می‌باشد. در خاک‌های اسیدی رشد آن کاهش یافته و برگ‌ها به رنگ زرد مایل به سبز درمی‌آید (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). استفاده از کودهای آلی و شیمیایی برای زراعت این گیاهان ضروری است. مقدار و نوع کود بستگی به حاصلخیزی و نوع خاک دارد و مقدار آن حدود ۱۰۰ گرم ازت (در سه مرحله)، ۱۰۰ کیلوگرم $P_2O_5$ و ۲۰۰ کیلوگرم $K_2O$ در هکتار است. کاربردهای مناسب کودها در

طی زمان‌های مناسب باعث افزایش عملکرد گیاه و کیفیت میوه شده و حتی ممکن است محصول به زودی به مرحله گلدهی برسد (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰).

معمولا کشت خربزه و طالبی در زمین‌های اصلی صورت می‌گیرد. گاهی اوقات زمین را به صورت جوی و پشته، کپه‌ای و نمکاری درمی‌آورند. تعداد ۳ تا ۵ بذر خیس شده در هر کپه کاشته می‌شود. بعد از سبز شدن تعداد بوته‌ها به ۲ یا ۳ و گاهی به یک بوته کاهش داده می‌شود. فاصله دو بوته حدود ٦٠ تا ۱۰۰ سانتی‌متر و فاصله دو خط کشت بین ۲ تا ۳ متر در نظر گرفته می‌شود. در نقاطی که طول دوره رویش گیاه مناسب نباشد، می‌توان خربزه را در گلخانه و یا سایر بسترهای گرم به صورت ردیفی پرورش داد (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). زمان برداشت طالبی و خربزه بستگی به نوع رقم، میزان دمای محیط در موقع برداشت، روش‌های حمل و نقل و بالاخره زمان لازم از موقع برداشت تا رسیدن به بازار متفاوت دارد. محصولاتی مانند طالبی و خربزه را در اوایل صبح یا اواخر غروب برداشت می‌کنند. آب و هوای گرم و خشک پیش از برداشت باعث افزایش طعم و بوی میوه‌ها می‌شود (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). معمولاً خربزه را پس از رسیدن کامل برداشت می‌کنند زیرا میوه‌ها در این حالت دارای قند زیادتری هستند (پیوست، ۱۳۸۱). چنانچه فاصله محل تولید تا بازار مصرف کوتاه باشد، بهتر است میوه کاملا رسیده و شیرین باشد. اگر فاصله دور و طولانی باشد، توصیه می‌شود میوه نرسیده باشد، چون میوه‌های رسیده شدیداً آسیب می‌بینند و بازار پسندی خود را نیز از دست می‌دهند (نوروزی و همکاران، ۱۳۹۰).

## ۱-۵ اهمیت اقتصادی طالبی و خربزه

گیاهان خانواده کدوئیان از نظر اقتصادی اهیمت فراوانی دارند، به طوری که با تولید سالانه بیش از ٦٠ میلیون تن حدود ١٤ درصد تولید سبزی‌ها را به خود اختصاص داده‌اند (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). خربزه یکی از مهم‌ترین محصولات جالیزی ایران به شمار می‌رود به طوری که از ۳۲٦ هزار هکتار سطح زیر کشت این محصولات ٢٤/٨ درصد آن به کشت خربزه اختصاص دارد و تقریبا در اکثر استان‌های کشور کشت می‌شود. استان خراسان رضوی با بیش از ۳۹ هزار هکتار سطح زیر کشت یکی از مناطق مهم کشت این محصول در کشور به شمار می رود (آمارنامه ۸۹-۹۰). از مهم‌ترین مناطق کشت خربزه در استان خراسان رضوی می‌توان به شهرستان‌های تربت جام، تربت حیدریه، خواف،

تایباد، سرخس، قوچان، نیشابور و مشهد اشاره نمود (ربانی نسب و همکاران، ۱۳۹۲). جدول ۱-۱ سطح زیر کشت و عملکرد این محصول را در شهرستان‌های ذکر شده نشان می‌دهد (نوروزی و همکاران، ۱۳۹۰).

**جدول ۱-۱ سطح زیر کشت و عملکرد محصول خربزه در شهرستان‌هایی از خراسان رضوی که سطح زیر کشت بالای ۱۰۰۰ هکتار را دارا می‌باشند.**

| شهرستان | سطح زیر کشت (هکتار) | عملکرد (کیلوگرم/هکتار) |
|---|---|---|
| تربت جام | ۲۰۰۰ | ۱۶۰۰۰ |
| تایباد | ۹۷۵۰ | ۱۴۰۰۰ |
| مشهد | ۳۸۵۰ | ۱۵۰۰۰ |
| خواف | ۲۶۰۰ | ۱۴۵۰۰ |
| سرخس | ۱۶۰۲ | ۱۲۰۰۰ |
| تربت حیدریه | ۱۳۰۰ | ۱۵۵۰۰ |
| نیشابور | ۱۴۰۰ | ۱۲۵۰۰ |

## ۱-۶ اهداف

در بیماری شناسی گیاهی برای دستیابی به بهترین روش مدیریت بیماری، شناسایی فاکتورهایی که مهم‌ترین نقش را در تکامل بیمارگر دارند و اینکه چگونه این نیروهای تکاملی بر هم اثر متقابل دارند تا ترکیب ژنتیکی و پتانسیل تکاملی جمعیت‌های بیمارگر را رقم بزنند مهم بوده، بنابراین شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت بیمارگرها اهمیت زیادی دارد. هدف از این تحقیق شناسایی تنوع ژنتیکی موجود در بین جدایه‌های *F. oxysporum* f. sp. *melonis* در استان خراسان رضوی است تا به استناد این یافته‌ها بتوان در جهت مدیریت بهتر بیماری اقدام کرد.

# فصل دوم

# بررسی منابع

# ۲ بررسی منابع

## ۲-۱ قارچ *Fusarium oxysporum*

جنس فوزاریوم *Fusarium link ex Fr.* متعلق به رده Hyphomycetes و زیر شاخه قارچ‌های ناقص است (Deuteromycotina). فوزاریوم شامل گونه‌هایی است که ماکروکنیدی‌های بی‌رنگ و دارای جدار عرضی تولید کرده و از مشخصه قارچ، آن است که سلول پایه ماکروکنیدی دارای یک برآمدگی کوچک است. میکروکنیدی‌ها و کلامیدوسپورها ممکن است وجود داشته باشند. در بعضی از گونه‌ها، مرحله جنسی که با تولید پریتسیوم همراه است، شناخته شده است. این جنس یکی از مهمترین قارچ‌های خاکزی است که اهمیت اقتصادی ویژه‌ای دارد. بسیاری از گونه‌های آن بیماری‌زا بوده و بیماری‌های متعددی در گیاهان تولید می‌نمایند. جنس فوزاریوم گسترش جهانی دارد، البته برخی گونه‌ها در همه مناطق جغرافیایی دنیا یافت می‌شوند (صارمی، ۱۳۷۷). قارچ *Fusarium oxysporum* یکی از مهمترین گونه‌های این جنس است که به علت سازگاری با شرایط مختلف آب و هوایی و تحمل طیف وسیعی از دما و رطوبت، نواحی اکولوژیکی وسیعی را در بسیاری از مناطق جغرافیایی اشغال می‌کند (صارمی، ۱۳۸۲). این گونه دارای فرم‌های اختصاصی و جمعیت‌های مختلفی است و قادر به ایجاد بیماری در طیف وسیعی از گیاهان می‌باشد. فرم‌های اختصاصی *F. oxysporum* انگل اختصاصی ریشه میزبان یا میزبان‌های خاص هستند که روی گیاه غیر میزبان قادر به ایجاد بیماری نیستند (عراقی و همکاران، ۱۳۹۲). جمعیت زیادی از این گونه عامل بیماری انسداد آوندی بوده و در گیاهان تولید پژمردگی آوندی کرده و نیز مرگ ناگهانی را به وجود می‌آورد. جمعیتی مولد بیماری پوسیدگی ریشه، طوقه، غده، پیاز و سایر اندام‌های زیرزمینی گیاهان می‌باشند. گونه‌های مولد پژمردگی، معمولا به طور اختصاصی عمل نموده و بیش از ۱۰۰ گونه اختصاصی از این گونه گزارش شده است که عمدتا در مورد گیاهان زینتی، سبزیجات، موز، نخل و خرما است (صارمی، ۱۳۷۷).

## ۲-۲ تاریخچه پیدایش و بیماری‌زایی قارچ *F. oxysporum f. sp. melonis*

بیماری زردی و پژمردگی ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* یکی از بیماری‌های مهم ارقام *c. melo* می‌باشد (بنی‌هاشمی، ۱۳۸۹). عامل بیماری اولین بار در سال ۱۹۳۰ از ایالت‌های نیویورک و مینه سوتا آمریکا گزارش گردید (اعتباریان، ۱۳۸۱) و در سال ۱۹۳۸ توصیف و

در سال ۱۹٤۰ اختصاصی بودن آن به گونه *c. melo* اثبات شد. این بیماری از کشورهای مختلف اروپایی، آسیایی، آفریقایی و آمریکای شمالی گزارش شده است. در ایران اولین بار در سال ۱۳٤٤ عامل بیماری از حومه مشهد در استان خراسان رضوی جداسازی گردید (بنی‌هاشمی، ۱۳۸۹) و نژاد آن، نژاد ۱ تعیین شد (اشرفی‌زاده و همکارن، ۱۳۸٤). این بیماری در سال ۱۳٤۸ از طالبی در فارس و در سال ۱۳۵۱ از اصفهان و فارس روی طالبی و گرمک گزارش شده و نژاد آن در این مناطق نژاد ۲،۱ تعیین شد (اشرفی‌زاده و همکاران، ۱۳۸٤). این بیماری در خربزه برای اولین بار در ایران در سال ۱۳٤۷ از مشهد گزارش و نژاد قارچ عامل بیماری نژاد ۲ تعیین گردیده است (اعتباریان، ۱۳۸۱). قارچ عامل بیماری روی ارقام دیگری از گونه *Cucumis melo* L. مانند گرمک و خیارچنبر نیز مشاهده گردیده است. اما روی هندوانه، کدو و کدوتنبل مشاهده نشده است (اعتباریان، ۱۳۸۱). اگرچه این بیماری خیلی زیاد شایع نیست اما می‌تواند در بعضی از سال‌ها خسارت شدیدی وارد کند. در بعضی از مزارع ممکن است ۵۰ درصد بوته‌ها در هفته‌های اول رشد از بین برود و در نواحی مرکزی مینه سوتا آمریکا میزان خسارت در روی خربزه ۹۰ تا ۱۰۰ درصد در بعضی از سال‌ها مشاهده شده است (اعتباریان، ۱۳۸۱).

## ۲-۳ علائم بیماری

گیاهان در تمام مراحل رشدی ممکن است مورد حمله قرار گیرند. در خاک‌های خیلی آلوده در دمای پایین، گیاهان قبل از اینکه از خاک خارج شوند ممکن است از بین بروند (اعتباریان، ۱۳۸۱). عامل بیماری باعث زردی، کوتولگی، پژمردگی و مرگ گیاه می‌شود. علائم بیماری معمولاً بعد از ظهور گل و تشکیل میوه ظاهر می‌گردد. در گیاهان بالغ علائم بیماری معمولاً به‌صورت یک طرفه ظاهر شده و ابتدا یک قسمت از گیاه علائم زردی را نشان می‌دهد و به‌تدریج به سایر قسمت‌های گیاه گسترش می‌یابد (اشرفی‌زاده و همکاران، ۱۳۸٤). در برخی موارد بدون هیچ گونه زردی در برگ‌ها پژمردگی ناگهانی رخ می‌دهد. ممکن است پژمردگی به صورت یک طرفه رخ دهد و روی ساقه‌های نزدیک طوقه گیاه زخم‌های کلروتیک ایجاد شود که به سمت بالای ساقه گسترش می‌یابند (نوروزی و همکاران، ۱۳۹۰). در برش عرضی ساقه‌ها مخصوصا در قسمت طوقه گیاه تغییر رنگ آوندی گیاه مشاهده می‌شود که نشانگر رشد و نفوذ قارچ در سیستم آوند چوبی گیاه است (سوآرز و همکاران

۲۰۰۳). ریشه آلوده دارای پوسیدگی خشک بوده و ریشه‌های فرعی از بین می‌رود (اشرفی‌زاده و همکاران، ۱۳۸٤). میوه‌هایی که از گیاهانی با آلودگی سیستمیک بوجود آمده‌اند ممکن است پوسیده گردند. اسپورها ممکن است روی میوه‌های آلوده بوجود آیند (اعتباریان، ۱۳۸۱).

## ۲-٤ چرخه بیماری

عامل پژمردگی فوزاریومی به وسیله بذر به مناطق جدید انتقال می‌یابد. هنگامی که عامل بیماری در خاک وجود داشته باشد توسط باد، وسایل کشاورزی و کارگران گسترش می‌یابد. بیمارگر به‌مدت طولانی می‌تواند به‌صورت کلامیدوسپور در خاک دوام بیاورد. قارچ عامل بیماری به مقدار کمی می‌تواند در خاکی که بافت گیاه طالبی وجود نداشته باشد رشد کند. عامل بیماری به میزان زیاد در سطح خاک نزدیک بافت گیاه اسپورزائی می‌کند. تعدادی از ماکروکنیدی‌ها به کلامیدوسپورهای مقاوم تبدیل می‌شوند. بیمارگر می‌تواند از انتهای ریشه وارد گیاه شود و نشانه‌های بیماری در ارقام حساس ۳ تا ۵ روز و در ارقام مقاوم ۱۱ تا ١٦ روز بعد ظاهر گردد. بیماری در دمای کم بین ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد توسعه می‌یابد و در ۳۰ تا ۳۵/۵ درجه بر اثر رشد سریع پریدرم ریشه ممکن است از نفوذ قارچ به داخل آوندها جلوگیری شود. هنگامی که ازت خاک بالا و میزان پتاسیم و کلسیم کم باشد بیماری گسترش می‌یابد (اعتباریان و همکاران، ۱۳۸۱).

## ۲-۵ مکانیسم بیماری‌زایی *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

پاتوژن‌های گیاهی با تولید طیف وسیعی از آنزیم‌های خارج سلولی می‌توانند دیواره سلولی گیاهی که غنی از مواد پکتینی است را تجزیه کنند لذا نقش آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی در برقراری بیماری و توسعه آن مورد مطالعه و تحقیقات بسیاری قرار گرفته است (علنی و همکاران، ۱۳۸۳). تولید آنزیم‌های تخریب کننده پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی گیاهان توسط پاتوژن‌های گیاهی به‌عنوان اولین مرحله در روند بیماری‌زایی جهت نفوذ به داخل میزبان و تکثیر در آن‌ها محسوب می‌شود (علنی و همکاران، ۱۳۸۳).*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* تعداد زیادی از آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی را تولید می‌کند که شامل سلولازها، پروتئازها، پکتات لیازها، اگزوپلی گالاکتورونازها و اندوپلی گالاکتورونازها هستند. این آنزیم‌ها مخصوصا اندوپلی گالاکتورونازها نقش مهمی در تجزیه