Archive of SID

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۴ (ص ۳۵۰-۳۳۹)

سازگاری میسلیومی جدایه‌های قارچ *Valsa sordida* در ایران

سودابه بزرگ‌منش[۱]، خلیل بردی فتوحی‌فر[۲*] و محمد جوان نیکخواه[۳]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۵/۲۸)

چکیده

در بررسی سازگاری میسلیومی جدایه‌های قارچ *Valsa sordida* روی دو نوع محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز-آگار و جو دوسر- آگار، از ۹۱ جدایه که از استان‌های مختلف کشور و از برخی درختان مثمر و غیرمثمر طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۹۰ جمع‌آوری شده بود، استفاده شد. در الگوی تعیین‌شده، هر جدایه با خود و با دیگر جدایه‌ها تلاقی داده شد. خط واکنش تیره‌رنگ که ناسازگاری بین جدایه‌ها را نشان می‌داد، پس از گذشت هفت روز ایجاد گردید. بر اساس نتایج، ۳۸ گروه سازگار رویشی تک‌عضوی و هشت گروه چندعضوی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و ۲۵ گروه سازگار رویشی تک‌عضوی و ۱۰ گروه چندعضوی روی محیط کشت جو دوسر- آگار شناسایی شدند که نشان‌دهندهٔ وجود تنوع ژنتیکی زیاد در میان جدایه‌های قارچ بود. در این مطالعه، ارتباطی بین گروه‌های شناسایی‌شده روی هر دو نوع محیط کشت با پراکنش جغرافیایی جدایه‌های قارچی و منشأ میزبانی آنها مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، قارچ، منطقهٔ سد، هتروکاریون، *Cytospora chrysosperma*.

مقدمه

گونهٔ *Valsa sordida* Nitschke و آنامورف آن، *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr.، یکی از عوامل ایجادکنندهٔ بیماری شانکر است و بیشتر روی گونه‌های گیاهی از جنس‌های بید (*Salix* spp.) و صنوبر (*Populus* spp.)، بسیار شایع است (Hayova & Minter, 1998). با وجود این، این گونه‌ها روی برخی میزبان‌های گیاهی دیگر نیز بیمارگرهای اختیاری محسوب می‌شوند (Kepley & Jacobi, 2000). گونهٔ *V. sordida* و آنامورف آن، *C. chrysosperma* را Fotouhifar *et al.* (2007)، برای اولین بار در ایران به‌طور جامع توصیف کرده‌اند و میزبان‌های گیاهی متعددی به غیر از گونه‌های جنس‌های *Salix* و *Populus* برای آنها معرفی کرده‌اند. برخی از این میزبان‌های گیاهی گزارش‌شده، شامل زردآلو (*Armeniaca vulgaris* Lam.)، زالزالک (*Crataegus azarolus* L.)، زبان گنجشک (*Fraxinus excelsior* L.)، توت (*Morus alba* L.)، برگ نو (*Ligustrum latifolium* Hook.)، هلو (*Persica vulgaris* Mill.)، چنار (*Platanus orientalis* L.)، اقاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.)، گز (*Tamarix* sp.) و سرو نوش (*Thuja orientalis* L.) اند. Aghapour (2010)، میزبان‌های گیاهی جدید دیگری شامل فیکوس (*Ficus elastica* Roxb.) و انواع بید نظیر گونه‌های *Salix triandra* L. و *Salix fedtschenkoi* Goerz را برای گونهٔ *C. chrysosperma* در دنیا معرفی کرده است. Bozorgmanesh (2012)، نیز ختمی درختی (*Hibiscus syriacus* L.) و موچسب [*Parthenocissus tricuspidata* (Siebold & Zucc.) Planch.] را به عنوان میزبان‌های گیاهی جدید در دنیا

* تلفن: ۰۲۶۳۲۸۱۸۷۰۵
E-mail: fotowhi@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

و گیاه سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.) را نیز به عنوان میزبان گیاهی جدیدی برای شکل غیرجنسی قارچ، *C. chrysosperma* در ایران معرفی کرده است.

سازگاری رویشی در قارچها به توانایی دو قارچ برای تماس، الحاق و انتقال مواد هسته‌ای و سیتوپلاسمی اشاره دارد. بنابراین، سازگاری رویشی یک ویژگی مهم زیستی قارچ است که تشکیل هتروپلاسم و هتروکاریون را کنترل می‌کند (Proffer & Hart, 1988). قارچهای بیمارگر دارای سازگاری رویشی، قادرند مواد ژنتیکی را بین یکدیگر مبادله کنند و همچنین، چنین قارچهایی اغلب ویژگی‌های فیزیولوژیک، بیماری‌زایی و بیولوژیک یکسانی نیز دارند (Ploetz & Shokes, 1989).گروه‌بندی جدایه‌ها در گروه‌های سازگار رویشی در شناسایی نژادها، فرم‌های اختصاصی و گروه‌های بیماری‌زا مفید است. بنابراین، اگر گروه‌های سازگار رویشی به‌طور دقیق بررسی شوند، می‌توانند ابزار مفیدی در شناسایی برخی نژادها و فرم‌های اختصاصی و همچنین در ردیابی جمعیت قارچ باشند (Glass & Kuldau, 1992). سیستم سازگاری-ناسازگاری رویشی روشی مایکروسکوپیک است که از روش‌های تلاقی خود با خود و خود با غیرخود جدایه‌های قارچی استفاده می‌کند. در حالت سازگاری، دو جدایهٔ سازگار تشکیل یک پرگنه را می‌دهند، اما در حالت ناسازگار، پرگنه‌های هر جدایه با تشکیل یک سری از سلول‌های مرده در محل تماس دو پرگنه (منطقهٔ سد) قابل تفکیک‌اند. این روش در قارچها معمول است و به عنوان روشی مؤثر برای ارزیابی تنوع درون‌گونه‌ای در جمعیت عامل بیماری‌زا به شمار می‌رود (Kull *et al.*, 2004).

در این زمینه، Ploetz & Shokes (1989)، سازگاری رویشی ۲۹۷ جدایه از گونهٔ *Diaporthe phaseolorum* (Cke. & Ell.) Sacc. f.sp. *meridionalis*، را از طریق کشت متقابل بررسی کردند. در این تحقیق، ۲۹ گروه سازگار رویشی شناسایی شدند که ۷۹ درصد از جدایه‌ها در یک گروه قرار گرفتند. همچنین Proffer & Hart (1988)، سازگاری رویشی۴۸۷ جدایه از گونهٔ *Leucocytospora kunzei* (Sacc.) Urban را از طریق کشت متقابل روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار بررسی کردند. جدایه‌ها عمدتاً از کاج‌های نوئل (*Picea* spp.) و از مناطق شهری در ایالت میشیگان و مناطق جنگلی ایالت کلرادو جمع‌آوری شده بودند. در این پژوهش، ۳۶ گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی و هشت گروه سازگار میسلیومی چندعضوی شناسایی شدند. جدایه‌های به‌دست‌آمده از یک درخت یا درختان مجاور، در یک گروه سازگار میسلیومی یا در تعداد کمی از گروه‌های سازگار قرار گرفتند و برخی از گروه‌های سازگار میسلیومی شامل جدایه‌های به‌دست‌آمده از گونه‌های مختلف درخت کاج، یا متعلق به مناطق جغرافیایی مختلف بودند. بر اساس نتایج، آنها پیش‌بینی کردند که حداقل شش جایگاه ژنی در بروز پدیدهٔ ناسازگاری در جدایه‌های گونهٔ *L. kunzei* درگیر است. همچنین Adams *et al.* (1990)، در بررسی سازگاری رویشی ۸۹ جدایه از گونهٔ *Leucostoma persoonii* Höhn.، ۱۳ گروه سازگار رویشی در میان ۲۴ جدایهٔ به‌دست‌آمده از یک باغ و ۲۳ گروه سازگار رویشی در میان ۶۵ جدایهٔ به‌دست‌آمده از باغ دیگر را شناسایی کردند. بر اساس این مطالعه، تنوع زیاد گروه‌های سازگار رویشی در این گونه، حتی درون جمعیت حاصل از یک باغ نیز قابل مشاهده بوده است. آنها نتیجه گرفتند که در جدایه‌های این گونه، سازگاری رویشی توسط چندین جایگاه ژنی کنترل می‌گردد. در عین حال، Smit *et al.* (1997)، ناسازگاری رویشی جدایه‌های گونهٔ *Diaporthe ambigua* Nits. را روی محیط‌های کشت مختلف نظیر سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، آب- آگار (WA)، جو دوسر- آگار (oat meal agar) بررسی کردند و محیط کشت جو دوسر- آگار تازه را به عنوان مناسب‌ترین محیط کشت برای تشکیل خطوط ناسازگاری معرفی کردند. در ژاپن Suzaki (2008)، بر اساس سازگاری میسلیومی، ساختار جمعیت گونهٔ *Valsa ceratosperma* (Tode ex Fries) Maire، عامل بیماری شانکر درختان سیب و گلابی را بررسی کرد. در این تحقیق، از محیط‌های کشت مختلف نظیر زاپک- آگار، سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، آب- آگار ۱/۶٪ و مالت- آگار برای بررسی سازگاری رویشی استفاده شده است. محیط کشت جو دوسر- آگار به عنوان مناسب‌ترین محیط کشت برای بررسی ناسازگاری میسلیومی در جدایه‌های این گونه معرفی شد. بر اساس نتایج این تحقیق، استرین‌های گونهٔ *V. ceratosperma*

www.SID.ir

Archive of SID

جداشده از یک شانکر، در گروه‌های مختلف سازگار رویشی قرار گرفتند.

با توجه به این که تاکنون تحقیقی در زمینهٔ بررسی سازگاری میسلیومی جدایه‌های گونهٔ *V. sordida* در دنیا انجام نگرفته است، هدف از این پژوهش، بررسی سازگاری رویشی و تعیین گروه‌های سازگار رویشی در جمعیت‌های گونهٔ *V. sordida*، عامل بیماری شانکر سیتوسپورایی گیاهان، با استفاده از محیط‌های کشت مختلف بوده است.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های قارچی

طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۹۰، بر حسب امکانات و تنوع گیاهی، بیشتر مناطق شهرستان سمیرم در استان اصفهان و پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، کرج بازدید شد و ۲۷ نمونهٔ گیاهی آلوده به شانکر سیتوسپورایی ناشی از گونهٔ *V. sordida* و حاوی اندام‌های بارده قارچ، جمع‌آوری شدند. برای جداسازی نمونه‌های مربوط به گونهٔ *V. sordida* از اندام‌های آلودهٔ گیاهی جمع‌آوری شده، از روش Fotouhifar *et al.* (2007)، استفاده گردید. ۶۴ جدایهٔ خالص قارچی دیگر مربوط به گونهٔ *V. sordida* نیز که قبلاً Fotouhifar (2007) و Aghapour (2010)، آنها را جمع‌آوری، جداسازی و توصیف کرده بودند، از کلکسیون قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج تهیه شدند (جدول ۱).

بررسی سازگاری میسلیومی

برای انجام آزمون‌های سازگاری میسلیومی، از ۹۱ جدایهٔ قارچی که از میزبان‌های مختلف و از نقاط مختلف ایران به‌دست آمده بود، استفاده شد (جدول۱). برای انجام آزمون، ابتدا جدایه‌های قارچی بر اساس منطقهٔ جغرافیایی به سه گروه شامل؛ گروه یک با ۳۰ عضو (جدایه‌های S1 تا ۲۰۳)،گروه دو با ۳۰ عضو (جدایه‌های G112 تا G95) و گروه سوم شامل ۳۱ عضو (جدایه‌های ۳۳۱ تا K-2) تفکیک شدند (جدول۱).

برای تعیین گروه‌های سازگار میسلیومی، ابتدا برای هر جدایه پرگنهٔ جوان روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار درون تشتک‌های پتری به قطر شش سانتی‌متر پس از نگهداری به مدت پنج روز در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجهٔ سلسیوس در شرایط تاریکی مداوم، تهیه شد. سپس از حاشیه در حال رشد پرگنه چهار تا پنج روزهٔ قارچ، روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار قطعاتی از محیط کشت حاوی میسلیوم قارچ به اندازهٔ تقریبی ۲۵ میلی‌متر مربع برداشته شد. تلاقی‌ها در تشتک‌های پتری پلاستیکی به قطر ده سانتی‌متر حاوی محیط‌های کشت سیب‌زمینی-دکستروز- آگار و جو دوسر- آگار انجام گرفت. به منظور کسب حداکثر استفاده از محیط کشت داخل یک تشتک پتری، ۲۱ جدایه در فاصلهٔ ۱/۵ سانتی‌متری از یکدیگر قرار داده شدند. به این ترتیب، یک جدایه با خود و نیز با کلیهٔ جدایه‌های دیگر واقع در آن گروه تلاقی داده شد. آزمون تلاقی بین جدایه‌ها، روی هر دو نوع محیط کشت، حداقل در دو تکرار انجام گرفت. تشتک‌های پتری حاوی تلاقی‌ها، در دمای ۲۷ درجهٔ سلسیوس درون انکوباتور و در شرایط تاریکی مداوم نگهداری شدند. پس از گذشت هفت تا ده روز، نتایج تلاقی‌ها قابل ارزیابی بودند. خط واکنش تیره رنگ موسوم به منطقهٔ سد، یا ممانعت (barrage zone) که ناسازگاری بین جدایه‌ها را نشان می‌داد، حداقل پس از گذشت هفت روز از کشت متقابل جدایه‌های قارچی، تشکیل شد.

پس از ارزیابی نتایج تلاقی‌ها در هر گروه اولیه، جدایه‌های سازگار با هم در یک گروه قرار داده شدند. به این ترتیب، هر گروه اولیه به زیر گروه‌های سازگار میسلیومی تفکیک گردید. از هر زیرگروه سازگار میسلیومی، جدایه‌ای که با تمام یا اکثریت قریب به اتفاق اعضای آن زیرگروه سازگار بود، به عنوان جدایهٔ نمایندهٔ آن زیرگروه انتخاب گردید. سپس جدایه‌های نمایندهٔ زیرگروه‌های سازگار میسلیومی مختلف (در سه گروه اولیه) بر اساس شرایط ذکرشده در تلاقی‌های ابتدایی، با یکدیگر تلاقی داده شد. در صورتی که دو جدایهٔ نماینده از دو زیر گروه با هم سازگار بودند، همهٔ جدایه‌های سازگار با آن دو، در یک گروه قرار گرفتند. به این ترتیب، همهٔ جدایه‌ها در یکی از گروه‌های سازگار میسلیومی قرار گرفتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. جدایه‌های مورد بررسی از گونهٔ *Valsa sordida*

نام جدایه	نام گونه	میزبان	مکان جمع‌آوری	سال	جمع‌آوری‌کننده
S 1	*Cytospora chrysosperma*	*Salix excelsa*	سمیرم، فتح‌آباد	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 2	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 3	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 4	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 5	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 6	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 7	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، وردشت	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 8	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 9	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 10	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، بیده	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 11	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 12	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 13	*Cytospora chrysosperma*	*Salix alba*	سمیرم، مهرگرد	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 14	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	سمیرم، بازارگرمه	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 15	*Cytospora chrysosperma*	*Salix triandra*	سمیرم، فتح‌آباد	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 16	*Cytospora chrysosperma*	*Salix fedtschenkoi*	سمیرم، فتح‌آباد	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 17	*Cytospora chrysosperma*	*Salix excelsa*	سمیرم، وردشت	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 18	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	سمیرم، بازارگرمه	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 19	*Cytospora chrysosperma*	*Malus pumila*	سمیرم، فتح‌آباد	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 22	*Cytospora chrysosperma*	*Populus nigra*	سمیرم، وردشت	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 23	*Cytospora chrysosperma*	*Salix triandra*	سمیرم، بارند	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 24	*Cytospora chrysosperma*	*Juglans* sp.	سمیرم، وردشت	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 27	*Cytospora chrysosperma*	*Juglans* sp.	سمیرم، مهرگرد	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 21	*Cytospora chrysosperma*	*Populus alba*	اصفهان، سمیرم	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
S 25	*Cytospora chrysosperma*	*Elaeagnus angustifolia*	سمیرم، وردشت	۱۳۸۹	بزرگ‌منش
۱۸۴	*Cytospora chrysosperma*	*Salix* sp.	فارس	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۳۲	*Cytospora chrysosperma*	*Ficus carica*	فارس	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۱۵۰-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Prunus domestica*	کهگیلویه و بویراحمد	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۰۰	*Cytospora chrysosperma*	*Fraxinus excelsior*	مرکزی	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۰۳	*Cytospora chrysosperma*	*Fraxinus excelsior*	مرکزی	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
G112	*Cytospora chrysosperma*	*Salix excelsa*	گلستان، کردکوی	۱۳۸۷	آقاپور
G113	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	گلستان، بندر گز	۱۳۸۷	آقاپور
G107-T	*Valsa* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول	۱۳۸۷	آقاپور
G54	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول	۱۳۸۷	آقاپور
G72	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، بندر گز	۱۳۸۷	آقاپور
G85	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، گنبد کاووس	۱۳۸۷	آقاپور
G94	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، انبار الوم	۱۳۸۷	آقاپور
G105-yell	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، رامیان	۱۳۸۷	آقاپور
G107	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول	۱۳۸۷	آقاپور
G115-yell	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، کردکوی	۱۳۸۷	آقاپور
G116	*Cytospora* sp.1	*Populus deltoides*	گلستان، نوکانده	۱۳۸۷	آقاپور
G32-T	*Valsa sordida*	*Salix babylonica*	گلستان، بندر گز	۱۳۸۷	آقاپور
G26	*Cytospora chrysosperma*	*Salix alba*	گلستان، کردکوی	۱۳۸۷	آقاپور
G32	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	گلستان، بندر گز	۱۳۸۷	آقاپور
G38	*Cytospora chrysosperma*	*Salix triandra*	گلستان، کردکوی	۱۳۸۷	آقاپور

www.SID.ir

Archive of SID

ادامهٔ جدول ۱. جدایه‌های مورد بررسی از گونهٔ *Valsa sordida*

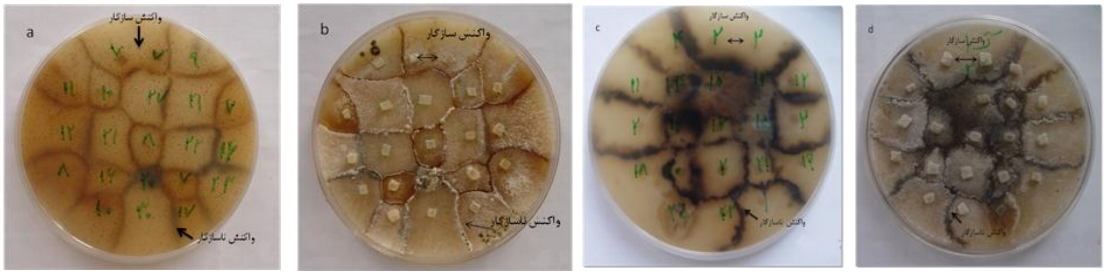
نام جدایه	نام گونه	میزبان	مکان جمع‌آوری	سال	جمع‌آوری‌کننده
G61	*Cytospora chrysosperma*	*Salix fedtschenkoi*	گلستان، بندر گز	۱۳۸۷	آقاپور
G71	*Cytospora chrysosperma*	*Salix excelsa*	گلستان، بندر گز	۱۳۸۷	آقاپور
G78	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	گلستان، مراوه تپه	۱۳۸۷	آقاپور
G81	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	گلستان، مراوه تپه	۱۳۸۷	آقاپور
G87	*Cytospora chrysosperma*	*Populus nigra*	گلستان، گرگان	۱۳۸۷	آقاپور
G88	*Cytospora chrysosperma*	*Salix triandra*	گلستان، کردکوی	۱۳۸۷	آقاپور
G89	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	گلستان، کردکوی	۱۳۸۷	آقاپور
G91	*Cytospora chrysosperma*	*Populus nigra*	گلستان، گرگان	۱۳۸۷	آقاپور
G96	*Cytospora chrysosperma*	*Ficus elastica*	گلستان، گرگان	۱۳۸۷	آقاپور
G104	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	گلستان، مینودشت	۱۳۸۷	آقاپور
G105-red	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	گلستان، رامیان	۱۳۸۷	آقاپور
G108	*Cytospora chrysosperma*	*Populus nigra*	گلستان، گرگان	۱۳۸۷	آقاپور
G109	*Cytospora chrysosperma*	*Populus deltoides*	گلستان، خان ببین	۱۳۸۷	آقاپور
G110	*Cytospora chrysosperma*	*Salix babylonica*	گلستان، گرگان	۱۳۸۷	آقاپور
G95	*Cytospora chrysosperma*	*Eucalyptus* sp.	گلستان، انبار الوم	۱۳۸۷	آقاپور
۳۳۱	*Cytospora chrysosperma*	*Olea sativa*	مازندران	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
K-1	*Cytospora chrysosperma*	*Parthenocissus tricuspidata*	کرج	۱۳۹۰	حیدریان
۱۰۹	*Cytospora chrysosperma*	*Platanus orientalis*	تهران	۱۳۸۳	فتوحی‌فر
۳۳۴	*Cytospora chrysosperma*	*Salix excelsa*	تهران	۱۳۸۲	فتوحی‌فر
۳۳۵	*Cytospora chrysosperma*	*Juglans regia*	تهران	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۱۶	*Cytospora chrysosperma*	*Populus nigra*	خراسان رضوی	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۲۱	*Cytospora chrysosperma*	*Platanus orientalis*	خراسان رضوی	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۱۴-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Populus alba*	خراسان رضوی	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۱۷-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Thuja orientalis*	خراسان رضوی	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۱۴	*Valsa sordida*	*Populus alba*	خراسان رضوی	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۰۸	*Cytospora chrysosperma*	*Populus nigra*	سمنان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۷۹	*Valsa sordida*	*Juglans regia*	همدان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۰۰	*Cytospora chrysosperma*	*Morus alba*	همدان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۰۴	*Cytospora chrysosperma*	*Malus pumila*	همدان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۳۰۵	*Cytospora chrysosperma*	*Tamarix* sp.	قزوین	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۱۵	*Cytospora chrysosperma*	*Ligustrum latifolium*	لرستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۲۵	*Cytospora chrysosperma*	*Robinia pseudoacacia*	لرستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۲۶	*Cytospora chrysosperma*	*Armeniaca vulgaris*	لرستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۱۶-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Armeniaca vulgaris*	لرستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۳۳-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Malus pumila*	لرستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۶۸	*Cytospora chrysosperma*	*Salix excelsa*	کردستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۸۲	*Cytospora chrysosperma*	*Crataegus azarolus*	کردستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۷۹-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Juglans regia*	کردستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۲۸۴-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Thuja orientalis*	کردستان	۱۳۸۴	فتوحی‌فر
۵۴-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Salix aegyptiaca*	آذربایجان غربی	۱۳۸۳	فتوحی‌فر
۵۸-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Salix aegyptiaca*	آذربایجان غربی	۱۳۸۳	فتوحی‌فر
۶۹-۱	*Cytospora chrysosperma*	*Persica vulgaris*	آذربایجان غربی	۱۳۸۳	فتوحی‌فر
۶۹-۲	*Cytospora chrysosperma*	*Persica vulgaris*	آذربایجان غربی	۱۳۸۳	فتوحی‌فر
۵۴	*Valsa sordida*	*Salix aegyptiaca*	آذربایجان غربی	۱۳۸۳	فتوحی‌فر
۱۰۲	*Cytospora chrysosperma*	*Populus alba*	چهارمحال و بختیاری	۱۳۸۳	فتوحی‌فر
K-2	*Cytospora chrysosperma*	*Hibiscus syriacus*	کرج	۱۳۹۰	بزرگ‌منش

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

تلاقی جدایه‌ها روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و جو دوسر- آگار برای آزمایش سازگاری میسلیومی منجر به یکی از دو واکنش گردید. در حالت اول، میسلیوم دو جدایه به سمت همدیگر رشد کردند و پرگنهٔ واحدی را تشکیل دادند. در این حالت، دو جدایه با هم سازگار در نظر گرفته شدند. در حالت دوم، منطقهٔ سد بین دو پرگنهٔ مربوط به دو جدایه تشکیل گردید. این منطقه اغلب در برگیرندهٔ نوار باریکی از میسلیوم نامتراکم یا متراکم و در موارد نادری نیز تقریباً خالی از میسلیوم بود که منطقهٔ سد را تشکیل می‌داد. منطقهٔ سد اغلب به‌صورت نوار تیره‌ای معمولاً به رنگ قهوه‌ای روشن، قهوه‌ای تیره تا سیاه در بسیاری از واکنش‌های ناسازگار در هر دو سطح تشتک پتری نمایان بود (شکل ۱).



شکل ۱. واکنش‌های سازگار و ناسازگار در بین جدایه‌های گونهٔ *V. sordida*: a و b به‌ترتیب پشت و سطح تشتک پتری حاوی محیط کشت جو دوسر- آگار و c و d به‌ترتیب پشت و سطح تشتک پتری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار.

از مجموع ۳۰ جدایهٔ مربوط به گروه یک که از استان‌های اصفهان، فارس، کهگیلویه و بویراحمد و مرکزی جمع‌آوری شده بودند، ۱۳ گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با جدایه‌های نماینده؛ S1، S2، S9، S10، S11، S12، S14، S15، S16، S21، S22، S23 و ۲۰۰) و شش گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ S3، S6، S27، 184، 1-150 و ۲۰۳) روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار تشخیص داده شدند. روی محیط کشت جو دوسر- آگار، پنج گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با جدایه‌های نماینده؛ S1، S13، S16، S22 و S23) و ۱۱ گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ S4، S5، S6، S9، S12، S15، S17، 184، 332، 1-150 و ۲۰۳) شناسایی شدند.

در گروه دو، از مجموع ۳۰ جدایهٔ تحت بررسی، جمع‌آوری‌شده از نقاط مختلف استان گلستان روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، ۲۱ گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با جدایه‌های نماینده؛ G112، G113، G107-T، G54، G72، G85، G94، G105-yell، G107، G115-yell، G116، G32-T، G26، G38، G61، G71، G78، G81، G88، G91 و G96) و سه گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ G32، G87 و G105-red) تشخیص داده شدند. روی محیط کشت جو دوسر- آگار نیز ۱۵ گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با جدایه‌های نماینده؛ G113، G107-T، G54، G72، G85، G94، G105-yell، G107، G115-yell، G116، G38، G78، G81، G88 و G91) و چهار گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ G112، G32، G87 و G105-red) تشخیص داده شدند.

در گروه سه از مجموع ۳۱ جدایهٔ تحت بررسی که از استان‌های مازندران، البرز، تهران، خراسان، سمنان، همدان، قزوین، لرستان، کردستان، آذربایجان غربی و چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شده بودند، در آزمون سازگاری میسلیومی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، ۱۳ گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با جدایه‌های نماینده؛ ۳۳۱، ۳۲۱، ۱-۳۱۴، ۳۱۴، ۲۱۵، ۲۲۶، ۱-۲۷۹، ۱-۵۴، ۱-۵۸، ۲-۶۹، ۵۴، ۱۰۲ و K-2) و هفت گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ K-1، ۳۳۴، ۳۰۰، ۳۰۴، ۲۲۵، ۱-۲۳۳ و ۱-۲۸۴) تشخیص داده شدند. روی محیط کشت جو دوسر- آگار نیز هفت گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه‌های نماینده؛ K-1، ۳۲۱، ۲۷۹، ۳۰۰، ۳۰۵، ۲۲۶ و K-2) و ۱۰ گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ ۳۳۴، ۳۳۵، ۳۱۶، ۱-۳۱۴، ۱-۳۱۷، ۳۱۴، ۱-۲۳۳، ۱-۲۸۴، ۱-۵۴ و ۲-۶۹) تشخیص داده شدند. جدایه‌های نمایندهٔ تعیین‌شده در بررسی سازگاری میسلیومی هر سه گروه از جدایه‌های متعلق به قارچ *V. sordida* روی دو نوع محیط کشت، شامل ۴۷ جدایه از گروه‌های تک‌عضوی و ۱۶ جدایه از گروه‌های چندعضوی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و ۲۷ جدایه از گروه‌های تک‌عضوی و ۲۵ جدایه از گروه‌های چندعضوی روی محیط کشت جو دوسر- آگار بودند. تلاقی جدایه‌های نماینده با یکدیگر روی هر یک از محیط‌های کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و جو دوسر- آگار منجر به ایجاد واکنش‌های سازگار بین برخی جدایه‌های نماینده از گروه‌های مختلف گردید.

این امر موجب کاهش تعداد کل گروه‌های سازگار میسلیومی شناسایی‌شده روی هر یک از محیط‌های کشت به‌کارگرفته شد. در نهایت، ۹۱ جدایهٔ ایرانی از قارچ *V. sordida* روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار در ۳۸ گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با جدایه‌های نماینده؛ S1، S2، S11، S12، S14، S16، S22، S23، S21، G112، G107-T، G54، G72، G85، G94، G105-yell، G107، G115-yell، G116، G32-T، G26، G38، G61، G71، G78، G81، G88، G96، ۳۳۱، ۳۲۱، ۳۱۴-۱، ۳۱۴، ۳۰۰، ۳۰۴، ۲۲۵، ۲۲۶، ۲۳۳-۱، ۲۷۹-۱، ۲۸۴-۱، ۵۸-۱، ۶۹-۲، ۱۰۲ و K-2) و هشت گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ ۲۰۳، G32، ۳۳۴، ۳۰۰، ۳۰۴، ۲۲۵، ۲۳۳-۱ و ۲۸۴-۱) و روی محیط کشت جو دوسر- آگار در ۲۵ گروه سازگار میسلیومی تک‌عضوی (با جدایه‌های نماینده؛ S1، S13، S16، S22، S23، G107-T، G54، G72، G85، G94، G105-yell، G107، G115-yell، G116، G38، G78، G88، G91، K-1، ۳۲۱، ۲۷۹، ۳۰۰، ۳۰۵، ۲۲۶ و K-2) و ۱۰ گروه سازگار میسلیومی چندعضوی (با جدایه‌های نماینده؛ S6، S12، G112، G32، G87، G105-red، ۳۳۴، ۳۳۵، ۳۱۴ و ۱-۲۸۴) قرار گرفتند. تعداد جدایه‌ها در هر یک از گروه‌های سازگار میسلیومی از یک جدایه تا ۳۶ جدایه روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و از یک جدایه تا ۳۴ جدایه روی محیط کشت جو دوسر- آگار متغیر بودند. روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، گروه متعلق به جدایهٔ ۱-۲۸۴ با ۳۶ عضو بیشترین سازگاری را در بین جدایه‌ها نشان داد و روی محیط کشت جو دوسر- آگار نیز گروه متعلق به جدایهٔ G105-red با ۳۴ عضو، بیشترین سازگاری را نشان داد. تعداد گروه‌های چندعضوی شناسایی‌شده روی محیط کشت جو دوسر- آگار بیشتر از محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار بود. همچنین، تعداد گروه‌های تک‌عضوی در محیط کشت جو دوسر- آگار کمتر از محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار بود. سه جدایهٔ ۱-۲۸۴، ۳۳۴ و G32 روی هر دو نوع محیط کشت به عنوان جدایه‌های نماینده انتخاب شدند. در این بین، جدایهٔ ۳۳۴ سازگاری قابل ملاحظه‌ای با بقیهٔ جدایه‌ها روی محیط کشت جو دوسر- آگار و جدایهٔ ۱-۲۸۴ روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار نشان دادند. در نهایت، ۴۶ گروه سازگار میسلیومی شناسایی‌شده روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (با جدایه‌های نماینده؛ S1، S2، S11، S12، S14، S16، S22، S23، S21، ۲۰۳، G112، G107-T، G54، G72، G85، G94، G105-yell، G107، G115-yell، G116، G32-T، G26، G32، G38، G61، G71، G78، G81، G88، G96، ۳۳۱، ۳۳۴، ۳۲۱، ۳۱۴-۱، ۳۱۴، ۳۰۰، ۳۰۴، ۲۲۵، ۲۲۶، ۲۳۳-۱، ۲۷۹-۱، ۲۸۴-۱، ۵۸-۱، ۶۹-۲، ۱۰۲ و K-2) به‌ترتیب به اسامی MCG (mycelial compatibility group) از MCG1 تا MCG 46 نام‌گذاری شدند (جدول ۲). همچنین ۳۵ گروه سازگار میسلیومی شناسایی‌شده روی محیط کشت جو دوسر- آگار (با جدایه‌های نماینده؛ S1، S6، S12، S13، S16، S22، S23، G112، G107-T، G54، G72، G85، G94، G105-yell، G107، G115-yell، G116، G32، G38، G78، G87، G88، G91، G105-red، K-1، ۳۳۴، ۳۳۵، ۳۲۱، ۳۱۴، ۲۷۹، ۳۰۰، ۳۰۵، ۲۲۶، ۱-۲۸۴ و K-2) به‌ترتیب به اسامی MCG O1 تا MCG O35 نام‌گذاری شدند (جدول ۲). در جمعیت‌های ایرانی قارچ *V. sordida* ارتباطی بین گروه‌های سازگار میسلیومی شناسایی‌شده روی هر دو نوع محیط کشت، پراکنش جغرافیایی جدایه‌های قارچی و منشأ میزبانی آنها، به جز در موارد معدود وجود نداشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. گروه‌های سازگار میسلیومی در جدایه‌های گونهٔ *Valsa sordida* روی محیط‌های کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و جو دوسر- آگار

گروه‌های سازگار میسلیومی شناسایی‌شده در محیط کشت OMA					گروه‌های سازگار میسلیومی شناسایی‌شده در محیط کشت PDA				
گروه	جدایهٔ نماینده	تعداد عضو	منشأ میزبانی	پراکنش جغرافیایی	گروه	جدایهٔ نماینده	تعداد عضو	منشأ میزبانی	مکان جغرافیایی
MCGO 1	S1	۱	*Salix excelsa*	سمیرم، فتح‌آباد	MCG1	S1	۱	*Salix excelsa*	سمیرم،فتح‌آباد
MCGO 2	S6	۱۵	متنوع	متنوع	MCG2	S2	۱	*Salix babylonica*	سمیرم، بارند
MCGO 3	S12	۳	متنوع	متنوع	MCG3	S11	۱	*Populus deltoides*	سمیرم، بارند
MCGO 4	S13	۱	*Salix alba*	سمیرم، مهرگرد	MCG4	S12	۱	*Salix babylonica*	سمیرم، بارند
MCGO 5	S16	۱	*Salix fedtschenkoi*	سمیرم، فتح‌آباد	MCG5	S14	۱	*Salix babylonica*	سمیرم، بازارگرمه
MCGO 6	S 22	۱	*Populus nigra*	سمیرم، وردشت	MCG6	S16	۱	*Salix fedtschenkoi*	سمیرم، فتح‌آباد
MCGO 7	S 23	۱	*Salix triandra*	سمیرم، بارند	MCG7	S22	۱	*Populus nigra*	سمیرم، وردشت
MCGO 8	G112	۵	متنوع	متنوع	MCG8	S23	۱	*Salix triandra*	سمیرم، بارند
MCGO 9	G107-T	۱	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول	MCG9	S21	۱	*Populus alba*	اصفهان، سمیرم
MCGO 10	G54	۱	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول	MCG10	۲۰۳	۱۸	متنوع	متنوع
MCGO 11	G72	۱	*Populus deltoides*	گلستان، بندر گز	MCG11	G112	۱	*Salix excelsa*	گلستان، کردکوی
MCGO 12	G85	۱	*Populus deltoides*	گلستان، گنبد کاووس	MCG12	G107-T	۱	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول
MCGO 13	G94	۱	*Populus deltoides*	گلستان، انبار الوم	MCG13	G54	۱	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول
MCGO 14	G105-yell	۱	*Populus deltoides*	گلستان، رامیان	MCG14	G72	۱	*Populus deltoides*	گلستان، بندر گز
MCGO 15	G107	۱	*Populus deltoides*	گلستان،، علی‌آباد کتول	MCG15	G85	۱	*Populus deltoides*	گلستان، گنبد کاووس
MCGO 16	G115-yell	۱	*Populus deltoides*	گلستان، کردکوی	MCG16	G94	۱	*Populus deltoides*	گلستان، انبار الوم
MCGO 17	G116	۱	*Populus deltoides*	گلستان، نوکانده	MCG17	G105-yell	۱	*Populus deltoides*	گلستان، رامیان
MCGO 18	G32	۳	متنوع	متنوع	MCG18	G107	۱	*Populus deltoides*	گلستان، علی‌آباد کتول
MCGO 19	G38	۱	*Salix triandra*	گلستان، کردکوی	MCG19	G115-yell	۱	*Populus deltoides*	گلستان، کردکوی
MCGO 20	G78	۱	*Salix babylonica*	گلستان،،مراوه تپه	MCG20	G116	۱	*Populus deltoides*	گلستان، نوکنده
MCGO 21	G87	۵	متنوع	متنوع	MCG21	G32-T	۱	*Salix babylonica*	گلستان، بندر گز
MCGO 22	G88	۱	*Salix triandra*	گلستان، کردکوی	MCG22	G26	۱	*Salix alba*	گلستان، کردکوی
MCGO 23	G91	۱	*Populus nigra*	گلستان، گرگان	MCG23	G32	۲	*Salix babylonica*	متنوع
MCGO 24	G105-red	۳۴	متنوع	متنوع	MCG24	G38	۱	*Salix triandra*	گلستان، کردکوی
MCGO 25	K-1	۱	*Parthenocissus tricuspidata*	کرج	MCG25	G61	۱	*Salix fedtschenkoi*	گلستان، بندر گز
MCGO 26	۳۳۴	۳۱	متنوع	متنوع	MCG26	G71	۱	*Salix excelsa*	گلستان، بندر گز
MCGO 27	۳۳۵	۱۳	متنوع	متنوع	MCG27	G78	۱	*Salix babylonica*	گلستان، مراوه تپه
MCGO 28	۳۲۱	۱	*Platanus orientalis*	خراسان رضوی	MCG28	G81	۱	*Salix babylonica*	گلستان، مراوه تپه
MCGO 29	۳۱۴	۲	متنوع	متنوع	MCG29	G88	۱	*Salix triandra*	گلستان، کردکوی
MCGO 30	۲۷۹	۱	*Juglans regia*	همدان	MCG30	G96	۱	*Ficus elastica*	گلستان،گرگان
MCGO 31	۳۰۰	۱	*Morus alba*	همدان	MCG31	۳۳۱	۱	*Olea sativa*	مازندران
MCGO 32	۳۰۵	۱	*Tamarix* sp.	قزوین	MCG32	۳۳۴	۱۷	متنوع	متنوع
MCGO 33	۲۲۶	۱	*Armeniaca vulgaris*	لرستان	MCG33	۳۲۱	۱	*Platanus orientalis*	خراسان رضوی
MCGO 34	۲۸۴-۱	۹	متنوع	متنوع	MCG34	۳۱۴-۱	۱	*Populus alba*	خراسان رضوی
MCGO 35	K-2	۱	*Hibiscus syriacus*	کرج	MCG35	۳۱۴	۱	*Populus alba*	خراسان رضوی
					MCG36	۳۰۰	۲	متنوع	متنوع
					MCG37	۳۰۴	۱۱	متنوع	متنوع
					MCG38	۲۲۵	۱۶	متنوع	متنوع
					MCG39	۲۲۶	۱	*Armeniaca vulgaris*	لرستان
					MCG40	۲۳۳-۱	۱۲	متنوع	متنوع
					MCG41	۲۷۹-۱	۱	*Juglans regia*	کردستان
					MCG42	۲۸۴-۱	۳۶	متنوع	متنوع
					MCG43	۵۸-۱	۱	*Salix aegyptiaca*	آذربایجان غربی
					MCG44	۶۹-۲	۱	*Persica vulgaris*	آذربایجان غربی
					MCG45	۱۰۲	۱	*Populus alba*	چهارمحال و بختیاری
					MCG46	K-2	۱	*Hibiscus syriacus*	کرج

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در این تحقیق از روش شناسایی گروه‌های سازگار میسلیومی به منظور بررسی تنوع و ارتباط ژنتیکی جدایه‌های گونهٔ *V. sordida* استفاده شد. ۹۱ جدایهٔ قارچی، که از میزبان‌ها و مناطق جغرافیایی مختلف به‌دست آمده بودند، انتخاب شدند. در میان جدایه‌های قارچی، جدایه‌های حاصل از مرحلهٔ غیرجنسی (*C. chrysosperma*) و تعداد معدودی جدایه‌های حاصل از مرحلهٔ جنسی قارچ (*V. sordida*) وجود داشتند. در این تحقیق، از دو نوع محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و جو دوسر- آگار برای شناسایی گروه‌های سازگار میسلیومی استفاده شد. به‌طور کلی، ۴۶ گروه سازگار میسلیومی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و ۳۵ گروه سازگار میسلیومی روی محیط کشت جو دوسر- آگار شناسایی گردیدند. تعداد گروه‌های سازگار میسلیومی چندعضوی در جمعیت ایرانی قارچ *V. sordida* روی محیط کشت جو دوسر- آگار (۱۰ گروه) بیشتر از تعداد گروه‌های سازگار میسلیومی چندعضوی شناسایی‌شده روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (هشت گروه) بود که بیانگر تأثیر محیط کشت در پدیدهٔ سازگاری میسلیومی در جدایه‌های این گونه است. تشکیل خط واکنش روی هر دو نوع محیط کشت واضح و مشخص بود و پس از گذشت هفت تا ۱۰ روز سازگاری یا ناسازگاری، جدایه‌های قارچی قابل ارزیابی بودند. در نتیجه، هر دو نوع محیط کشت به عنوان محیط‌های کشت مناسب برای بررسی سازگاری میسلیومی این گونه معرفی می‌گردند. به دلیل اینکه تعداد گروه‌های سازگار میسلیومی شناسایی‌شده تک‌عضوی روی محیط کشت جو دوسر- آگار نسبت به محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار کمتر بود، این محیط کشت برای بررسی سازگاری میسلیومی مناسب‌تر به نظر می‌رسد. وجود گروه‌های سازگاری میسلیومی فراوان امکان انتقال ویروس‌های قارچی (mycoviruses) را کاهش می‌دهد و در نتیجه، امکان کنترل بیولوژیک جدایه‌های پرآزار در طبیعت کاهش می‌یابد (Liu & Milgroom, 2007).

وجود گروه‌های سازگار میسلیومی فراوان نشان‌دهندهٔ تنوع ژنتیکی زیاد در بین جدایه‌ها است که این نتایج، با نتایج حاصل از نشانگر مولکولی MP-PCR نیز مطابقت دارد (Bozorgmanesh, 2012). نتایج آن تنوع ژنتیکی زیادی را در میان جدایه‌ها نشان داد و نتایج تجزیه و تحلیل خوشه‌ای، تطابق چندانی با پراکنش جغرافیایی و منشأ میزبانی جدایه‌ها نداشت.

در گروه‌های سازگار میسلیومی، در برخی موارد جدایه‌های حاصل از مرحلهٔ جنسی (مانند جدایه‌های G32-T و ۳۱۴) با دیگر جدایه‌های حاصل از مرحلهٔ غیرجنسی قارچ سازگار بودند، اما هیچ یک از جدایه‌های حاصل از آسکوسپور با یکدیگر سازگار نبودند. این امر می‌تواند ناشی از تغییرات ژنتیکی انجام‌گرفته در طی تولیدمثل جنسی قارچ باشد. جدایه‌های ۱-۲۸۴، ۳۳۴ و G32 روی هر دو نوع محیط کشت به عنوان جدایه‌ای نماینده انتخاب شدند. در جمعیت قارچ *V. sordida*، جدایه‌های G54، G72، G85، G94، G105-yell، G107، G115-yell و G116، مربوط به استرین *Cytospora* sp.1 بودند. این جدایه‌ها همگی از میزبان گیاهی *Populus deltoides* Marsh. و از مناطق مختلف استان گلستان جمع‌آوری شده بودند. این جدایه‌ها همگی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار و محیط کشت جو دوسر- آگار گروه‌های سازگار میسلیومی تک‌عضوی تشکیل دادند و با هیچ یک از جدایه‌های دیگر سازگار نبودند، اما در تلاقی هر یک از جدایه‌ها با خود، سازگاری مشاهده گردید. همچنین جدایهٔ G107-T مربوط به استرین *Valsa* sp.1، که از میزبان گیاهی *P. deltoides* و از استان گلستان جمع‌آوری شده بود، در آزمون تلاقی خودسازگار بود، اما در تلاقی با دیگر جدایه‌ها روی هر دو نوع محیط کشت، ناسازگار بود. در این مطالعه، به‌طور کلی ارتباطی بین گروه‌های شناسایی‌شده روی هر دو نوع محیط کشت با پراکنش جغرافیایی جدایه‌های قارچی و میزبان آنها به جز در موارد معدود، وجود نداشت. تشکیل خط واکنش بین دو جدایه ناسازگار میسلیومی نشان‌دهندهٔ تفاوت در یک یا چند لوکوس *het* در دو جدایه است (Glass *et*

www.SID.ir

Archive of SID

al., 2000). در این تحقیق مشخص گردید که تشکیل خط واکنش علاوه بر سیستم ژنتیکی به‌شدت تحت تأثیر نوع محیط کشت نیز است. McCallum *et al*. (2004)، نیز نتیجه گرفتند که تشکیل خط واکنش ناسازگاری در جدایه‌های قارچ *Fusarium graminearum* Schwabe تحت تأثیر نوع محیط کشت و نور بوده و محیط کشت V8-agar بهتر از محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار است.

همچنین در بررسی سازگاری میسلیومی جدایه‌های گونهٔ *V. sordida* مشخص شد که محیط کشت جو دوسر- آگار به دلیل تولید خط واکنش واضح‌تر و سرعت رشد بیشتر جدایه‌ها در آن و در نتیجه سهولت و سرعت ارزیابی تلاقی‌ها، به عنوان محیط کشت مناسب‌تری نسبت به محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار است، که این مورد نیز با ارزیابی سازگاری میسلیومی دربارهٔ قارچ (G. Wint.) *Monilinia fructicola* Honey مطابقت دارد (Adams *et al*., 1990). در گروه‌های چندعضوی حاصل، برخی جدایه‌ها به بیش از یک گروه تعلق داشتند که این امر نشان می‌دهد که همواره همسانی کامل آللی در همهٔ لوکوس‌های دخیل در تنظیم سازگاری میسلیومی برای سازگاری رویشی در این گونه قارچی مورد نیاز نیست (Proffer & Hart, 1988). Adams *et al*. (1990)، ۱۳ گروه سازگار میسلیومی را در جدایه‌های گونهٔ *L. persoonii* شناسایی کردند و در این تحقیق برای تعیین محیط کشت مناسب برای بررسی سازگاری میسلیومی این گونه، از ۱۴ محیط کشت مختلف استفاده کردند که در نتیجه خط واکنش تنها روی محیط کشت جو دوسر- آگار تشکیل گردید. وجود تعداد زیاد گروه‌های سازگار میسلیومی در جمعیت گونهٔ *L. persoonii* حتی درون یک باغ و روی یک درخت، بیانگر این نظریه بود که آلودگی اولیه ممکن است در اثر انتشار آسکوسپورها بوده باشد. Suzaki (2008)، در بررسی سازگاری میسلیومی جدایه‌های گونهٔ *V. ceratosperma*، ۲۵ گروه سازگار میسلیومی را شناسایی کرد و محیط کشت جو دوسر- آگار را به دلیل رشد سریع جدایه‌های قارچی در آن و تشکیل خط واکنش واضح‌تر نسبت به دیگر محیط‌های کشت، به عنوان مناسب‌ترین محیط کشت برای بررسی سازگاری میسلیومی در این گونه معرفی کرد. وی دریافت که استرین‌های به‌دست‌آمده از یک شانکر به گروه‌های سازگار میسلیومی مختلفی تعلق دارند. همچنین وی بیان کرد که ساختار جمعیت این قارچ در بیشتر باغ‌ها پیچیده است. Liu & Milgroom (2007)، تنوع بسیار زیاد گروه‌های سازگار میسلیومی را در جمعیت‌های بومی ژاپنی و چینی قارچ *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr مشاهده کردند و بیشتر جدایه‌ها در گروه‌های سازگار میسلیومی تک‌عضوی قرار گرفتند. گروه‌های سازگار میسلیومی شناسایی‌شده با گروه‌های شناسایی‌شده از جمعیت‌های اروپایی (به عنوان جدایه‌های آزمایشگر) قارچ سازگار نبودند. در آن پژوهش تنوع گروه‌های سازگار رویشی بین جمعیت‌های آسیایی و اروپایی گونهٔ *C. parasitica* مقایسه گردیده است. آنها این‌طور تفسیر کردند که لوکوس‌های *vic* در آسیا پلی مورفیک‌اند، اما در اروپا این لوکوس‌ها منومورفیک‌اند. در نتیجه، در جمعیت آسیایی قارچ، انتقال مایکوویروس‌ها در بین جدایه‌ها بسیار کمتر از جمعیت‌های اروپایی اتفاق خواهد افتاد. McCallum *et al*. (2004)، ۳۴ گروه سازگار رویشی متشکل از ۴۳ جدایه را که با استفاده از تولید جهش‌یافتگان *nit* در قارچ *F. graminearum* شناسایی شده بودند در حالات مختلف برای بررسی سازگاری میسلیومی تلاقی دادند و بین گروه‌های سازگار رویشی (VCGs) شناسایی‌شده، خط واکنش ناسازگاری تشکیل شد. بنابراین آنها تشکیل خط واکنش را به عنوان روشی سریع در ردیابی گروه‌های سازگار رویشی قارچ *F. graminearum* و دیگر گونه‌های جنس *Fusarium* معرفی کردند. مطالعات Mylyk روی جمعیت‌های طبیعی قارچ *Neurospora* crassa Shear & B. O. Dodge نشان داد که هیچ یک از دو جدایهٔ به‌دست‌آمده از یک مکان، قادر به تشکیل هتروکاریون نیستند (Glass & Kuldau, 1992).

سازگاری میسلیومی تنها بین ژنوتیپ‌های نزدیک به هم رخ می‌دهد و کثرت گروه‌بندی بر فراوانی افراد مختلف ژنتیکی دلالت دارد (Wang *et al*., 1998).

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعهٔ سازگار میسلیومی در یک آسکوکارپ، یا روی یک درخت، یا روی درختان نزدیک، یا سرتاسر یک باغ، یا یک ناحیه جغرافیایی می‌تواند اطلاعات باارزشی در مورد شرایط تولیدمثل جنسی بیمارگر و همه‌گیر شدن بیماری فراهم آورد (Proffer & Hart, 1988; Adams *et al*., 1990). همچنین تعداد زیاد گروه‌های سازگار میسلیومی یافت‌شده در جمعیت‌های طبیعی قارچ‌های رشته‌ای، نشان می‌دهد که در طبیعت به‌ندرت تشکیل هتروکاریون رخ می‌دهد. وجود سیستم‌های ناسازگاری رویشی در آسکومیست‌های رشته‌ای چندین نتیجهٔ کاربردی برای بیماری‌شناسان گیاهی دارد. گروه‌های VCG برای مطالعهٔ پویایی جمعیت قارچ‌های بیمارگر گیاهی و همچنین جدایه‌های غیربیماری‌زا استفاده شده‌اند. شناسایی گروه‌های VCG ابزار مفیدی در تعیین منبع نژادهای جدید در یک منطقهٔ جغرافیایی خاص است و افزایش تعداد گروه‌های VCG نشان‌دهندهٔ تنوع ژنتیکی درون جمعیت است (Glass & Kuldau, 1992). تجزیه و تحلیل‌های VCG در جمعیت‌های قارچ‌های رشته‌ای برای ارزیابی اینکه آیا بیمارگر به تازگی به منطقه‌ای وارد شده، یا اینکه به مدت طولانی در آن منطقه وجود داشته است، استفاده شده است. اما دربارهٔ گونهٔ *D. ambigua*، چنین نتیجه‌گیری بدون اطلاع از چرخهٔ تولیدمثل جنسی قارچ مشکل خواهد بود. به‌طور کلی، از جمعیتی که تولیدمثل جنسی دارد، انتظار می‌رود که میزان زیادی از تنوع گروه‌های سازگار رویشی را داشته باشد (Smit *et al*., 1997).

در بررسی سازگاری میسلیومی جدایه‌های گونهٔ *V. sordida* تعداد زیادی گروه سازگار میسلیومی روی هر دو نوع محیط کشت به‌دست آمد که، تعداد زیاد گروه سازگار میسلیومی در دیگر قارچ‌های آسکومیستی مانند *C. parasitica* و گونهٔ *Leucostoma kunzei* نیز مشاهده شده است (Proffer & Hart, 1988). وجود این میزان تنوع در جدایه‌های گونهٔ *V. sordida* را می‌توان به تنوع اقلیمی ایران و منشأ میزبانی متنوع این جدایه‌ها مرتبط دانست. تحقیق حاضر اولین مورد از بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های گونهٔ *V. sordida* در ایران، با استفاده از شناسایی گروه‌های سازگار میسلیومی است.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی به شمارهٔ ۷۳۱۴۵۵۶۳/۶/۰۲ با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه تهران انجام گرفته است.

REFERENCES

1. Adams, G.C., Hammar, S.A. & Proffer, T. (1990). Vegetative compatibility in *Leucostoma persoonii*. *Phytopathology*, 80, 287-291.
2. Aghapour, B. (2010). *Study on morphology and genetic diversity of isolates of Valsa sordida, the causal agent of tree canker, in Golestan province using molecular marker, rep-PCR***.** MSc. Thesis, submitted to University of Tehran, Karaj, Iran, Pp. 112.
3. Bozorgmanesh, S. (2012). *Study on vegetative compatibility and genetic diversity of Valsa sordida isolates using molecular marker, MP-PCR***.** MSc. thesis submitted to University of Tehran, Karaj, Iran, Pp. 112.
4. Bozorgmanesh, S., Fotouhifar, Kh. B. & Heidarian, R. (2012). Introduction of some new host plants for *Cytospora chrysosperma*. *20th Iran. Plant Protec. Cong., Shiraz, Iran*. p. 455 (Abst.). (in Farsi).
5. Fotouhifar, Kh. B. (2007). *Taxonomic research on Iranian form-species of form-genus Cytospora Ehrenberg*. Ph.D. thesis submitted to University of Tehran, Karaj, Iran, Pp. 183.
6. Fotouhifar, Kh.B., Hedjaroude, G.A., Ershad, D., Moussavi, S.M., Okhovvat, S.M. & Javan-Nikkhah, M. (2007). New information on the form-genus *Cytospora* in Iran (I). *Rostaniha*, 8(2), 129-149. (in Farsi)
7. Glass, N.L. & Kuldau, G.A. (1992). Mating type and vegetative incompatibility in filamentous Ascomycetes. *Annual Review of Phytopathology*, 30, 201-224.
8. Glass, N.L., Jacobson, D.J. & Shiu, P.K.T. (2000). The genetics of hyphal fusion and vegetative incompatibility in filamentous Ascomycete fungi. *Annual Review of Genetics*, 34, 165-186.
9. Hayova, V.P. & Minter, D.V. (1998). *Valsa sordida*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. Set 137, No. 1370, CAB International, UK.
10. Kepley, J.B. & Jacobi, W.R. (2000). Pathogenicity of *Cytospora* fungi on six hardwood species. *Journal of Arboriculture*, 26(6), 329-332.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Kull, L.S., Pederson, W.L., Palmquist, D. & Hartan, G.L. (2004). Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 88, 325-332.
12. Liu, Y.C. & Milgroom, M.G. (2007). High diversity of vegetative compatibility types in *Cryphonectria parasitica* in Japan and China. *Mycologia*, 99(2), 279-284.
13. Mccallum, B.D., Tekauz, A. & Gilbert, J. (2004). Barrage zone formation between vegetatively incompatible *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) isolates. *Phytopathology*, 94(5), 432-437.
14. Proffer, T.J. & Hart, J.H. (1988). Vegetative compatibility groups in *Leucocytospora kunzei*. *Phytopathology*, 78(3), 256-260.
15. Ploetz, R.C. & Shokes, F.M. (1989). Variability among isolates of *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis* in different vegetative compatibility groups. *Canadian Journal of Botany*, 67, 2751-2755.
16. Smit, W.A., Wingfield, B.D. & Wingfield, M. J. (1997). Vegetative incompatibility in *Diaporthe ambigua*. *Plant Pathology*, 46, 366-372.
17. Suzaki, K. (2008). Population structure of *Valsa ceratosperma*, causal fungus of Valsa canker, in apple and pear orchards. *Journal of General Plant Pathology*, 74,128-132.
18. Wang, D., Iezzoni, A. & Adams, G.C. (1998). Genetic heterogeneity of *Leucostoma* species in Michigan peach orchards. *Phytopathology*, 88(5), 376-381.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Plant Protection, Vol. 46, No. 2, Autumn & Winter 2015-2016

Mycelial compatibility of *Valsa sordida* isolates in Iran

Sudabeh Bozorgmanesh[1], Khalil-Berdi Fotouhifar[2*] and Mohammad Javan Nik Khah[3]
1, 2, 3. M.Sc. Student, Associate Professor and Professor, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Jun. 16, 2014 - Accepted: Aug. 19, 2015)

ABSTRACT

In order to study of mycelial compatibility of *Valsa sordida* isolates on two culture media including potato dextrose agar and oat meal agar, 91 isolates that were collected from different provinces in 2004 and 2011 were used. In the prepared test, each isolate was paired with itself and with any of the other isolates. Dark barrage zone that shows incompatibility between two isolates, were observed seven days after parings. According to the results, thirty-eight single mycelial compatibility (MC) groups and eight multi-merge groups were identified on PDA culture medium and twenty-five single m-c groups and ten multi-merge groups on OMA culture medium were detected, showing the existence of high genetic diversity among the fungal isolates. In this study, no relationship between obtained MC groups on two culture media with geographic distribution and host plant origins of the fungal isolates was observed.

Keywords: fungus, *Cytospora chrysosperma*, genetic diversity, heterokaryon and barrage zone.

* Corresponding author E-mail: fotowhi@ut.ac.ir Tel: +98 26 32818705

www.SID.ir