Archive of SID

تعیین گروه های سازگار رویشی در *Fusarium proliferatum* عامل بیماری چاقو بریدگی نیشکر در خوزستان

حسین مؤذن رضا محله[۱] و رضا فرخی نژاد[۲]

چکیده

در طول سال های ۱۳۸۵-۱۳۸٤ از ساقه نیشکرهای آلوده به بیماری چاقو بریدگی درکشت و صنعت های نیشکر استان خوزستان تعداد ۸۰ جدایه *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg با استفاده از محیط کشت نش و اسنایدر جداسازی گردید. تنوع ژنتیکی جدایه ها از لحاظ بیماریزایی و گروه های سازگار رویشی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که همه جدایه ها روی رقم CP57-614 بیماریزا بودند. از این ۸۰ جدایه، با استفاده از محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی ۳ و ۵ درصد کلرات پتاسیم و محیط کشت زاپک با کلرات ۳ درصد، تعداد ٤۹۷ جهش یافته نیت[۳] به دست آمد. کلاس فنوتیپی هر یک از جهش یافته های نیت بر اساس نحوه رشدشان روی محیط کشت پایه حاوی یکی از چهار منبع ازت نیترات، نیتریت، آمونیوم و هیپوزانتین تعیین شد. بر این اساس ٤۵/۳ درصد از جهش یافتگان نیت در کلاس فنوتیپی nit1، ۱۹/۷ درصد در کلاس فنوتیپی nit3 و ۳۵ درصد در کلاس فنوتیپی NitM قرار گرفتند. مکمل سازی بین جهش یافته های نیت حاصله از جدایه ها، روی محیط کشت حداقل انجام شد و ۲۷ گروه سازگار رویشی در این جمعیت شناسایی گردید. در هیچ یک از جدایه ها پدیده خود- ناسازگاری رویشی مشاهده نشد. در این مطالعه بین گروه های سازگار رویشی و مناطق جغرافیایی محل جمع آوری و بیماریزایی جدایه ها، رابطه خاصی مشاهده نگردید.

کلید واژه ها: نیشکر، Fusarium، گروه های سازگار رویشی، جهش یافته، نیت، هتروکاریون، خوزستان

مقدمه

قارچ *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg از بیمار گر های گیاهی خاکزاد است که عامل بیماری چاقوبریدگی[۴] در محصول نیشکر می باشد. بیماری چاقوبریدگی در ایران اولین بار در سال ۱۳۷۲ در کشت و صنعت کارون مشاهده شد (۴) و قارچ *F. proliferatum* توسط طاهر خانی (۴) از گیاه آلوده جداسازی گردید. در میانگره های تحتانی ساقه، در زیر غلاف زخم هایی شبیه چاقو بریدگی در یک یا دو طرف ساقه مشاهده می گردد (شکل۱) که باعث ورس ساقه، رشد ساقه های جانبی، کاهش قند ساقه های مادری و خشک شدن گیاه در بخش فوقانی می شود. برای تشخیص تنوع در جمعیت قارچ های مختلف علاوه بر خصوصیات فنوتیپی و فیزیولوژیکی قارچ (۱۰) از نشان گرهای ژنتیکی متفاوتی (۱۸و۲۰) استفاده به عمل می آید. از خصوصیات فنوتیپی که جهت بیان تنوع در قارچ فوزاریوم مورد استفاده قرار گرفته اند مرفولوژی پرگنه (۷،۱۰و۲۳) و مرفولوژی اندام های زایشی غیر جنسی می باشند (۷و۱۸). با وجود این، خصوصیات مرفولوژیکی بسیار متغیر بوده و تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می گیرند (۱۳).

۱ - دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز (Caspian.2004@yahoo.com)

۲- استاد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز

3- Nit

4- knaife-cut

تاریخ دریافت: ۸۶/۲/۳۱

تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۱۳

www.SID.ir

Archive of SID

بنابراین تنها به کارگیری خصوصیات مرفولوژیکی معیارکاملی برای بررسی تنوع در جمعیت قارچ نمی باشد. اگرچه آزمون بیماریزایی، یک ویژگی مهم و مفید برای تفکیک جدایه ها محسوب می شود ولی در این آزمایش ها فقط از صفت بیماریزایی جدایه ها استفاده می شود که آن نیز تحت تاثیر عوامل متعددی از قبیل دما، سن میزبان، روش مایه زنی و دامنه میزبانی قرار می گیرد، (۶،۲ و ۱۱). بنابراین، نتیجه آن از ثبات و یکنواختی لازم برخوردار نیست و این امر تمایز جدایه های مختلف قارچ را با مشکل مواجه می سازد. از طرفی انجام این آزمون نیاز به فضای مناسب آزمایشی داشته و به وقت، دقت و هزینه زیادی نیاز دارد. به دلیل اشکالات فوق، محققان استفاده از نشانگر های مختلف ژنتیکی و مولکولی را به عنوان شاخص هایی برای طبقه بندی جدایه های مختلف بسیار مفید دانسته اند (۱۸و۲۰). مطالعه جمعیت ها با استفاده از گروه های سازگار رویشی [1]به عنوان یکی ازابزارهای اندازه گیری تنوع ژنتیکی در قارچ ها به کار می رود. به کارگیری روش های ژنتیکی و مولکولی نشان می دهد که جدایه های قارچی که در یک گروه سازگار رویشی قرار می گیرند نسبت به بقیه جدایه ها از شباهت ژنتیکی بیشتری برخوردار هستند و قادرند اطلاعات ژنتیکی را از طریق سیکل پراجنسی[2] بین خود مبادله نمایند (۲۲،۲۰).

پوهالا[3] (۲۵) روش هایی را که قبلا کاو برای بررسی سازگاری رویشی در *Aspergillus* به کار گرفته بود برای مطالعه ژنتیکی قارچ *Fusarium oxysporum* به کار برد. برای این منظور از جهش یافتگان نیت[4] که از محیط های حاوی کلرات به دست می آیند، استفاده می شود. مشخصه اصلی این جهش یافتگان، رشد غیر متراکم و گسترده آنها بر روی محیط حداقل[5] است که از تیپ وحشی آن که دارای رشد متراکم همراه با ریسه های هوایی می باشد قابل تشخیص است. میزان مقاومت قارچ ها به کلرات مصرفی متفاوت بوده و در مواردی جهت تولید جهش یافتگان نیت لازم است مقدار کلرات در محیط افزایش یابد چون با بکارگیری میزان پایینی از کلرات، یا سکتوری تولید نمی شود و یا با انتقال سکتور های تولید شده به محیط حداقل مانند تیپ وحشی رشد خواهند نمود (۹و۲۱). بررسی های انجام شده در خصوص تعیین گروه های سازگاری رویشی در *F. proliferatum* بسیار اندک بوده و تنها گزارش موجود در این باره، مربوط به المر می باشد که در سال ۱۹۹۱ موفق به جداسازی ۱۱۰ جدایه *F. proliferatum* از روی گیاه مارچوبه شد. نامبرده با انتقال این جدایه ها به محیط سیب زمینی- دکستروز-آگار[6] حاوی کلرات پتاسیم ۱/۵ درصد تعدادی جهش یافته نیت به دست آورد و پس از انجام آزمون مکمل سازی[7]، این جدایه ها در ۲۰ گروه سازگار رویشی قرار گرفتند (۱۴). جهش یافتگان نیت بر اساس خصوصیات فنوتیپی بر روی محیط پایه[8] حاوی یکی از منابع ازت (نیترات سدیم، نیتریت سدیم، هیپوزانتین و تارتارات آمونیوم) در سه گروه فنوتیپی nit1، nit3 و NitM قرار می گیرند (۱۱و۱۹). تولید جهش یافتگان نیت در جنس های مختلف قارچ ها و حتی در گونه های مختلف یک جنس متفاوت است (۱۹). هر چند عوامل محیطی مانند تغذیه و دما نیز بی تاثیر نیستند (۱۱). وقتی که دو جهش یافته اگزوتروف[9]، در مقابل همدیگر قرار می گیرند به سوی هم رشد کرده و در محل تماس ریسه ها با هم، رشد متراکم همراه

1-VCG (Vegetative compatibility groups)
2- Parasexual cycle
3- Puhalla
4- Nitrate non utilizing mutants
5- Minimal medium
6- Potato dextrose agar
7- Complementation test
8- Basal medium
9- Auxotroph

www.SID.ir

Archive of SID

با ریسه های هوایی مشاهده می شود که این نشان دهنده تشابه ژنتیکی دو جدایه و تشکیل هتروکاریون[1] می باشد (۲۱و۲۶) که در این صورت دو جدایه در یک گروه سازگار رویشی قرار می گیرند. مطالعاتی که برای تعیین ارتباط بین گروه های سازگار رویشی و مناطق جغرافیایی جدایه ها انجام شده، نشان داده اند که در بعضی موارد این رابطه مثبت (۶ و۲۵) و در مواردی نیز چنین ارتباطی وجود ندارد (۹ و۱۲). تحقیق حاضر با هدف جداسازی و تشخیص عامل بیماری چاقو بریدگی نیشکر در کشت و صنعت های نیشکر در استان خوزستان، بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت این قارچ بر اساس شناسایی گروه های سازگار رویشی، تعیین ارتباط ژنتیکی بین جدایه های هر منطقه و نیز مناطق دیگر و نیز تعیین ارتباط گروه های سازگار رویشی با بیماریزایی جدایه ها صورت گرفت.

مواد و روش ها

۱- نمونه برداری و جدا سازی قارچ

نمونه برداری از مهر ماه سال ۱۳۸۴ تا مرداد ۱۳۸۵ از کشت و صنعت های کارون، هفت تپه، امیر کبیر، میرزا کوچک خان، امام خمینی(ره)، دعبل خزاعی، سلمان فارسی و حکیم فارابی انجام شد (جدول۳). ساقه های آلوده که دارای علائم بیماری (زخم هایی شبیه چاقو بریدگی) بودند بریده شده و در کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردیدند. جهت جداسازی عامل بیماری ابتدا محل چاقوبریدگی با الکل اتیلیک ۷۵٪ ضدعفونی سطحی شد و سپس قطعات کوچکی از بافت های مرز بین ناحیه سالم و آلوده جدا و در محیط کشت انتخابی نش و اسنایدر[2] کشت گردیدند (۲۳).

۲- خالص سازی و شناسایی قارچ

با استفاده از محیط کشت آب- آگار جدایه ها به روش تک اسپور و نوک ریسه خالص سازی شده و سپس در محیط نوترینت آگار مخصوص[3] در یخچال نگهداری شدند. برای شناسایی قارچ از محیط کشت های آب – آگار[4]، سیب زمینی – دکستروز – آگار، برگ میخک- آگار[5] و کلرور پتاسیم استفاده گردید. گونه *F. proliferatum* بر اساس مورفولوژی پرگنه و مشخصات اندام های زایشی شامل فیالیدها، ماکروکنیدیوم ها و زنجیره میکروکنیدیومها و با استفاده از کلیدهای معتبر (۸و۲۳) شناسایی گردید.

۳- بررسی بیماریزایی

برای انجام آزمون بیماریزایی از تکنیک مایه زنی به روش ساقه های (قلمه های) جداشده برای به حداقل رساندن دوره کمون در آزمایشگاه استفاده شد. برای این منظور ساقه های گیاهان هم سن، هم ارتفاع، هم قطر و فاقد هر گونه آلودگی و تغییر رنگ از رقم CP57-614 را بریده و توسط کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردید. برای هر جدایه، تعداد پنج قلمه (به قطر ۲-۱/۵ و به طول ۳۰ سانتی متر) استفاده شد. قلمه های استفاده شده حداقل دارای یک میانگره کامل بودند. ابتدا قلمه ها با الکل اتیلیک ۷۰٪ سترون سطحی شدند، سپس دو طرف قلمه ها با پارافین و یا پارافیلم پوشانده شد تا از ورود قارچ های ساپروفیت از دو انتهای قلمه جلوگیری به عمل آید. آنگاه در وسط هر قلمه محل مناسبی برای مایه زنی انتخاب و با چوب پنبه سوراخ کن، حلقه ای از بافت به عمق ۰/۵ سانتی متر جدا گردید، به طوری که سوراخ ایجاد شده به مغز ساقه نرسید. از حاشیه پرگنه قارچ چهار روزه قرصی از میسلیوم قارچ برداشته و در محل مایه زنی قرار گرفت. برای جلوگیری از جابجایی و خشک شدن

1- Heterokaryon
2- Nash & Snyder
3- SNA(Special Nutrient Agar)
4-WA(Water Agar)
5- CLA(Carnation Leaf Agar)

www.SID.ir

Archive of SID

قرص های قارچ و ورود عوامل دیگر، محل مایه زنی با یک لایه پارافیلم و چسب نواری کاغذی پوشانده شد. در تیمار شاهد (۵ تکرار) به جای محیط کشت حاوی قارچ، فقط از محیط کشت سیب زمینی – دکستروز– آگاراستفاده شد. بعد از مایه زنی، قلمه ها در ژرمیناتور با رطوبت ۹۰٪–۸۰٪ به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸– ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. میزان گسترش بیماری در بافت های داخلی و خارجی قلمه ها و همچنین جدا کردن مجدد عامل بیماری از منطقه آلوده معیار سنجش قرار گرفت.

٤- تولید جهش یافتگان نیت

از کشت های خالص هر جدایه از روی محیطSNA قطعات کوچکی به لوله های حاوی محیط کشت کامل[1] منتقل گردید. بعد از ۵–۴ روز که قارچ به خوبی روی محیط کشت فوق رشد کرد از هر جدایه ۱۰ قطعه ۲ میلی متری برداشته و به محیط کشت های حاوی کلرات (زاپک و سیب زمینی– دکستروز– آگار[2]) با پنج تکرار مایه زنی گردید. ظروف کشت به مدت ۱۵–۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شرایط نوری (۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی) نگهداری شدند. وضعیت پرگنه ها از نظرتولید سکتور بطور روزانه مورد بررسی قرار گرفت. با مشاهده سکتورهای سریع الرشد، قسمت کوچکی از حاشیه آنها جدا و به محیط کشت حداقل انتقال داده شد. با این روش جهش یافتگان نیت که دارای رشدی غیر متراکم، گسترده و فاقد ریسه های هوایی روی این محیط بودند از جهش یافتگان مقاوم به کلرات که رشدی مشابه تیپ وحشی (رشد متراکم و واجد میسلیوم هوایی) داشتند تشخیص داده شد (۱۱). جهش یافتگان نیت تولید شده به لوله آزمایش حاوی محیط حداقل منتقل و در یخچال (دمای۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شدند.

۵- تعیین کلاس فنوتیپی جهش یافتگان نیت

از جهش یافتگان نیت که روی محیط کشت حداقل رشد غیر متراکم داشتند بلوک های میسلیومی به قطر ۲ میلی متر جدا و به محیط های کشت پایه (ساکارز۳۰ گرم، سولفات منیزیوم ۷ آبه ۵/. گرم، فسفات هیدروژن پتاسیم ۱ گرم، کلرور پتاسیم ۵/. گرم، آگار۲۰–۱۷ گرم و محلول عناصر کم مصرف ۲/. میلی لیتر) حاوی یکی از منابع نیتروژن (شامل نیترات سدیم، نیتریت سدیم، هیپوزانتین و تارتارات آمونیوم) منتقل و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. پس از ۵–۴ روز جهش یافتگان نیت از نظر مورفولوژی پرگنه ها در یکی از گروه های nit1، nit3 یا NitM قرار گرفتند (۱۱,۳).

٦- آزمون مکمل سازی برای تعیین گروه های سازگار رویشی جدایه ها

به منظور تعیین گروه های سازگار رویشی جدایه ها، مکمل سازی بین جهش یافتهNitM باnit1 و یا NitM با nit3 صورت گرفت. در غیاب جهش یافته NitM، مکمل سازی بین nit1 و nit3 صورت گرفت. در این تحقیق ابتدا مکمل سازی بین جهش یافتگان nit جدا شده از هر منطقه (کشت و صنعت) بعمل آمد، بعد از تعیین گروه های سازگار رویشی این جدایه ها، از هر گروه یک جهش یافته NitM به عنوان نماینده[3] انتخاب گردید و کلیه جهش یافتگان (nit1 یا nit3) مابقی جدایه ها با آنها مکمل سازی شدند. پس از مشخص شدن گروه های سازگار رویشی در هر منطقه، بین نمایندگانی از این گروه ها با نمایندگان گروه های سازگار رویشی مناطق دیگر مکمل سازی صورت گرفت (۱۱). برای انجام مکمل سازی، یک قطعه ۲ میلی متری از جهش یافته NitM یک جدایه در وسط تشتک پتری محیط حداقل (نیترات سدیم ۲ گرم، محیط

1- Complete medium
2- Czapec dox agar
3- Tester

www.SID.ir

Archive of SID

کشت پایه ۱ لیتر) قرار داده شده و سپس در چهار طرف آن و به فاصله مساوی ۲ سانتیمتر، یک قطعه از جهش یافته nit1 یا nit3 جدایه های دیگر قرار داده شد (۱۱).

نتایج

۱- جداسازی و شناسایی قارچ

پرگنه های قارچی معمولا پس از ۴ تا ۵ روز، روی محیط کشت ظاهر شدند. جدایه ها به روش تک اسپور خالص سازی شده و با استفاده از روش های خاص شناسایی گونه های جنس فوزاریوم، توصیف شده در منابع معتبر شناسایی فوزاریوم ها مانند نلسون و همکاران[1] (۲۳)، بوس[2] (۷) و برگس و همکاران[3] (۸) به دقت شناسایی شدند. در نهایت ۸۰ جدایه متعلق به گونه *F. proliferatum* از مناطق مختلف کشت نیشکر در استان خوزستان شناسایی گردید.

۲- آزمون بیماریزایی

علائم ناشی از مایه کوبی قلمه ها پس از ۱۴-۱۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. علائم شامل لکه های نکروزه ای بود که از محل مایه کوبی قلمه ها شروع و به طرف گره ها در حال گسترش بودند (شکل۲). جهت رعایت اصول کخ و اطمینان از اینکه علائم ایجاد شده ناشی از حمله قارچ مایه کوبی شده می باشد، از قسمت های آلوده دور از محل مایه کوبی قطعاتی روی محیط کشت انتخابی نش و اسنایدر کشت داده شد و قارچ مایه کوبی شده جداسازی گردید. در اطراف محل مایه کوبی قلمه هایی که به عنوان شاهد مایه کوبی شده بودند، هیچ گونه نکروزی مشاهده نگردید.

۳- تولید جهش یافتگان نیت

روی محیط کشت حداقل حاوی کلرات پتاسیم ۱/۵، ۳ و ۵ درصد حتی پس از ۲۱ روز هیچ نوع سکتور سریع الرشدی تولید نگردید و جدایه ها به صورت تیپ وحشی رشد کردند. روی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی کلرات پتاسیم ۱/۵ درصد، رشد پرگنه قارچ کمی محدودتر شد و سکتورهای سریع الرشد تولید شدند ولی تمام سکتورها روی محیط کشت حداقل، به حالت تیپ وحشی رشد کردند. بنابراین جدایه ها به محیط سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی کلرات پتاسیم ۳ درصد انتقال داده شدند. از تعداد زیاد سکتورهای حاصله (شکل۳) که به محیط حداقل منتقل گردید، در نهایت ۱۰۰ جهش یافته نیت به دست آمد که با افزایش درصد کلرات پتاسیم این محیط به ۵ درصد، حدود ۱۲۷ جهش یافته نیت حاصل شد. جهت صرفه جویی در وقت و مواد شیمیایی مصرفی و بالا بردن تنوع جهش یافتگان نیت، از محیط کشت رزبنگال- کلرات ۳ درصد استفاده گردید (۵ و۶). در روی این محیط کشت سرعت رشد پرگنه ها بسیار محدود و تعداد سکتورها زیاد بود و در مجموع ۲۷۰ جهش یافته nit با استفاذه از این محیط جداسازی گردید. جهش یافتگان به لوله های آزمایش حاوی محیط کشت حداقل منتقل و در یخچال نگهداری شدند.

٤- تعیین کلاس فنوتیپی جهش یافتگان نیت

پس از ۵-۴ روز، تشتک های پتری جهت تعیین کلاس فنوتیپی جهش یافتگان نیت بررسی شدند. جهش یافتگانی که بر روی محیط کشت های حاوی نیتریت، هیپوزانتین و آمونیوم به صورت تیپ وحشی رشد کردند در کلاس فنوتیپی nit1، جهش یافتگانی که بر روی محیط کشت های حاوی هیپوزانتین و آمونیوم رشد کردند در کلاس فنوتیپی nit3 و جهش یافتگانی که بر روی محیط کشت های حاوی نیتریت و آمونیوم رشد کردند در کلاس فنوتیپی NitM قرار گرفتند (شکل۴). در این بررسی جهش یافتگان nit1 بیشترین فراوانی را داشتند (۴۵/۳ درصد) و جهش یافتگان NitM (۳۵ درصد)

1- Nelson *et al.*
2- Booth
3- Burgess *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

و nit3 (۱۹/۶ درصد) از فراوانی کمتری برخوردار بودند (جدول ۱).

۵- مکمل سازی جهش یافتگان نیت

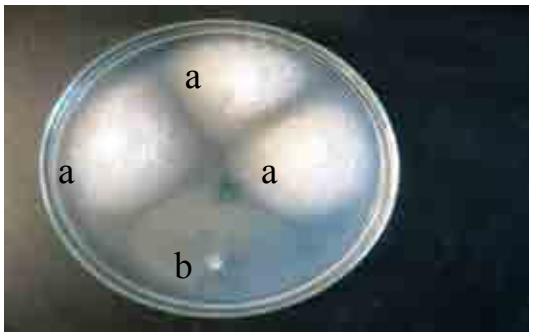
جهش یافتگان نیت مکمل از جدایه های مختلف در مقابل هم قرار داده شدند. بعد از ۵ روز بر روی محیط کشت حداقل در محل برخورد ریسه های جهش یافتگان نیت سازگار، رشد متراکمی از ریسه های هوایی که نشان دهنده تشکیل سلول های هتروکاریون و سازگاری رویشی دو جدایه بود مشاهده شد (شکل۵).

در این تحقیق ۸۰ جدایه *F. proliferatum* پس از مقابله سازی در ۲۷ گروه سازگار رویشی قرار گرفتند (جدول۳). گروه سازگار رویشی ۱۹ با ۹ عضو و ۱۱ گروه تک عضوی به ترتیب بزرگترین و کوچکترین گروه سازگار رویشی را تشکیل دادند (جدول ۲).

شکل ۱- علائم بیماری چاقو بریدگی

شکل ۲- آزمون بیماریزایی روی قلمه نیشکر

شکل۳ - سکتور تولید شده



شکل ٤- تعیین کلاس فنوتیپی موتانتهای نیت.a)رشد بصورت تیپ وحشیb) به صورت میسلیوم ضعیف و گسترده

شکل۵- هتروکاریون رویشی درجدایه های سازگار

www.SID.ir

Archive of SID

٦- ارتباط بین منطقه، تعداد VCGو توزیع جدایه های قارچی در آنها

در این مطالعه هیچ الگوی خاصی در مورد پراکنش VCG های مختلف در مناطق مختلف و نیز سازگار رویشی متفاوت بدست نیامد. به عنوان مثال جدایه های قارچ در کشت و صنعت فارابی در ۳ گروه سازگار رویشی به این ترتیب قرار گرفتند که یکی از گروه ها شامل ۹ جدایه و گروه دیگر ۲ جدایه و گروه آخر ۳ جدایه بودند. توزیع دیگر جدایه های قارچی در گروه های سازگار رویشی در مناطق دیگر نیز به همین صورت بود (جدول۲).

جدول ۱- فراوانی تولید جهش یافتگان نیت جدایه های *F. proliferatum* در محیط کشت های مختلف حاوی مقادیر مختلف کلرات پتاسیم

درصد کلرات پتاسیم	نوع محیط کشت	Nit1(%)	Nit3(%)	Nit M(%)
۳	PDC	۱۰/۱	۷	۳/۰۲
۵	PDC	۱۴/۱	۴/۶	۶/۸
۳	CDAC	۲۱/۱۳	۸/۰۴	۲۵/۲

جدول۲- ارتباط بین منطقه، تعدادVCG و توزیع جدایه های قارچی در آنها*

منطقه نمونه برداری	توزیع جدایه ها در گروه های VCG
کشت وصنعت میرزا کوچک خان	۱(۱)،۱(۵)
کشت و صنعت امام خمینی (ره)	۱(۱)،۲، (۸)۱
کشت و صنعت کارون	۱(۱)،۲، (۴)۱
کشت و صنعت هفت تپه	۱(۱)،۳، (۳)۱
کشت و صنعت دعبل خزاعی	۱(۵)،۲، (۴)۱
کشت و صنعت فارابی	۱(۳)،۱، (۲)۱، (۹)۱
کشت و صنعت سلمان فارسی	۱(۲)،۱، (۳)۱،(۴)۱، (۵)۱
کشت وصنعت امیر کبیر	۱(۳)،۳، (۴)۱، (۳)۱

* اعداد داخل پرانتز نشان دهنده تعداد جدایه ها و اعداد بیرون پرانتز نشان دهنده تعداد VCG می باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳ - جدایه های *F. proliferatum*، بدست آمده از نیشکر، تاریخ ، محل نمونه برداری، بیماریزایی و گروه های سازگار رویشی آنها

ردیف	نام جدایه	تاریخ نمونه برداری	محل نمونه برداری	بیماریزایی	گروه سازگاری رویشی(VCGs)
۱	F_PE_1	مهر ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۲	F_PE_2	مهر ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۳	F_PE_3	مهر ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۴	F_PE_4	مهر ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۵	F_PE_5	مهر ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۲
۶	F_PE_6	مهر ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۳
۷	F_PE_7	مهر۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۸	F_PE_8	مهر ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۹	F_PE_9	آبان ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۱۰	F_PE_{10}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امام خمینی(ره)	+	۱
۱۱	F_PA_{11}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۵
۱۲	F_PA_{12}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۴
۱۳	F_PA_{13}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۴
۱۴	F_PA_{14}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۸
۱۵	F_PA_{15}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۴
۱۶	F_PA_{16}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۷
۱۷	F_PA_{17}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۶
۱۸	F_PA_{18}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۵
۱۹	F_PA_{19}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۵
۲۰	F_PA_{20}	آبان ۸۴	کشت و صنعت امیرکبیر	+	۵
۲۱	F_PK_{21}	فروردین ۸۵	کشت و صنعت کارون	+	۹
۲۲	F_PK_{22}	فروردین ۸۵	کشت و صنعت کارون	+	۹
۲۳	F_PK_{23}	فروردین ۸۵	کشت و صنعت کارون	+	۱۰
۲۴	F_PK_{24}	فروردین ۸۵	کشت و صنعت کارون	+	۱۱
۲۵	F_PK_{25}	فروردین ۸۵	کشت و صنعت کارون	+	۹
۲۶	F_PK_{26}	فروردین ۸۵	کشت و صنعت کارون	+	9

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۳

ردیف	نام جدایه	تاریخ نمونه برداری	محل نمونه برداری	بیماریزایی	گروه سازگاری رویشی(VCGs)
۲۷	F_PH_{27}	اردیبهشت ۸۵	کشت و صنعت هفت تپه	+	۱۴
۲۸	F_PH_{28}	اردیبهشت ۸۵	کشت و صنعت هفت تپه	+	۱۲
۲۹	F_PH_{29}	اردیبهشت ۸۵	کشت و صنعت هفت تپه	+	۱۲
۳۰	F_PH_{30}	اردیبهشت ۸۵	کشت و صنعت هفت تپه	+	۱۳
۳۱	F_PH_{31}	اردیبهشت ۸۵	کشت و صنعت هفت تپه	+	۱۲
۳۲	F_PH_{32}	اردیبهشت ۸۵	کشت و صنعت هفت تپه	+	۱۵
۳۳	F_PD_{33}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۸
۳۴	F_PD_{34}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۷
۳۵	F_PD_{35}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۶
۳۶	F_PD_{36}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۶
۳۷	F_PD_{37}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۷
۳۸	F_PD_{38}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۷
۳۹	F_PD_{39}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۶
۴۰	F_PD_{40}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۸
۴۱	F_PD_{41}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۶
۴۲	F_PD_{42}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۷
۴۳	F_PD_{43}	آذر۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۷
۴۴	F_PD_{44}	آذر۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۸
۴۵	F_PD_{45}	آذر۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۸
۴۶	F_PD_{46}	آبان ۸۴	کشت و صنعت دعبل خزائی	+	۱۸
۴۷	F_PF_{47}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۲۰
۴۸	F_PF_{48}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۴۹	F_PF_{49}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۲۱
۵۰	F_PF_{50}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۵۱	F_PF_{51}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۲۱
۵۲	F_PF_{52}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۵۳	F_PF_{53}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۲۰

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۳

ردیف	نام جدایه	تاریخ نمونه برداری	محل نمونه برداری	بیماریزایی	گروه سازگاری رویشی(VCGs)
۵۴	F_PF_{54}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۵۵	F_PF_{55}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۵۶	F_PF_{56}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۲۱
۵۷	F_PF_{57}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۵۸	F_PF_{58}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۵۹	F_PF_{59}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۶۰	F_PF_{60}	آذر ۸۴	کشت و صنعت حکیم فارابی	+	۱۹
۶۱	F_PS_{61}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۲
۶۲	F_PS_{62}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۳
۶۳	F_PS_{63}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۴
۶۴	F_PS_{64}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۳
۶۵	F_PS_{65}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۲
۶۶	F_PS_{66}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۳
۶۷	F_PS_{67}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۵
۶۸	F_PS_{68}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۴
۶۹	F_PS_{69}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۵
۷۰	F_PS_{70}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۲
۷۱	F_PS_{71}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۲
۷۲	F_PS_{72}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۲
۷۳	F_PS_{73}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۳
۷۴	F_PS_{74}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۴
۷۵	F_PM_{75}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۷۶	F_PM_{76}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۷۷	F_PM_{77}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۷
۷۸	F_PM_{78}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۷۹	F_PM_{79}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۸۰	F_PM_{80}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۷۴	F_PS_{74}	بهمن ۸۴	کشت و صنعت سلمان فارسی	+	۲۴

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۳

ردیف	نام جدایه	تاریخ نمونه برداری	محل نمونه برداری	بیماریزایی	گروه سازگاری رویشی (VCGs)
۷۵	F_PM_{75}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۷۶	F_PM_{76}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۷۷	F_PM_{77}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۷
۷۸	F_PM_{78}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۷۹	F_PM_{79}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶
۸۰	F_PM_{80}	خرداد ۸۵	کشت و صنعت میرزا کوچک	+	۲۶

بحث

در این تحقیق، فراوانی تولید جهش یافتگان نیت جدایه های *F. proliferatum* در درصد های ۱/۵، ۳ و ۵ کلرات محیط کشت حداقل صفر بود و هیچ گونه سکتوری تولید نشد که این مساله در مورد سایر گونه های فوزاریوم مثل گونه *F. solani* نیز صدق می کند (۱۶). فراوانی تولید سکتور در محیط سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی کلرات پتاسیم ۱/۵ درصد پایین بود و تمامی سکتورهای تولیدی در این محیط کشت برگشت کردند و هیچ گونه جهش یافته نیت تولید نشد.این در حالی است که المر[1](۱۴) با استفاده از محیط سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی کلرات ۱/۵ درصد از کلیه جدایه های *F. proliferatum* به دست آمده از گیاه مارچوبه، جهش یافتگان نیت پایدار تولید کرد. به عقیده کرل و همکاران[2] (۱۱) فراوانی تولید جهش یافتگان نیت علاوه بر درصد و درجه خلوص کلرات پتاسیم، تحت تاثیر عوامل محیطی مانند دما و تغذیه و نوع قارچ نیز می باشد. به نظر می رسد که یکی از دلایل تولید تعداد پایین جهش یافتگان نیت در این محیط در مطالعه حاضر پایین بودن درجه خلوص کلرات پتاسیم مورد استفاده باشد. با توجه به اینکه جهش یافتهگان نیت در محیط کشت حاوی کلرات تولید می شوند (کلرات به عنوان آنالوگ نیترات) و کلرات توسط آنزیم احیاءکننده نیترات، به ماده سمی کلریت تبدیل می گردد و این ماده رشد قارچ را بشدت کاهش داده و موجب جهش در ژن های(به ویژه ژن های تنظیم کننده متابولیسم ازت) آنها می شود در نتیجه با افزایش درصد کلرات به ۳ و۵، تعداد سکتورها و جهش یافتگان نیت افزایش یافت. گرچه بیشتر محققان جهت تولید جهش یافتگان از محیط کشت هایی نظیر سیب زمینی- دکستروز- آگار و محیط حداقل حاوی کلرات استفاده کرده اند (۳،۲) ولی مطالعات نشان داده است که محیط کشت های دیگری چون زاپک نیز جهت تولید جهش یافتگان نیت در بسیاری از قارچ ها مناسب می باشد (۱۵). به دلیل عدم وجود تنوع لازم درجهش یافتگان نیت و تعداد پایین جهش یافته NitM تولید شده با استفاده از محیط سیب زمینی- دکستروز-آگار حاوی کلرات ، از محیط زاپک با کلرات ۳ درصد استفاده شد. برتری این محیط کشت نسبت به دو محیط کشت دیگر (سیب زمینی- دکستروز-آگار و محیط حداقل حاوی کلرات) وجود ماده رزبنگال است که باعث کندی رشد دیگر انواع جهش یافتگان می شود و در نتیجه،

1- Elmer
2- Correll *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

جهش یافتگان نیت اجازه رشد بهتری می یابند (۶و۱۵). در این تحقیق همچنین تعدادی از سکتورهای سریع الرشد بعد از انتقال به محیط کشت حداقل، به صورت تیپ وحشی رشد کردند. در بررسی کرل و همکاران (۱۱) معلوم شد این نوع از جهش یافتگان از ازت به خوبی استفاده کرده و غالبا در جدایه هایی که ریسه چند هسته ای دارند بیشتر دیده می شوند. در این نوع از جهش یافتگان، ریسه ها مخلوطی از هسته های حساس و مقاوم به کلرات را دارا می باشند. فنوتیپ جهش یافتگان نیت از نحوه رشد پرگنه بر روی محیط هایی که دارای یکی از چهار منبع متفاوت ازت هستند تعیین گردید. جهش یافتگان نیت را به سه کلاس فنوتیپی تقسیم می کنند. این گروه ها بر اساس یک جهش در یک لوکوس ساختمانی آنزیم احیا کننده نیترات (nit1 ، قادر به استفاده از نیترات نمی باشد)، یک لوکوس اختصاصی تنظیم کننده نیترات (nit3 ، قادر به مصرف نیترات و نیتریت نمی باشد)، و جهش در پنج لوکوس مسئول ساخت کوفاکتور دارای مولیبدن که برای فعالیت نیترات ردوکتاز لازم است (NitM ،قادر به استفاده از نیترات و هیپوزانتین نیست)، حاصل می شوند (۱۱). در آزمون های مکمل سازی بین جهش یافتگان نیت جدایه ها وقتی که از جهش یافتگان NitM در مقابل جهش یافتگان nit1 یا nit3 استفاده می شد، جوش خوردن و تشکیل هتروکاریون در مدت زمان کمتری و با تراکم بیشتری انجام می گرفت، برعکس وقتی که از جهش یافتگان nit1 در مقابل جهش یافتگان nit3 استفاده می گردید تشکیل هتروکاریون ضعیفتر و دیرتر ظاهر می شد. در عمل مکمل سازی بین جهش یافتگان دو فنوتیپ مختلف از یک جدایه مادری مشخص شد،که تمام جدایه ها خود سازگار هستند. در این مطالعه از عمل مکمل سازی جهش یافتگان نیت ،۲۷ گروه سازگار رویشی شناسایی گردید. المر (۱۴) در ۱۱۰ جدایه بدست آمده از گیاه مارچوبه، ۲۰ گروه سازگار رویشی را شناسایی نمود. البته می توان با افزایش دفعات نمونه برداری از یک منطقه یا از مناطق دیگر، احتمال جداسازی جدایه های جدیدی را که در گروه های سازگار جدید قرار می گیرند، افزایش داد (۱۷). همچنین عواملی چون ژنتیک، نحوه تولید مثل قارچ، تعداد و منابع نمونه های قارچی، در تعداد گروه های سازگار رویشی یک گونه یا فرم مخصوص موثر است (۲۷).

این تعداد گروه سازگار رویشی نشان دهنده تنوع بالای ژنتیکی این گونه می باشد که از دلایل آن می توان به انتشار قارچ بر روی گیاه نیشکر توسط قلمه در هر منطقه و ورود جدایه های متفاوت به یک محیط از طریق باد را نام برد که این پدیده ها می توانند بر روی تعداد گروه های سازگار رویشی تاثیر بگذارند. از طرفی هر چند وجود فرم جنسی قارچ بر روی گیاهان نیشکر در ایران هنوز گزارش نشده است ولی احتمال داردکه تشکیل فرم جنسی قارچ، یکی از علل تنوع بالا در جمعیت قارچی باشد، چرا که در موجوداتی که توانایی تولید مثل جنسی دارند ترکیبات ژنی در طول زمان به طور مرتب ایجاد و شکسته می شوند (۲۲،۲۰). مثلا در *F. moniliforme* که دارای مرحله جنسی است ۱۰ ژنگاه(لوکوس) *vic* شناسایی شده است. از این تعداد ژن ۱۰۲۴=2^{10} گروه سازگار رویشی قابل حصول می باشد زیرا یک اختلاف اللی در هر یک از ژنگاه های *vic* باعث ناسازگاری رویشی می شود (۲۰). به اعتقاد پوهالا در ابتدا جمعیت بالایی ازگروه های سازگار رویشی وجود داشته است ولی در طول زمان، بعضی از آنها بر حسب تصادف یا انتخاب طبیعی حذف شده اند و این سرعت نقصان بالا است (۲۶).

در این تحقیق الگوی خاصی بین پراکنش گروه های سازگار رویشی و مناطق جغرافیایی جدایه ها مشاهده نگردید. این یافته موافق نظر بعضی از محققین (۱۳و۲۴) و مخالف یافته برخی دیگر

www.SID.ir

Archive of SID

از پژوهشگران (۹) در مورد ارتباط بین گروه های سازگار رویشی و مناطق جغرافیایی می باشد.گروه های سازگار رویشی به دست آمده از واحدهای میرزا کوچک خان، امیر کبیر و هفت تپه، فقط در مناطق منشأ وجود داشتند و در مناطق دیگر مشاهده نگردیدند.

به طوری که به کمک این گروه ها می توان منطقه جغرافیایی یک جدایه را حدس زد. از طرف دیگر سایر مناطق علاوه بر گروه های سازگار رویشی مختص به خود، دارای گروه های سازگار رویشی مشترک با مناطق دیگر می باشند. و به عبارت دیگر سه گروه سازگار رویشی با نیمی از جدایه ها در مناطق مختلف (کشت و صنعت های سلمان فارسی، حکیم فارابی، دعبل خزایی، کارون، امام خمینی (ره) مشترک بودند و می توان ادعا کرد که این جدایه ها از لحاظ ژنتیکی شباهت زیادی با هم دارند. وجود چنین ارتباطی بین جدایه ها احتمالا نشانگر انتشار قلمه های آلوده به قارچ *F. proliferatum* بین مناطق در طول سالیان گذشته می باشد. مطالعه بیشتر جدایه های این گونه از نظر گروه های سازگار رویشی درتمام مناطق نیشکر کاری کشور می تواند اطلاعات کاملی از تنوع، ارتباطات و پراکندگی ژنتیکی جمعیت های این گونه ارائه داده که می توان از آنها در امر مدیریت بیماری استفاده نمود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر فراهم آوردن بخشی از امکانات مالی و اجرائی این طرح صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. بصیرنیا، ط.، بنی هاشمی، ض.۱۳۸۴. تعیین گروه های سازگار رویشی (VCG s) *Fusarium oxysporum f.sp.sesami* عامل زردی و پژمردگی کنجد در استان فارس. نشریه بیماریهای گیاهی، جلد ۴۱، شماره۲، صص ۲۴۳-۲۵۵.

۲. راه خدایی، ا. و فرخی نژاد، ر. ۱۳۸۵. تعیین گروه های سازگار رویشی در جمعیت های *Fusarium solani* و*Fusarium oxysporum* و بیماریزایی آنها روی سیب زمینی در استان های فارس و خوزستان. مجله علمی کشاورزی. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، جلد۲۹، شماره۲، صص ۴۳-۵۴.

۳. فرخی نژاد، ر. ۱۳۷۸. بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت های *Fusarium moniliforme* جدا شده از بذور دو رقم ذرت هیبرید با استفاده از گروه های سازگار رویشی. مجله علمی کشاورزی. انتشارات دانشگاه شهید چمران، اهواز، جلد ۲۲، شماره۱، صص ۶۷-۸۶.

۴. طاهرخانی، ک. ۱۳۷۴. بررسی بیماری های فوزاریومی نیشکر در استان خوزستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، ۱۶۳ص.

www.SID.ir

Archive of SID

۵. محمدی، ح.، بنی هاشمی، ض. ۱۳۸۵. بررسی گروه های سازگاری رویشی *F.solani f sp pisi* عامل پوسیدگی سیاه ریشه نخود در استان فارس. مجله بیماریهای گیاهی، جلد۴۲، شماره ۱، صص ۱۷۹-۱۹۴

۶. نورس مفرد، ن. ۱۳۸۴. تعیین تنوع ژنتیکی در جمعیت قارچ های عامل بوته میری زیره سبز در استان خراسان با استفاده از گروه های سازگار رویشی VCG و ارتباط آن با بیماریزایی. مجله بیماریهای گیاهی، جلد ۴۱، شماره ۳، صص ۴۳۷-۴۵۳.

7. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. CMI. Kew, survey, UK., 237 p.

8. Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., and Backhous D. 1994. Laboratory manual for fusarium research. Fusarium Reserch Laboratory, Department of Crop Scince, University of Sydny and Royal Botanic Gardens, 133p.

9. Clark, C.A., Hoy, M.W., and Nelson, P.E. 1995. Variation among isolates of *Fusarium lateritium* from sweet potato for pathogenicity and vegetative compatibility. Phytopathology, 85: 624-629.

10. Correll, J.C., Puhalla, J.E, and Schneider, R.W. 1986. Vegetative compatibility groups among nonpathogenic root-colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. Canadian Journal of Botany, 64: 2358-2361.

11. Correll, J.C., Klittich, C.J.R., and Leslie, J.F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. Phytopathology, 77: 1640-1646.

12. Correll, J.C. 1991. The relationship between formae specialis, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. Phytopathology, 81: 1061-1064.

13. Elmer, W.H., and Stephens C.T. 1989. Classification of *Fusarium oxysporum f.sp. asparagi* into vegetative compatible groups. Phytopathology, 79: 88-93.

14. Elmer, W.H. 1991. Vegetative compatibility group of *Fusarium proliferatum* from asparagus and comparisons of virulence, growth rates, and colonization of asparagus residues among groups. Phytopathology, 81: 852-857.

15. Elias, K.S., and Cotty, P.J. 1994. A rose bengal amended medium for selecting nitrate-metabolism mutants from fungi. Canadian Journal of Botany, 73: 680-682.

16. Hawthorne, B.T., and Rees-George, J. 1996. Use of nitrate non-utilizing mutants to study vegetative incompatibility in *Fusarium solani* (*Nectria haematococca*), especially members of mating population I, V, and VI. Mycological Reserch 100: 1075-1081.

17. Katan, T., and Primo, P. 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*.Phtoparasitica 27: 273-277.

18. Kistler, H.C. 1997. Genetic diversity in the plant pathogenic fungus, *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 87: 474-479.

www.SID.ir

Archive of SID

19. Klittich, C.J.R., and Leslie, J.F. 1988. Nitrate reduction mutants of Fusarium moniliforme (Gibberlla fujikuroi). Genetics 118: 417-423.

20. Leslie, J.F. 1993. Fungal vegetative compatibility. Annual Review of phytopathology, 31: 127-151.

21. McCallum, B.D., Tekauz., and Gilbert, j. 2003. Barrage zone formation between vegetatively incompatible *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) isolates Phytopathology, 94: 432- 437.

22. Mpofu, S.L., and Rashid, K.Y. 2004. Vegetative compatibility groups within *Fusarium oxysporum* f.sp. lini from *linum usitatissimum* (flax) wilt nurseries in western Canada. Canadian Journal of Botany, 79: 836-843.

23. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., and Marasas, W.F.O. 1983. Fusarium Species: AnIllustrated Manual for Identification.Pennsylvania State University Press, 193 p.

24. Pasquali, M. Marena, L. Gullino, M.L., and Garibaldi, A. 2004. Vegetative daisy (*Argyranthemum frutescens*). Phytopathology, 152: 257-259. compatibility grouping of the Fusarium wilt pathogen of paris

25. Puhalla, J.E. 1984. A visual indicator of heterokaryosis in *Fusarium oxysporum* from celery. Canadian Journal of Botany, 62: 540-542.

26. Puhalla, J.E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. Candian Journal of Botany, 63: 179-183.

27. Sidhu, G.S. 1986. Genetics of *Gibberella fujikuroi* VIII. Vegetative compatibility groups. Canadian Journal of Botany, 64: 117-121.

www.SID.ir