Archive of SID
بیماریهای گیاهی، جلد ٤١، ١٣٨٤

# تعیین گروه‌های سازگاری رویشی ( VCGs) *Fusarium oxysporum* عامل زردی و پژمردگی کنجد در استان فارس **f. sp. *sesami***

Vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* the causal agent of sesame yellows and wilt in Fars province

**طاهره بصیرنیا، ضیاءالدین بنی هاشمی***

بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

دریافت ١٣٨٣/٢/٣٠ پذیرش ١٣٨٤/١/٣١

**چکیده**

یکصد و بیست و هشت جدایه ( Fos) *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* عامل زردی و پژمردگی کنجد در بین سالهای ١٣٨٠ تا ١٣٨١ از بوته‌های کنجد اکثر مناطق کشت کنجد در استان فارس جداسازی شد. موتانت‌های نیت جدایه ها با استفاده از محیط حداقل ( minimal medium =MM) حاوی ٣ درصد کلرات پتاسیم بدست آمدند. موتانت‌های نیت براساس شکل پرگنه روی محیط پایه ( basal medium) حاوی یکی از منابع ازت شامل نیترات‌سدیم، نیتریت‌سدیم، هیپوزانتین، تارتارات آمونیوم و اسیداوریک گروه‌بندی شدند. موتانت‌های نیت بدست آمده در روی محیط MM به منظور تشکیل هتروکاریون با هم مقابله داده شدند. رشد متراکم میسلیومها در حد فاصل بین دو جدایه به عنوان سازگاری و تشکیل شد به ناسازگاری دو جدایه ارتباط داده شد. تمامی جدایه‌ها موتانت نیت تولید کردند که

* مسئول مکاتبه



www.SID.ir

Archive of SID

براساس توان استفاده از منابع ازت در سه کلاس فنوتیپی nit 1 (۷۷/۳ ٪) ، nit 3 (۱۲/۹ ٪) و nit M (۹/۸ ٪) قرار گرفتند. موتانت‌های نیت تولید شده براساس توانایی تشکیل هتروکاریون پایدار با یکدیگر در ۱۰ گروه سازگاری رویشی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده نشان دهنده ارتباط بین گروه‌های سازگاری رویشی و مناطق جغرافیایی می باشد. عدم انتقال بذور بین مناطق مختلف و استفاده زارعین از بذور سال قبل در همان منطقه می‌تواند دلیل محدوده جغرافیایی گروه‌های سازگاری رویشی باشد.

**واژه‌های کلیدی: گروه‌های سازگاری رویشی (وی،سی.جی)، فوزاریوم کنجد، فارس، زردی و پژمردگی**

## مقدمه

قارچ (Fos) *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* عامل بیماری زردی و پژمردگی کنجد یک بیمارگر گیاهی خاکزاد است که از نظر میزبانی بسیار اختصاصی عمل می‌کند و گونه گیاه دیگری بجز کنجد را موردحمله قرارنمی‌دهد (Castellani 1950). بیماری زردی و پژمردگی کنجد در ایران اولین بار در شهریور ماه ۱۳۵۹ در یکی از روستاهای استان بوشهر مشاهده گردید (*بنی‌هاشمی*، ۱۳۶۰). گیاهان بیمار، زرد و پژمرده شده، سپس خشک می‌شوند. در مواردی که بیماری شدید باشد کل گیاه خشک شده و برگهای خشک‌شده می ریزند. گاهی اوقات فقط یک طرف گیاه علائم را نشان می‌دهد. خطوط تغییر رنگ داده شده روی گیاه آلوده مشاهده می‌شود و تغییر رنگ آوندها نیز در برش ریشه و ساقه قابل رویت می‌باشد. اگرچه آزمایش‌های بیماریزایی یک ویژگی مهم و مفید برای تمایز فرم های تخصص یافته *F.oxysporum* محسوب می‌شوند ولی در این نوع آزمایش‌ها فقط از صفت بیماریزایی جدایه‌ها استفاده می‌شود که آن نیز تحت تاثیر عوامل متعددی از قبیل دما، سن میزبان، روش مایه‌زنی و دامنه میزبانی قرار می‌گیرد (Correll *et al.* 1987). بنابراین، نتیجه آن همیشه از ثبات و یکنواختی لازم برخوردار نیست و این امر تشخیص جدایه‌های مختلف قارچ را با مشکل مواجه می‌سازد. به دلیل اشکالات فوق در امر شناسایی جدایه‌های مختلف قارچ، محققان استفاده از نشانگرهای مختلف ژنتیکی و مولکولی را به عنوان شاخص‌هایی برای طبقه‌بندی جدایه‌های مختلف بسیار مفید دانسته‌اند (Kistler 1997). تعیین گروههای سازگاری رویشی



www.SID.ir

Archive of SID

(Vegetative Compatability Groups= VCGs)، روش مناسب دیگری برای شناسایی و تفکیک فرم‌های تخصص‌یافته *Fusarium oxysporum* می‌باشد. در این مطالعات قارچ‌ها بر اساس خصوصیات ژنتیکی و نه برهمکنش میزبان ـبیمارگر به زیرگروههایی تفکیک می‌شوند (Correll *et al.* 1987). بیمارگر از طریق قرار گرفتن در گروه خاصی از VCG تشخیص داده می‌شوند (Puhalla & Spieth 1985). جدایه‌هایی که در یک گروه بیماریزایی مثل نژاد یا فرم تخصیص‌یافته قرار می‌گیرند، در یک یا تعداد محدودی گروه سازگاری رویشی قرار می‌گیرند. استفاده از این شاخص‌ها در کارهای عملی کشاورزی بسیار حایز اهمیت است، به‌ویژه زمانی که سایر شاخص‌های بیولوژیکی مثل بیماریزایی (فرمهای تخصص‌یافته و نژادهای فیزیولوژیک) و یا ساختارهای ژنتیکی مثل گروههای سازگاری رویشی با هم مطابقت داده شود. در مطالعات انجام شده در *Fusarium oxysporum* برای تعیین VCG و تشکیل هتروکاریون، ازتقابل دادن موتانت‌های نیت که قادر به مصرف نیترات نیستند استفاده شده که این روش معیار مناسبی برای گروه‌بندی جدایه‌ها و بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشد (Gordon & Okomoto 1991, Katan *et al*. 1991, Kistler *et al*. 1987و Puhalla & Spieth 1985 ).با وجودی که از گزارش این قارچ از جهان و ایران سالهای زیادی گذشته است اطلاع قابل توجهی در مورد پراکندگی، نحوه پایداری و انتشار و تنوع ژنتیکی آن در دست نیست. هدف از این مطالعه، تعیین تنوع ژنتیکی در جمعیت قارچ‌های جداشده با استفاده از گروه های سازگاری رویشی است تا بتوان با توجه به نتایج به دست آمده راه حل مناسبی برای کنترل و مدیریت این بیماری ارائه داده شود.

## روش بررسی

### نمونه‌برداری

با توجه به مناطق عمده کشت و کار گیاه کنجد در استان فارس، از مناطق استهبان، نیریز، ارسنجان، فسا، داراب، کازرون، نورآباد، قیروکارزین، لار، و زرقان ضمن بررسی مزارع ازگیاهان آلوده نمونه‌برداری شد. جمع‌آوری نمونه در ماههای شهریور، مهر و آبان در دو سال زراعی ۸۰ و ۱۳۸۱ انجام پذیرفت. نمونه‌برداری از گیاهان مشکوک به بیماری فوزاریومی در



www.SID.ir

Archive of SID

مراحل قبل از گلدهی و پس از گلدهی و کپسول‌دهی صورت گرفت. علائم ظاهری بوته‌های آلوده، شامل حالت پژمردگی، زردی، ضعف عمومی، مرگ گیاهچه و نکروزه شدن یکطرف ساقه بود. بوته‌های آلوده به طور کامل از خاک خارج و درون کیسه‌های پلاستیکی و یخدان به آزمایشگاه منتقل شدند. ریشه انواع علفهای هرز موجود در مزارع کنجد از خاک خارج گردید، نمونه‌ها داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا قرار داده شدند و با ثبت مشخصات، درون یخدان به آزمایشگاه منتقل شدند.

**جدا و خالص‌سازی**

بوته‌های گیاهان مشکوک به آلودگی، زیر آب شسته شده و با دستمال کاغذی خشک گردیدند. سپس پوست ساقه‌ها به وسیله اسکالپل سترون برداشته شده و از بافتهای آوندی قطعات ۰/۲ تا ۰/٤ سانتی‌متری جدا و پس از ضدعفونی سطحی در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ (مایع تجارتی سفیدکننده ۱۰٪) به مدت ۱/۵ دقیقه، روی محیط کشت PDA اسیدی کشت و در ۲۵ °C نگهداری شدند. پس از مشاهده میسلیومهای قارچ در سطح بافتها، مقداری از میسلیومها برداشته و روی PDA اسیدی کشت گردید (Nelson *et.al.* 1983). ریشه‌ها پس از شستشو زیر شیر آب به قطعات کوچک تقسیم شده و در فلاسکهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شدند. فلاسکها سه مرتبه و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه روی دستگاه تکان دهنده با سرعت ۱٤۰ حرکت در دقیقه تکان داده و پس از هر بار تکان، آب آنها خارج و داخل آنها آب مقطر تازه ریخته شد (Banihashemi & deZeeuw 1969). پس از آخرین مرحله تکان دادن، آب فلاسکها خارج و نمونه‌ها با دقت با دستمال کاغذی تمیز خشک شدند. نمونه‌ها روی محیطهای PDA اسیددار و محیط اختصاصی Komoda (1975) کشت و در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند. برای خالص‌سازی جدایه‌های Fo از روش تک اسپور استفاده گردید. گونه Fo بر اساس مورفولوژی پرگنه و مشخصات اندامهای زایشی شامل فیالیدها، ماکروکنیدیومها، میکروکنیدیومها و کلامیدوسپورها شناسایی شد (Booth 1971, Nelson *et al.* 1983).



www.SID.ir

Archive of SID

**بررسی بیماریزایی**

پس از خالص‌سازی و شناسایی Fo کشت حاصل از آن به محیط کشت مایع حاوی عصاره سیب‌زمینی و دکستروز (عصاره ۳۰۰ گرم سیب‌زمینی پوست کنده و ۲۰ گرم دکستروز که حجم آن بوسیله آب مقطر به یک لیتر رسانده شده است) در فلاسکهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت مایع انتقال داده شد. فلاسکهای حاوی قارچ در دمای اتاق روی دستگاه تکان‌دهنده (Shaker) با ٦٠ حرکت رفت و برگشت در دقیقه قرار داده شدند.

پس از سه روز، اسپورهای قارچ به وسیله سانتریفوژ رومیزی (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) از محیط مغذی جدا شده و برای دو بار دیگر اسپورهای ته‌نشین شده با آب مقطر سترون به وسیله سانتریفوژ شسته شدند. ارقام انتخاب شده در خاک مخلوط با ماسه و خاک برگ ضدعفونی شده، در گلدانهای پلاستیکی کشت گردید.گلدان‌ها در محفظه رشد (١٦ ساعت نوربا دمای°C ۲۹ و ۸ ساعت تاریکی با دمای°C ۲۵ ) قرارداده‌شدند. بعد از دو هفته به هر گلدان ۲۰ سانتی‌متر مکعب سوسپانسیون اسپور (حاوی $10^6$ اسپور در میلی‌لیتر)، اضافه شد. تعدادی از گلدانها نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. ظهور علائم و پیشرفت بیماری به مدت شش هفته یادداشت‌برداری گردید. وجود قارچ در گیاهان مایه‌زنی شده با برداشت نمونه از قسمت‌های هوایی و کشت در محیط PDA به اثبات رسید (*بنی‌هاشمی*، ١٣٦٠).

**بررسی گروههای سازگاری رویشی (VCGs)**

موتانت‌های نیت به روش پوهالا (Puhalla & Spieth 1985) تولید شدند. برای این منظور از محیط کشت حداقل (minimal medium =MM) حاوی۳۰ گرم کلرات پتاسیم درلیتر استفاده شد. موتانت‌های نیت بر اساس رشد روی محیط‌های دارای یکی از ۵ منبع ازت نامبرده در زیر در کلاسهای فنوتیپی مجزایی قرار گرفتند: ۱) محیط نیترات، ۲) محیط نیتریت، ۳) محیط هیپوزانتین، ٤) محیط آمونیوم، و ۵) محیط اوریک اسید. موتانت‌ها بر اساس نوع رشد در یکی از سه کلاس فنوتیپی nit 1، nit 3 و nit M قرار داده شدند (Correll *et al*. 1987). برای تعیین گروه سازگاری رویشی (VCG)، به علت عدم وجود موتانت مرجع، و اینکه تعداد زیاد موتانت‌های نیت باعث افزایش بیش از حد تعداد مقابله‌ها می‌شد، تنها ۳۰ جدایه از مناطق



www.SID.ir

Archive of SID

مختلف انتخاب شدند و کلیه مقابله‌های احتمالی بین آنها انجام گرفت. بدین منظور یک بلوک میسلیومی از موتانت نیت ام (nit M) جدایه مورد نظر در وسط تشتک پتری حاوی MM قرار داده شد و تا ۵ بلوک میسلیومی از موتانتهای نیت (nit 3 یا nit 1) جدایه‌های دیگر که در این بررسی به دست آمده بودند، در اطراف آن قرار داده شدند. بدین ترتیب کلیه موتانت‌های حاصله از این ۳۰ جدایه مقابله داده شدند. تشکیل یا عدم تشکیل هتروکاریون و رشد فشرده میسلیوم‌ها در محل تلاقی مبنایی برای گروه‌بندی موتانتهای نیت این جدایه‌ها بود. پس از انجام این کار، یک موتانت نیت‌ام از هر گروه به عنوان سر گروه انتخاب شد. سایر موتانتهای نیت جدایه‌های باقیمانده با این موتانتهای نیت‌ام که به عنوان تستر عمل می‌کردند، مقابله داده شدند(Woudt *et al*. 1995).

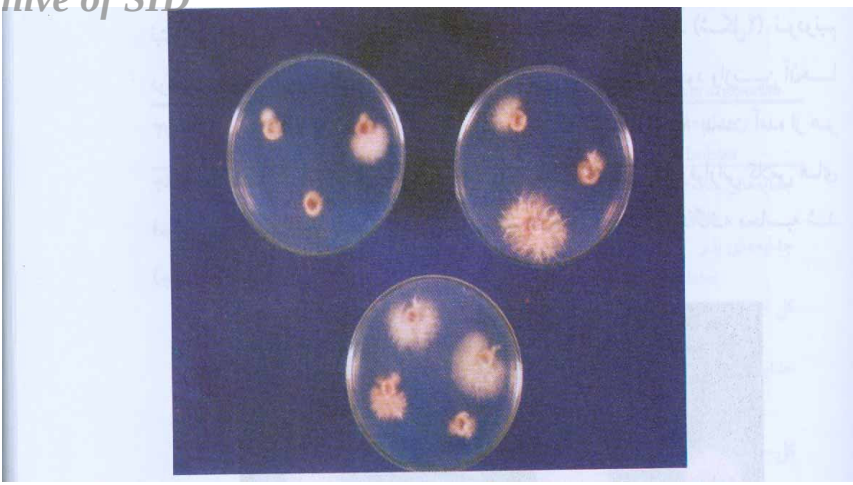
**نتیجه**

در بازرسی‌هایی که از مزارع کنجد مناطق مختلف استان فارس شامل ارسنجان، استهبان، داراب، زرقان، فسا، قیر، کازرون، نورآبادو نیریزانجام گرفت،در مجموع ۱۲۸جدایه Fos جمع‌آوری گردید. موتانتهای مقاوم به کلرات از تمام جدایه‌ها بدست آمد. جدایه‌های تیپ وحشی از لحاظ فراوانی سکتوردهی با یکدیگر متفاوت بودند. با وجود این در مورد اغلب جدایه‌ها سکتورهای مقاوم به کلرات از تمام بلوکهای اولیه کشت شده بدست آمد. رشد قارچ در بلوکهای کشت داده شده در محیط MMC محدودشده و سپس سکتورها از این بلوکها بیرون زده و رشد کردند. سکتورهای سریع‌الرشد به صورت نامتقارن همراه با رشد گسترده در اطراف بلوک اصلی تولید می‌شدند (شکل ۱). کشت این سکتورها روی محیط MM به تولید پرگنه‌ای نازک با رشد میسلیومی گسترده بدون ریسه هوایی وبا اسپورزایی اندک منجر شد. این قبیل سکتورها موتانت نیت (nit mutant) شناخته شدند. با وجود این تعدادی از سکتورها بر روی محیطMM پرگنه‌هایی با تیپ وحشی تولید کردند. از ۱۳۳ جدایه مورد بررسی ۱۷۸٦ سکتور حاصل شد که ۱٦۱۷سکتور موتانت نیت بودند متوسط تعدادسکتور در هر پرگنه در این بررسی ۱/۷ تعیین گردید (جدول ۱).



www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- سکتورهای تولیدشده از جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* در محیط حداقل حاوی ۳٪ کلرات پتاسیم.

Fig. 1. Sectors of *Fusarium oxysporum* f.sp.*sesame* generated on minimal medium containing 3% kclo3.

جدول ۱- تولید سکتور و موتانت‌های نیت جدایه *Fusarium oxysporum* از کنجد و علف‌های‌هرز مزارع کنجد

Table 1. Recovery of sectors and nit mutants of *Fusarium oxysporum* isolates from sesame and weeds in sesame fields

| جدایه‌ها<br>Isolates | مجموع سکتورها<br>Total sectors | مجموع موتانت‌های نیت<br>Total nit mutants | متوسط سکتور در هرپرگنه<br>Av. Sectors/colony |
|---|---|---|---|
| کل جدایه‌ها<br>Total isolates | ۱۷۸٦ | ۱٦۱۷ | ۱/۷ |
| جدایه‌های ساقه کنجد<br>Stem isolates | ۱۲۰٦ | ۱۰۸۸ | ۱/۷۲ |
| جدایه‌های بذر<br>Seed isolates | ۲٦۱ | ۲۳۸ | ۱/٦ |
| کل جدایه‌های بیماریزا<br>Total pathogenic isolates | ۱٤٦۷ | ۱۳۲٦ | ۱/۷ |
| جدایه‌های علف هرز*<br>Weed isolates | ۵۸ | ۵۲ | ۱/۳٤ |

* جدایه‌های *Fusarium oxysporum* غیربیماریزا روی کنجد

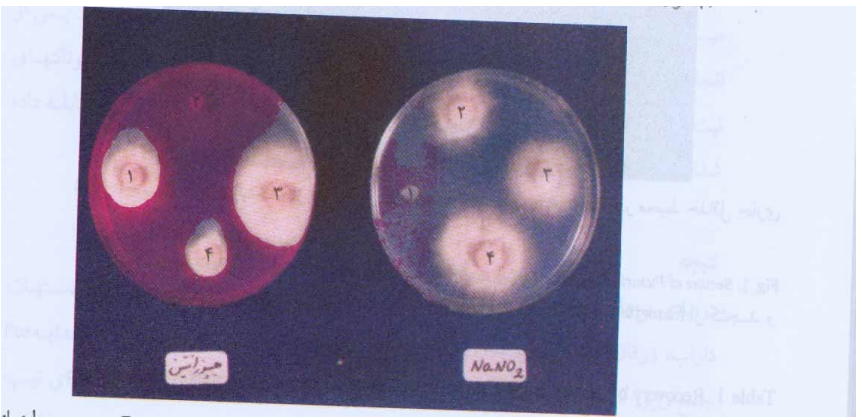
* Non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* on sesame



www.SID.ir

Archive of SID

فنوتیپ موتانتها بر اساس نوع رشد میسیلیوم روی محیطهای حاوی منابع مختلف نیتروژنی تعیین شد. سه فنوتیپ *nit* M، *nit* 3 و *nit* 1 تشخیص داده شدند (شکل۲). نودونیم درصد از کل سکتورهای بدست آمده موتانت نیت بود وازبین آنها ۷۷/۳ ٪ *nit* 1، ۹/۸ ٪ *nit* M و ۱۲/۹ ٪ *nit* 3 بودند. درصد موتانت *nit* M بدست آمده از هر جدایه بین صفر تا ۳۷/۵ متغیر بود (جدول ٤-۱).درصد موتانتهای نیت وفراوانی کلاس های فنوتیپی برای جدایه‌های بدست آمده از بذر و علف‌های‌هرز به طور جداگانه محاسبه شد (جدول ۲ ).




شکل۲- رشد کلاس‌های فنوتیپی موتانتهای نیت *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* روی محیط‌های شناسایی با منابع نیتروژنی مختلف.۳و٤ =nit1، ٤ =nit3 و۲ =nit M.

Fig. 2. Growth of nit mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami* generated on medium with different nitrogen source . nit 1 = 3,4 nit 3 = 4 nit m = 2.

موتانتهای نیت مکمل از جدایه‌های مختلف در مقابل هم قرارداده شدند و تلاقیهایی که به رشد پروتروفیک منجر گردید، جدایه‌هایی از یک گروه VCG شناخته شدند. معیار تایید سازگاری رویشی مشاهده یک واکنش مکمل‌سازی مثبت و قوی (+) در نظر گرفته شد (شکل ۳ ). در بین ۳۰ جدایه اولیه بررسی شده ۱۰ گروه VCG شناسایی شد. بر اساس توانایی تشکیل



www.SID.ir

Archive of SID

جـدول ۲- فراوانـی موتانـت‌هـای نیـت و کـلاس‌هـای فنـوتیپی در جدایـه‌هـای مختلـف *Fusarium oxysporum*

Table 2. Frequency of nit mutants and phenotype classes in isolates of *Fusarium oxysporum*

| جدایه‌ها Isolates | درصد موتانت نیت | Nit1 | Nit3 | nitM |
|---|---|---|---|---|
| جدایه‌های ساقه کنجد Total isolates | ۹۰/۲ | ۷۵/٦ | ۱٤/٦ | ۹/۸ |
| جدایه‌های بذر Stem isolates | ۹۱/۲ | ۸۱/۵ | ۷/۱ | ۱۱/٤ |
| کل جدایه‌های بیماریزا Seed isolates | ۹۰/٤ | ۷٦/۷ | ۱۳/۲ | ۱۰/۱ |
| جدایه‌های علف‌هرز* Total pathogenic isolates | ۸۹/٦ | ۹۲/۲ | ۵/۳ | ۲/۵ |
| کل جدایه‌ها Weed isolates * | ۹۰/۵ | ۷۷/۳ | ۱۲/۹ | ۹/۸ |

* جدایه‌های *F. oxysporum* غیربیماریزا روی کنجد

* Non pathogenic isolates of *F. oxysporum* on sesame

هتروکاریون‌های قوی با بسیاری از موتانتهای نیت،۱۱ موتانـت M *nit* بـه عنـوان جدایـه‌هـای نماینده (tester) ازهرگروه سازگاری رویشی انتخاب شدند و سپس کل جدایه‌ها با سرگروه هر کدام از گروههای تعیین شـده تقابـل داده شـدند و براسـاس آن کـل جدایـه‌هـا در ۱۰ گـروه قرارگرفتند. بجزدر دومنطقه سایر جدایه‌های متعلق به یک منطقه در یک گروه VCGقرارگرفتند و هتروکاریون تنها بین جدایه‌های متعلق به یک منطقه مشاهده شد. جدایه‌های بدسـت‌آمـده از بذر با جدایه‌های همان منطقه در یک گـروه VCGقرارگرفتنـد. موتانتهـای نیـت جدایـه‌هـای بدست آمده از علفهای هرز با هیچ یک از گروههای VCGهتروکاریون تشکیل ندادند.

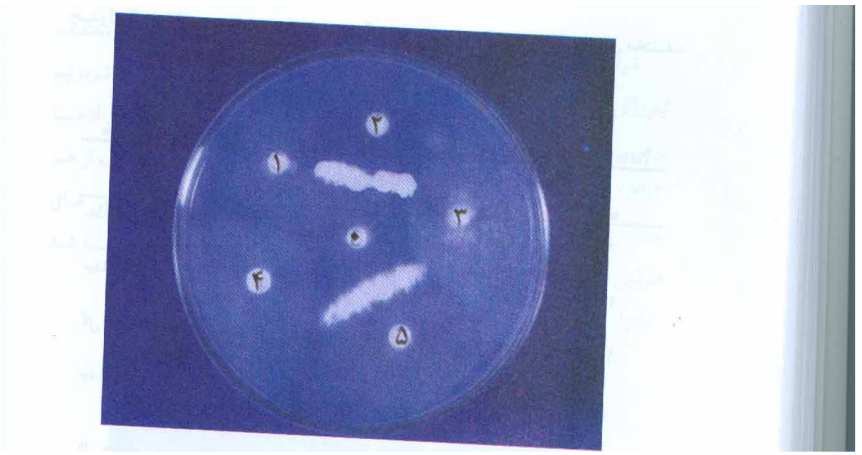
**بحث**

نمونه‌برداری‌ها در طول فصل رویش کنجد و فعالیت قارچ مورد نظـر در سـالهای زراعـی ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ تقریبا از اوایل مرداد تا اواخر مهر از مناطق استان فارس شامل استهبان، نی‌ریز،



www.SID.ir

Archive of SID




شکل ۳- تشکیل هتروکاریون بین موتانت‌های نیت متعلق به یک گروه VCG.

Fig 3. Heterokaryon formation between nit mutants of a VCG.

داراب، فسا، ارسنجان، نورآباد، کازرون، فیروزآباد، لار، گراش، قیر و کارزین، آباده طشک و زرقان انجام گرفت و در مجموع۱۲۸جدایه از شهرستانهای داراب، فسا، استهبان، نی‌ریز، ارسنجان، قیر، کازرون، زرقان و نورآباد جمع‌آوری گردید. به نظر می‌رسد مناسبترین زمان برای نمونه‌برداری، اوایل شهریور تا اواسط مهرماه در مرحله کپسول‌دهی و پس از آن می‌باشد که علائم پژمردگی و بافت‌مردگی یکطرفه ساقه به خوبی مشخص می‌شود. به تاخیر افتادن نمونه‌برداری و نزدیک بودن زمان نمونه‌برداری به زمان برداشت محصول باعث می‌شود که بعضی از گیاهان به علت زمان رسیدن محصول علائم پژمردگی و زردی نشان دهند. با توجه به درصد جدایه‌های قارچ بدست آمده معلوم می‌شود که عامل اصلی پژمردگی در مزارع کنجد مناطق ذکر شده *F. oxysporum* f.sp.*sesami* می‌باشد.

بیشتر قارچها می‌توانند از نیترات به عنوان منبع ازت با احیای آن به آمونیوم استفاده کنند و این کار از طریق آنزیمهای نیترات ردکتاز و نیتریت ردکتاز صورت می‌گیرد. کلرات به عنوان آنالوگ نیترات احیای کلرات به کلریت توسط این آنزیم عمل کرده و توسط آنزیم نیترات



www.SID.ir

Archive of SID

ردکتاز احیاء و سبب سمیت می‌شود (Correll *et al*. 1987). در این تحقیق تعدادی از سکتورهای بدست آمده روی محیط کلرات، بر روی محیط حداقل به صورت تیپ وحشی رشد کردند. *کارل* و همکاران (Correll *et al*. 1987) این سکتورها را بررسی کرده و آنها را تحت عنوان موتانتهای Crn نامگذاری کردند. این موتانتها که مقاوم به کلرات می‌باشند، قادر به استفاده از ازت هستند. از بین سکتورهای بدست آمده۱٦۱۷ سکتورموتانت نیت بودکه ۹۰/۵ درصدکل سکتورها را شامل می‌شد.جدایه‌های بذر بیشترین میزان موتانت نیت را داشتند (جدول۱و۲). عواملی از قبیل شرایط محیطی مثل دما، سطح تغذیه، فشار انتخاب، میزان مقاومت جدایه به مواد جهش‌زا و منبع اینوکولوم (کنیدیوم یا ریسه) راندمان تولید سکتور را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Correll *et al*. 1987, Klittich & Leslie 1988).

فنوتیپ موتانتهای نیت از نحوه رشد پرگنه بر روی محیطهایی که دارای یکی از چهار منبع متفاوت ازت هستند تعیین گردید. موتانتهای نیت را به سه کلاس فنوتیپی تقسیم می‌کنند. این گروهها بر اساس یک جهش در یک لوکوس ساختمانی آنزیم احیاکننده نیترات (*nit* 1 ، قادر به استفاده از نیترات نمی‌باشد)، یک لوکوس اختصاصی تنظیم‌کننده مسیر مصرف نیترات (*nit* 3 ، قادر به مصرف نیترات و نیتریت نمی‌باشد)، و جهش در پنج لوکوس مسؤول ساخت کوفاکتور دارای مولیبدون که برای فعالیت نیترات ردکتاز لازم است (*nit* M ، قادر به استفاده از نیترات و هیپوزانتین نیست)، حاصل می‌شوند (Correll *et al*. 1987). فراوانی موتانتهای نیت با یکدیگر متفاوت است. در این بررسی، موتانتهای *nit* 1 بیشترین فراوانی را داشتند و موتانتهای *nit* 3 و *nit* M از وفور کمتری برخوردار بودند.

از *nit* M به عنوان تستر در آزمونهای تشکیل هتروکاریون استفاده می‌شود و به همین دلیل لزوم شناسایی بیشتر برای هر VCG احساس می‌شود (Correll *et al*. 1987). بهترین محیط برای بدست آوردن *nit* M، MMC بود و می‌توان برای جدایه‌هایی که بر روی این محیط *nit* M تولید نمی‌کنند از سایر محیطهای حاوی کلرات استفاده کرد (Venter *et al*. 1992).

جدایه‌های بدست آمده از *F. oxysporum* f.sp. *sesami* در این بررسی، در ده گروه سازگاری رویشی قرار گرفتند. عواملی نظیر نحوه تولیدمثل قارچ، محل جمع‌آوری و تعداد نمونه‌های قارچی مورد استفاده، تعداد گروههای سازگار رویشی را در یک گونه تحت تاثیر



www.SID.ir

Archive of SID

قرار می‌دهد (Sidhu 1986). سازگاری رویشی یک شاخص عالی از یک ارتباط ژنتیکی است، اما ناسازگاری رویشی نشان‌دهندهٔ تفاوت ژنتیکی چندانی نمی‌باشد. تنوع گروههای سازگاری رویشی در *F. oxysporum* از قارچهای نظیر *Cryphonectria parasitica* و *N. crassa* که تولیدمثل جنسی دارند، کمتر است.

در این مطالعه، پس از تعیین فنوتیپ موتاتنهای نیت، از موتانتهای M *nit* به عنوان تستر در آزمونهای تشکیل هتروکاریون استفاده شد. ابتدا ۳۰ جدایه که از مناطق مختلف بودند، انتخاب شدند و آزمونهای مکمل‌سازی بین آنها انجام گرفت. ده گروه VCG در این جدایه‌ها تعیین شد. سپس از هر گروه یک M *nit* که بهترین واکنش را با سایر موتانتهای نیت داده بود، انتخاب گردید و سایر جدایه‌ها با آن‌هاتقابل داده شدند.در این بررسی، هیچیک از جدایه‌های آزمایش شده، خودناسازگار رویشی نبودند. هر چند این تعداد نمونه برای یک نتیجه‌گیری کلی کم است، با این حال می‌توان با بکارگیری تعداد بیشتر جدایه‌ها با اطمینان این نتیجه را تایید کرد. همچنین بین جدایه‌های بیماریزا و غیربیماریزای *F. oxysporum* هتروکاریون تشکیل نگردید. بین جدایه‌های غیربیماریزای بدست آمده نیز هتروکاریون تشکیل نشد. به نظر می‌رسد عدم وجود تعداد زیاد گروههای VCG در یک منطقه که در این تحقیق مشاهده شد به این علت باشد که زارعین معمولا بذرهای مورد نیاز برای کشت بعدی را از محصول سال قبل جمع‌آوری می‌کنند. با وجود تعداد اندک جدایه‌های غیربیماریزا میتوان این فرضیه را تایید کرد که بین گروههای سازگار رویشی و بیماریزایی ارتباط وجود دارد و با استفاده از این گروهها می‌توان جدایه‌های بیماریزا و غیربیماریزا را مجزا نمود.

وجود تعدادی VCG در یک منطقه نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی این گونه می‌باشد و نشان می‌دهد که بیشتر جدایه‌ها از یک منبع ژنتیکی اجدادی منشا گرفته و مونوفیلتیک هستند. این نتیجه با نتایج سایر محققین (Elias & Schneider 1991, Katan *et al*. 1991, Harveson & Rush 1997, Fiely *et al*. 1995) همسو می‌باشد. علت این امر می‌تواند عدم وجود تولیدمثل جنسی این قارچ باشد. از طرفی چون قارچ *F. o.* f.sp. *sesami* یک قارچ بذرزاد می‌باشد، میتوان این تنوع ژنتیکی را به عدم انتشار بذرهای آلوده در سطح استان فارس و شهرستانهای مختلف این استان نسبت داد. در بررسی‌های انجام شده در این تحقیق تمام جدایه‌های یک گروه VCG به جز



www.SID.ir

Archive of SID

چنـد مـورد اسـتثنا از بخشـهای مختلـف یـک شهرسـتان جمـع‌آوری شـده بودنـد. در مناطق داراب و فسا که گروه VCGمشترک وجود داشت احتمالا بـذور ردو بـدل مـی‌شـود. *کلارک* و همکاران (Clark *et al.* 1995) اظهارداشتند جدایه‌هـای کـه از بـذر در آفریقـا بدسـت آمدند، درای تنوع بیشتری در VCG نسبت به جدایه‌هایی هستند که در ایالت متحـده‌آمریکـا و از قسمتهای مختلف گیاه حاصل شده‌اند. در این بررسی انتقال عامل بیماری بوسیله بـذر ثابـت شد و وجود ده گـروه سـازگاری رویشـی کـه نشـان‌دهنـده تنـوع ژنتیکـی بـالا در ایـن فـرم اختصاصیست با این نتایج مطابقت دارد بنابراین باتوجه به نتایج این تحقیق می‌توان صرفنظر از برخی موارد استثنائی بر اساس گروههـای سـازگار رویشـی، منـاطق جغرافیـایی جدایـه‌هـا را مشخص نمود.

## منابع

جهت ملاحظه به صفحات (95-93) متن انگلیسی مراجعه شود.

---

نشـانی نگارنـدگان: طـاهره بصـیرنیا، ضـیاءالدین بنـی‌هاشـمی بخـش گیاهپزشـکی دانشـکده کشاورزی، دانشگاه شیراز



www.SID.ir