Archive of SID

بیماریهای گیاهی، جلد ۴۲، ۱۳۸۵

تنوع ژنتیکی و تخصص میزبانی *Verticillium dahliae* در ایران*

Genetic diversity and host specificity of *Verticillium dahliae* in Iran

مریم روزبه و ضیاءالدین بنی‌هاشمی**

بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

دریافت ۱۳۸٤/۳/۱۱ پذیرش ۱۳۸۵/۵/۲۵

چکیده

Verticillim dahliae بیمارگر مهم اقتصادی مولد پژمردگی آوندی است که بیش از ۱۶۰ گونه گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اغلب جدایه‌های این قارچ دامنه میزبانی وسیع دارند. چهل و پنج جدایه *V. dahliae* از میزبان‌های متفاوت و مناطق مختلف ایران از میان گیاهان چوبی و زراعی مختلف بدست آمدند. تنوع ژنتیکی این جدایه‌ها براساس تعیین گروه‌های سازگاری رویشی انجام شد. سازگاری رویشی این جدایه‌ها با تلاقی موتانت‌های نیت مکمل در کلیه تر کیبات ممکن مشخص گردید. سه گروه محلی سازگاری رویشی شناسایی و به صورت VCGB,VCGA و VCGC نشان داده شدند. همچنین گروه‌های سازگاری رویشی جدایه‌ها با استفاده از جدایه‌های

* قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارایه شده به دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبه

www.SID.ir

Archive of SID

مرجع بین‌المللی (OARDC) نیز تعیین گردید و دو گروه سازگاری رویشی در میان جدایه‌های مورد بررسی شامل VCG2B و VCG2A تعیین شد. ۸۸٪ جدایه‌ها در VCG2B قرارگرفتند. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی *V. dahliae* بسیار کم بوده و گروه‌های سازگاری رویشی با محدوده جغرافیایی ارتباط ندارند. تخصص میزبانی این قارچ نیز مورد بررسی قرار گرفت. آزمون‌های بیماری‌زایی در مورد ۱۱گونه گیاه میزبان مختلف با ۱۸ جدایه قارچ انجام شد. گیاهان مختلف به جدایه‌های قارچ واکنش‌های متفاوت نشان دادند و از نظر حساسیت به قارچ به سه دسته تقسیم شدند: گیاهان با حساسیت زیاد (بادنجان، پنبه، پسته و بامیه)، گیاهان با حساسیت متوسط (آفتابگردان، ترب و کلزا)، گیاهان با حساسیت کم (گوجه‌فرنگی، فلفل، تربچه و کلم). جدایه‌های مختلف هم روی هر گیاه از نظر شدت بیماریزایی اختلاف معنی‌دار نشان دادند. گیاه نعناع که با ۵ جدایه مایه‌زنی شده بود حساسیت کمتری نسبت به سایر میزبان‌های مورد آزمایش نشان داد.

واژه‌های کلیدی: گروه‌های سازگاری رویشی، پژمردگی ورتیسیلیومی، بیماریزایی، میزبان اختصاصی

مقدمه

جنس *Verticillium* شامل گونه‌های زیادی می‌باشد که از این میان گونه‌هایی که مولد پژمردگی آوندی هستند از اهمیت زیادی برخوردارند (Isaac 1967). *V. dahliae* Kleb. بیش از ۱۶۰ میزبان گیاهی دارد (Korolev *et al*. 2000) . از جمله مهمترین میزبان‌های این قارچ پنبه، گوجه‌فرنگی، هندوانه، پسته، زیتون و تعدادی از گیاهان زینتی می‌باشند. علاوه بر این‌ها این قارچ دامنه وسیعی از علف‌های‌هرز را نیز آلوده می‌سازد (Elena & Paplomatas 1998). اگر چه تعدادی از سویه‌های *V. dahliae* درجه بالایی از تخصص میزبانی را نشان می‌دهند بیشتر سویه‌ها دامنه میزبانی وسیع دارند (Joaqium & Rowe 1990). تنوع قابل توجهی از نظر مورفولوژی و بیماریزایی در این قارچ وجود دارد. معمولا بیماریزایی جدایه‌های *V. dahliae* غیراختصاصی است و تخصص میزبانی قابل توجهی در آن‌ها دیده نمی‌شود و لذا تمایز میان سویه‌های مختلف بر پایه formae speciales عملی نیست. مطالعات اخیر بر پایه تجزیه و تحلیل سازگاری رویشی (vegetative compatibility) و

www.SID.ir

Archive of SID

چندین روش مولکولی منجر به درک بهتر تنوع ژنتیکی درگونه‌های جنس *Verticillium* شده است. سازگاری رویشی یک خصوصیت پایدار در میان جدایه‌ها می‌باشد. گروه‌های سازگاری رویشی (vegetative compatibility groups = VCGs) به نظر نمی‌رسد که با بیماری‌زایی در گونه‌های میزبان خاص در ارتباط باشند (Rowe 1995). سازگاری رویشی با دارا بودن تنوع ژنتیکی، توانایی هر یک از جدایه‌های قارچی را در انجام آناستوموز ریسه‌ای متقابل و تبادل هسته با دیگری در جهت تشکیل هتروکاریون پایدار در حالت موتانت نشان می‌دهد. وقتی هتروکاریون تولید شد، جدایه‌های شرکت کننده در تولید آن در یک گروه سازگاری رویشی قرار خواهند گرفت (Joaqium & Rowe 1990, Strausbaugh *et al*. 1990). این جدایه‌ها از لحاظ ژنتیکی به هم شبیه بوده و به احتمال زیاد از یک منبع اجدادی منشأ گرفته‌اند (Akimov & Portenko 1990). از آن جا که *V. dahliae* یک قارچ ناقص می‌باشد و فاقد فرم جنسی است هتروکاریوزیس و سیکل پراجنسی تنها وسیله تبادل ژن در این قارچ می‌باشند و به همین جهت بررسی گروه‌های سازگاری رویشی ممکن است به عنوان ابزاری مفید برای تمایز سویه‌های *V. dahliae* به کار رود (Puhalla 1979).

روش بررسی

منابع جدایه‌های *Verticillium dahliae*

چهل و پنج جدایه *V. dahliae* جدا شده از درختان میوه و گیاهان زراعی جهت این بررسی از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری شدند و پس از خالص‌سازی با روش نوک ریسه و تک اسپوری مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

بررسی گروه های سازگاری رویشی

تولید موتانت‌های نیت با روش *یوهالا* (Puhalla 1985) در سال ۱۹۸۵ برای *Fusarium oxysporum* با استفاده از پیشنهادات *چوآخیم و رو* (Joaqium and Rowe 1990) در خصوص ورتیسیلیوم انجام شد. در این بررسی اساس نتایج *کورولو و کاتان* (Korolev and Katan 1997) محیط کشت آب- آگار ۲٪ حاوی کلرات (WAC) با ۰۲ /۰ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

گلوکز موتانت‌های نیت بیشتری تولید می‌کند لذا از این محیط در این تحقیق استفاده شد که در هر لیتر ۵۰ تا ۷۰ گرم کلرات پتاسیم (KClO3) مورد استفاده قرار گرفت. قرص‌های میسلیومی قارچ خالص شده از هر جدایه به محیط PDA انتقال داده شد. بعد از ۱۴ روز بلوک‌های ۵ میلی‌متری از حاشیه پرگنه‌ها برداشته و در ۵ تا ۶ نقطه مجزا در سطح محیط کشت WAC قرارداده شدند و در دمای ۲۵°C نگهداری شدند. سکتورهای مقاوم به کلرات ۱۰ تا ۱۴ روز بعد ظاهر شدند و به ظروف پتری حاوی محیط حداقل (minimal medium = MM) منتقل شدند. سکتورهایی که روی MM به صورت پرگنه‌های گسترده و ظریف رشد کردند موتانت‌های نیت بودند که این نحوه رشد حاکی از ناتوانی آن‌ها در مصرف نیترات (تنها منبع ازت محیط MM) می‌باشد (Correll *et al*. 1988, Strausbugh *et al*. 1992).

جدول ۱- جدایه های جمع آوری شده *Verticillium dahliae* از میزبان ها و مناطق مختلف

Table 1. Characteristics of *Verticillium dahliae* isolates collected from different hosts and regions

جدایه‌ها Isolates	میزبان Host[a]	محل جمع‌آوری Locality [b]	تعداد سکتور در هر پرگنه[c] Sectors /Colony	درصد موتانت‌های نیت % *nit* mutants	کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت [e] Phenotypic *nit* mutant classes	
					%nit 1	% *nit* M
V-147-7	خیارC	ورامینV	1.8	77.7	85.7	14.3
V-44	خیارC	ورامینV	2.1	85.7	88.9	11.1
V-52	خیارC	ورامینV	1.6	27.5	66.6	33.3
V-28	خیارC	ورامینV	1.1	90.1	80	20
V-17	خیارC	ورامینV	1.6	43.7	85.7	14.3
Ptv	سیب‌زمینیPo	ورامینV	2.2	95.4	81	19
Ptg	سیب‌زمینیPo	گرگانG	2.9	86.2	100	--
O_1	زیتونO	اکبرآباد کوار A	3	83.3	88.9	11.1
O_2	زیتونO	شیراز Shi	2.6	50	84.6	15.4
O_3	زیتونO	گرگانG	1	70	100	--

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- (ادامه)

Table 1. (continued)

O_4	زیتونO	رودبار Ro	2	85	94.1	5.9
O_5	زیتونO	گرگانG	1.7	82.4	100	--
V_1	زیتونO	اکبرآباد کوارA	1.7	64.7	100	--
V_3	زیتونO	کازرون Ka	2	60	66.7	
V_4	زیتونO	سروستان S	2.8	71.4	85	15
V_5	پنبهCo	خیر استهبانKh	2.3	30.4	85.7	14.3
V_6	زیتونO	کازرونK	1.5	80	83.3	16.7
V_7	زیتونO	اکبرآباد کوارA	2.2	50		18.2
V_8	پنبهCo	خیر استهبانKh	1.8	66.6	75	25
V_9	زیتونO	داریونD	2.5	91.3	95.2	4.8
V-d2	زیتونO	داریونD	1.4	78.6	90.9	9.1
P700	پستهPi	رفسنجان Ra	1.1	72.7	100	--
Apr	سیبAp	رفسنجان Ra	2.7	51.9	92.9	7.1
Ptr	سیب‌زمینیPo	رفسنجان Ra	2.2	72.7	87.5	12.5
P4	پسته Pi	شاهرود Sha	2.8	25	85.7	14.3
66-2	گوجه‌فرنگیT	شاهرودSha	2.2	54.5	100	--
Z-20	زردآلوApr	شاهرود Sha	2	80	93.8	6.2
B-16	بادام Al	شاهرود Sha	1.5	60	100	--
ALS_1	بادامAl	شهرکرد Shk	2.5	64	68.8	31.2
ALS_2	بادام Al	شهرکرد Shk	2.2	90.9	90	10
ALS_3	بادامAl	شهرکرد Shk	2.8	71.4	80	20
Ege	بادمجان	استهبان	1.4	57.1	100	--
V_{12-1}	پنبهCo	کرج	2.8	82.1	91.3	8.7
Cg_1	پنبهCo	گرگانG	1.7	53	100	--
Cg_2	پنبهCo	گرگانG	1.8	50	100	--
Cg_3	پنبهCo	گرگانG	2.9	51.7	86.7	0.313

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- (ادامه) Table 1. (continued)

Cg_4	پنبهCo	گرگانG	2.6	46.1	100	--
Cd_1	پنبهCo	درگز	2.5	96	95.9	4.1
Cd_2	پنبهCo	درگز	1.5	73.3	100	--
Cd_3	پنبهCo	درگز	2	100	100	--
Cp_1	پنبه Co	بجنورد (پیش قلعه)	1.4	92.8	84.6	0.4 15
Cp_2	پنبهCo	بجنورد (پیش قلعه)	1.9	89.5	94.1	5.9
Ct_1	پنبهCo	تربت حیدریه	3	90	96.3	2.7
Ct_2	پنبهCo	تربت حیدریه	2.5	52	100	--
CS	پنبهCo	گرگان (خاک)G	3.2	40.6	84.6	0.415

[a]Al = almond , Ap. = Apple, Apr = apricot, C= Cucumber, Co = Cotton, O = Olive, Po = Potato, Pi = Pistachio, T = Tomato

[b]A= Akbarabad Kavar, D= Darion, G= Gorgan, Ka= Kazeroon, Kh= Khafr, Ra = Rafsanjan, Ro= Roodbar, Sha= Shahrood, Shi= Shiraz, Skk= Share-e-Kord, S = Sarvestan

c: فراوانی سکتورهای مقاوم به کلرات در هر پرگنه (حاصل تقسیم تعداد کل سکتورها بر تعداد بلوک ها)

c = Frequency of chlorate resistant sectors per colony (total number sector/no of colonies)

d : درصد سکتورهای مقاوم به کلرات که روی محیط MM به صورت نازک و گسترده رشد کردند.

d = % resistant sectors to Khalorate on MM

e : کلاس فنوتیپی موتانت های نیت بر اساس نحوه رشد روی محیط هایی با منابع نیتروژنی متفاوت.

e = Phenotypic nit mutant classes on MM pluse different nitrogen sources

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- شدت بیماریزایی جدایه های *Verticillium dahliae* روی برخی از گیاهان با آلودگی مصنوعی

Table 2. Disease severity of *Verticillium dahliae* isolates on some artificially inoculated plants[1]

کلم محلی Cabbage	ترب سفید Horseradish	کلزا Rape	ترنجه Radish	گوجه فرنگی Tomato	فلفل Pepper	بادنجان Egg plant	بامیه Okra	آفتابگردان Sunflower	پنبه Cotton	پسته Pistachio	منبع قارچ Source of isolate[2]	کد جدایه Isolate Code
2.2abcdef	3abcd	4a	2.3abcdef	1def	0.7ef	2.6abcde	0.7ef	3.7ab	1.3cdef	3.3abc	زرد آلو (A)	Z-20
2.7abcde	1.3cdef	4a	1.3cdef	1.3cdef	3.3abc	3abcd	2.9abcd	4a	2.2abcdef	3.3abc	پسته (C)	Cs
2abcdef	2.7abcde	4a	2abcdef	3.7ab	4a	3.3abc	4a	0.7ef	4a	4a	پسته (C)	T-9
2.2abcdef	2.7abcde	1.9abcdef	2.9abcd	3.3abc	1.8bcdef	1def	3.6ab	2.3abcdef	3.2abc	4a	پسته(C)	C11
1def	2abcdef	1.5bcdef	0.7ef	4a	4a	2.3abcdef	3abc	1.5bcdef	1def	0.6ef	پسته(C)	Cp1
2abcdef	4a	1.9abcde	1.7bcdef	3.7ab	2abcdef	3.3abc	4a	2abcdef	3.2abc	0.3f	پسته (C)	V12-1
2.7abcde	2abcdef	1.9abcde	4a	2abcdef	3.5ab	3.3abc	1def	4a	0.4f	1.4cdef	زیتون(O)	O4
4a	1.5bcdef	1.5bcdef	2.9abcd	2abcdef	1.5cdef	2abcdef	3.3abc	0.3f	3.2abc	4a	زیتون(O)	O5
1.5abcdef	2abcdef	1.3cdef	3.5ab	3abcd	0.3f	2.6abcde	2.9abcd	2abcdef	4a	1def	ـــــــــــ زمینی(P)	Ptv
2abcdef	3.2abc	3.3abc	1.3cdef	3abcd	0.3f	3.3abc	2.4abcdef	3abc	0.7ef	3.8ab	ـــــــــــ زمینی (P)	Ptr
3.4abc	3.2abc	1.9abcde	3.5ab	2abcdef	3.3abc	2abcdef	1.7bcdef	1.3cdef	2.8abcdef	2abcdef	پسته (Pi)	P700
3.7ab	2abcdef	0.8def	2.9bcd	3.7ab	2abcdef	3.9a	3.3abc	2.3abcdef	3.2abc	1.5bcdef	پسته(Pi)	P4
4a	2.7abcde	4a	1.3cdef	3.7ab	2.9abcde	2.5abcde	1.7bcdef	0.7ef	1def	3.3abc	بادام (Al)	B-16
2abcdef	2.2abcdef	1.9abcde	1.3cdef	1.3cdef	2.5abcd	1.4bcdef	2.6abcde	3abc	3.7ab	2abcdef	بادام (Al)	Als2
2abcdef	2abcdef	4a	2.9abcd	3.7ab	3.8ab	3.3abc	3.6ab	2abcdef	0.4f	2.2abcde	سیب(Ap)	Apr
3.7ab	1.3abcdef	3abcd	3.5ab	4a	3.3abc	3.8ab	1.7bcdef	3.7ab	2.8abcde	0.6cf	گوجه فرنگی (T)	66-2
1.3cdef	2.9abcde	1.3cdef	2.5abcde	2.2abcdef	3.8ab	3.3abc	1.2cdef	3.7ab	1def	3abcd	خیار (Cu)	V142-7
2.7abcde	3.2abc	3.5ab	0.7ef	1.3cdef	3abcd	3.9a	3.8ab	4a	2abcdef	3.8ab	بادنجان(Eg)	Egs

شدت بیماریزایی

Disease severity

۱. شدت بیماریزایی براساس مقیاس ۰-۴ (۰ تا ۱۰۰٪ مرگ و میر)

1. Diseases severity on 0-4 scale (0-100% mortality)
2. A = apricot, Al = almond, AP = apple, C = Cotton, Cu = Cucumber, O = Olive, P= Potato, Pi = Pistachio, T = Tomato, E= Eggplant

۲. اعداد درون ستون و ردیف که با حروف مشترک هستند در سطح ۵٪ اختلاف آماری ندارند.

Numbers within rows and columns followed by the same letters are not significantly different at P = 0.05.

www.SID.ir

Archive of SID

در این تحقیق جهت تعیین گروه‌های سازگاری رویشی از روش ارزیابی مستقیم تشکیل هتروکاریون پایدار از طریق باند پروتوتروف در بین موتانت‌های نیت با فنوتیپ متفاوت استفاده شد. موتانت‌های نیت حاصل از جدایه‌های میزبان‌های مختلف پس از تعیین کلاس فنوتیپی به روش تلاقی موتانت‌های نیت مکمل مورد بررسی قرار گرفتند. *nit*M از هر جدایه در وسط تشتک پتری حاوی MM و پنج موتانت *nit*1 از همان جدایه در اطراف آن قرار داده شدند. ظروف در دمای ۲۵°C در تاریکی به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند. تشکیل هتروکاریون بین *nit*1 و *nit*M هر جدایه نشان دهنده خودسازگاری در آن جدایه بود. پس از اینکه موتانت‌های نیت منتخب جدایه‌ها برگزیده شدند مکمل‌سازی بین *nit*1 و *nit*M برای کلیه جدایه‌ها انجام شد. در صورتیکه تلاقی بین موتانت‌های نماینده دو جدایه به رشد پروتوتروفیک قوی منجر می‌گردید دو جدایه والدی در یک گروه سازگاری رویشی (VCG) قرارمی گرفتند. در این بررسی برای تعیین گروه‌های سازگاری رویشی جدایه‌ها، از جدایه‌های مرجع متعلق به چهار گروه سازگاری رویشی بین‌المللی توصیف شده توسط *رو* و *جواکیم* (Rowe & Joaqium 1990) استفاده گردید. به این ترتیب که موتانت‌های نیت *nit*1 و *nit*M این جدایه‌ها با نیت‌های مکمل جدایه‌های این بررسی تلاقی داده شدند.

آزمون‌های بیماریزایی

در این تحقیق شدت بیماریزایی ۱۸ جدایه *Verticillium dahliae* از میزبانهای مختلف و بعضی جدایه‌ها با گروههای سازگاری رویشی متفاوت روی ۱۲ میزبان گیاهی آزمایش شد. این گیاهان عبارت بودند از: پسته(رقم سرخس)، پنبه (رقمAcala SJ-2) ، گوجه فرنگی (رقمUrbana)، بادنجان (رقم Black Beauty)، کلزا (رقمRecord)، فلفل، آفتابگردان، بامیه، کلم، ترب، تربچه و نعناع (ارقام محلی). بذور گیاهان نام برده پس از ضدعفونی سطحی در ورمی کولایت سترون کاشته شد و در اتاقکهای رشد در دمایC ۲۵° قرار داده شدند. پس از اینکه گیاهچه‌ها به مرحله دو برگی رسیدند مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های عاری از بیماری نعناع به روش تکثیر قلمه زدن تهیه شده و پس از آن مایه‌زنی شدند. مایه‌زنی به روش فروبردن ریشه در مایه بیمارگر انجام شد. غلظت مایه بیمارگر

www.SID.ir

Archive of SID

جهت مایه‌زنی گیاهچه‌ها $۱۰^{۶} \times ۱$ اسپور در هر میلی‌لیترتعیین شد. سپس گیاهچه‌های مختلف از بستر کاشت بیرون آورده شده و ریشه‌های آنها با آب مقطر شسته و در مایه بیمارگر به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. تعدادی گیاهچه شاهد برای هر نوع میزبان جداگانه در نظر گرفته شد و ریشه‌های آنها در آب مقطر فرو برده شد. گیاهچه‌ها در گلخانه و در دمای ۲۷-۲۴ ºC قرار گرفتند. گیاهان مختلف پس از مایه‌زنی به مدت دو ماه بررسی شدند و با مشاهده هر نوع علایم از گلخانه به آزمایشگاه منتقل شده و کشت داده شدند. برای این منظور از قسمت ساقه و آوندهای گیاهان آلوده مقاطعی تهیه شد و به مدت ۵-۳ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی شده و بعد روی محیط کشت PDA کشت داده شدند. در مدت دو ماه تعداد گیاهان آلوده در هر گلدان یادداشت برداری شد. برای تعیین شدت بیماریزایی در بین جدایه‌های *V. dahliae* اقدام به اجرای یک آزمایش فاکتوریل در طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار (هر تکرار ۴ گیاه) و دو فاکتور اصلی گردید. فاکتور A، ۱۷ جدایه از میزبان‌های متفاوت و جدایه T-9 از آمریکا بود. فاکتور B، ۱۱گیاه مختلف به استثنای نعناع. شدت بیماریزائی براساس تعداد گیاهان مرده در هر تیمار تعیین گردید و از صفر تا ۴ (۰ تا ٪۱۰۰ آلودگی) (درصد و شدت آلودگی : ٪۲۵ = ۱، ٪۵۰ = ۲، ٪۷۵=۳ و ٪۱۰۰ = ۴ و اعشار هریک تبدیل شد)

نتیجه

سکتورهای مقاوم به کلرات از تمام جدایه‌ها به دست آمد ولی سکتوردهی در آنها متفاوت بود. از ۴۵ جدایه مورد بررسی ۱۰۱۵ سکتور حاصل شد که ۶۴۶ سکتور موتانت نیت بودند. در این بررسی فنوتیپ *nit1* و *nitM* تشخیص داده شد و *nit3* مشاهده نشد (جدول ۱). برخی از جدایه‌ها، *nitM* تولید نکردند. نود و سه درصد موتانت‌ها *nit1* و ۷ درصد *nitM* بودند. با تلاقی موتانت‌های نیت مکمل سه گروه سازگاری رویشی محلی حاصل شد که عبارتند از VCGA (۲۲ جدایه)، VCGB (۲ جدایه) و VCGC (۱جدایه) که از زردآلو جدا شده بود.

براساس تلاقی بین موتانت‌های نیت جدایه‌های منتخب گروه‌های محلی و موتانت‌های نیت مرجع ۴۰ جدایه از ۴۵ جدایه در VCG2B و ۵ جدایه در VCG2A قرار گرفتند. جدایه‌های قرار

www.SID.ir

Archive of SID

گرفته در VCG2B از خیار، زیتون، سیب زمینی، پنبه، پسته، بادام و بادنجان جداسازی شده بودند و جدایه‌های VCG2A از گوجه فرنگی، زیتون و سیب به دست آمده بودند.

در آزمونهای بیماریزایی زمان شروع اولین علایم زردی و پژمردگی در گیاهان مختلف متفاوت بود. اولین علایم در بامیه ۱۱ روز پس از مایه زنی، در آفتابگردان، فلفل و بادنجان پس از سه هفته ، در پسته، پنبه، گوجه فرنگی و گیاهان تیره Brassicaceae (ترب، تربچه، کلم و کلزا) پس از یک ماه و در نعناع پس از ۴۵ روز ظاهر شد. از گیاهان آلوده پس از کشت روی PDA، *V. dahliae* جداسازی شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس تعداد بوته های مرده در اثر آلودگی به *V. dahliae* در مورد ۱۱ گونه گیاهی به استثناء نعناع نشان داد که در بین گیاهان مختلف و جدایه های قارچ و واکنش بین آنها اختلاف معنی داری دیده می شود. در مقایسه میانگین داده های حاصل بر اساس آزمون دانکن (P= 0.05) بین جدایه های قارچ بر روی گیاهان مختلف اختلاف معنی داری دیده شد (جدول۲). تجزیه واریانس در مورد گیاه نعناع انجام نشد زیرا گیاهان نعناع فقط با ۵ جدایه از ۱۸ جدایه مورد آزمایش مایه زنی شدند. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمون رقم به کار رفته نعناع در این بررسی نسبت به سایر گیاهان حساسیت کمتری به جدایه های مورد آزمایش نشان داده است.

بحث

در این بررسی فراوانی سکتوردهی در جدایه‌های مختلف، متفاوت بود. فراوانی سکتوردهی در *Fusarium moniliforme* تحت کنترل ژنتیک هسته‌ای است همچنین در برخی موارد به وجود عناصر ترانهش (transposable elements) وابسته است. عواملی از قبیل شرایط محیطی مثل دما، سطح تغذیه، فشار انتخاب، میزان مقاومت جدایه به مواد جهش زا و منبع اینوکولوم راندمان تولید سکتور را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Klittich *et al*. 1988).

کاو (Cove 1976) نشان داد که منبع نیتروژن مورد استفاده در محیط کلرات دار می‌تواند فراوانی فنوتیپ موتانت‌های نیت تولید شده در *Aspergillus nidulans* را تحت تاثیر قرار دهد. تنوع محدود گروه‌های سازگاری رویشی بین جدایه‌های ورتیسیلیوم را می‌توان به عدم وجود چرخه جنسی در

www.SID.ir

Archive of SID

این قارچ نسبت داد (Leslie 1993). تنوع کم گروه‌های سازگاری رویشی ممکن است به علت فقدان رقابت بین آنها باشد که لازمه گسترش و بقای یک جمعیت قارچی در طبیعت است (Elmer 1991). در این مطالعه گسترش VCG2B در نقاط مختلف کشور مشاهده شد و به طور کلی تنوع VCG در ایران به صورت محدود تعیین گردید. در بررسیهای محققین دیگر VCG2 از چین، آسیای مرکزی، غرب آسیا و سوریه گزارش شده است (Daayf *et al*. 1995, Portenko & Akimov 1977). احتمالا VCG2 بومی آسیا می‌باشد (Korolev *et al*. 2000) . بر خلاف نتایج برخی محققین از جمله *دایف* (Daayf *et al*. 1995) و *کورولو* و همکاران (Korolev *et al*. 2000) مبدا منطقه جغرافیایی یا موقعیت تاکسونومیکی میزبان که جدایه‌ها از آن به دست آمده بودند با گروههای VCG شناسایی شده ارتباط نداشت.

تعیین ویژگیهای بیماریزایی وژنتیکی جمعیتهای غالب *V. dahliae* اهمیت بسیاری در مدیریت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی دارد (Douhan & Johnson 2001). نتایج حاصل از آزمون بیماریزایی نشان داد که جدایه‌های VCG2 روی پنبه غیر برگریز بودند و فقط جدایه T-9 که به VCG1 تعلق دارد روی پنبه برگریزی ایجاد کرد که این نتایج با یافته‌های محققین دیگر تطبیق می‌کند (Strausbaugh *et al*. 1992, Korolev *et al*. 2000). در این بررسی تخصص میزبانی در جدایه‌های *V. dahliae* مشاهده نشد. اگرچه جدایه‌های مورد آزمایش، بیماریزایی متفاوتی در میزبانهای مختلف از خود نشان دادند که با نتایج برخی از محققین مطابقت دارد (Chang & Eastburn 1994, Subbarao *et al*. 1995). جدایه‌های غیر برگریز و برگریز (T-9) از نظر شدت بیماریزایی متفاوت بودند به‌طوری که جدایه T-9 روی ارقام مورد استفاده پسته، پنبه، بامیه و کلزا بیماریزایی شدید ایجاد کرد و روی آفتابگردان بیماریزایی آن بسیار کم بود. جدایه برگریز T-9 روی بسیاری از گیاهان بیماریزایی شدید نشان میدهد ولی با توجه به یافته های این بررسی شاید بتوان نتیجه گرفت که خصوصیت برگریزی عاملی در افزایش شدت بیماری به شمار نمی‌آید بلکه به عنوان یک صفت تلقی می‌شود. دلیل بیماریزایی کم جدایه T-9 روی برخی از گیاهان مورد بررسی را می‌توان به واکنش ارقام گیاهان مورد استفاده نسبت داد. طبقه‌بندی ارقام گیاهی استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

شده در این بررسی براساس واکنش به جدایه‌های قارچ نشان می‌دهد که بروز حساسیت با زمان ظهور علایم تا حدی ارتباط دارد اگر چه بامیه کمترین زمان بروز علایم را داشته و انتظار می‌رفت که حساسترین گیاه باشد در صورتیکه نتایج این را نشان نمی‌دهد. سایر ارقام مورد استفاده نظیر بادنجان، پنبه و پسته نسبت به بامیه حساسیت بیشترنشان داده‌اند که دلیل این اختلاف را می‌توان به عکس‌العمل ارقام استفاده شده نسبت داد. هیجده جدایه مورد آزمایش روی گیاهان تیره شب بو بیماری ایجاد کردند. *کاراپاپا* و همکاران (Karapapa *et al*. 1997) نشان دادند که جدایه‌های *V. dahliae* از میزبانهای تیره شب بو روی گیاهان cruciferous بیماریزایی شدید ایجاد می‌کنند. و این جدایه‌ها دیپلوئید هستند و آنها را به عنوان گونه ای مجزا به نام *V. longisporum* معرفی کردند. در تحقیق حاضر تمام جدایه‌ها متعلق به *V. dahliae* بودند. طبق این گزارش جدایه‌های حاصل از گیاهان غیرcruciferous روی پنج رقم کلزا بیماریزا نبودند، در این بررسی جدایه‌های مختلف از میزبان‌های غیر تیره شب بو روی کلزا بیماریزا بودند. این تفاوت در یافته‌ها را شاید بتوان به رقم کلزای مورد استفاده در این بررسی نسبت داد. *اشنات هورست و ماتره* (Schnarthorst & Mathre 1966) دو پاتوتیپ برگریز پنبه (D) و غیر برگریز پنبه(N) را توصیف کردند. *اشوارث* (Ashworth 1983) پیشنهاد کرد که یک بیماریزایی پیوسته میان جدایه‌هایی از پنبه بیش از دو پاتوتیپ وجود دارد. *دایف* و همکاران (Daayf *et al*. 1995) ثابت کردند که بین VCG و دو پاتوتیپ پنبه ارتباط وجود دارد بطوریکه جدایه‌های برگریز به VCG1 تعلق دارند و جدایه‌های غیر برگریز متعلق به VCG2 و VCG4 هستند. در اسرائیل جدایه‌هایی که روی پنبه علائم خفیف تا ملایم ایجاد کردند به عنوان پاتوتیپ غیر برگریز (ND) و جدایه‌هایی با علائم شدید یا برگریزی کم یا بدون آن به عنوان پاتوتیپ شبه برگریز (DL) معرفی شدند. جدایه‌های ND به VCG2A, VCG4B و VCG2B که از میزبان‌های غیر از پنبه جدا شده بودند تعلق گرفتند و جدایه‌های DL در VCG2B قرار گرفتند (Korolev *et a.* 2000) در این بررسی نیز جدایه‌های VCG2B روی پنبه شبه برگریز بودند. تمام این بررسی‌ها وجود بیش از دو پاتوتیپ مجزا در پنبه را به اثبات می‌رساند. *نلسون* (Nelson 1950) نعناع را یک میزبان اختصاصی برای *Verticillium dahliae* معرفی کرد. در آزمونهای

www.SID.ir

Archive of SID

بیماریزایی که روی گیاه نعناع انجام شد چند جدایه از میزبان‌های متفاوت بررسی شد و همه این جدایه‌ها شدت بیماریزایی کمی در این گیاه نشان دادند. با توجه به نتایج حاصل از یک بررسی روی گیاه نعناع، مشاهده شد که این گیاه یک میزبان تخصصی برای *V. dahliae* نمی‌باشد و جدایه‌های *V. dahliae* نعناع یک سازگاری میزبانی نسبت به این گیاه دارند نه اختصاصیت میزبانی. البته پیشنهاد شده که جدایه‌های نعناع تا زمانیکه شدت بیماریزایی بیشتری روی نعناع نسبت به سایر میزبانها از خود نشان دهند یک پاتوتیپ مجزا به شمار می‌آیند (Douhan and Johnson 2001). شاید بتوان علت بیماریزایی اندک جدایه‌های غیر نعناع روی نعناع را در این تحقیق به سازگاری کم جدایه‌ها و میزبان نسبت داد.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (104-101) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: مریم روزبه و دکتر ضیاءالدین بنی‌هاشمی، بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

www.SID.ir