Archive of SID

مطالعه تنوع ژنتیکی در جمعیت های ایرانی قارچ *Erysiphe betae*(Vanha) Weltzienعامل بیماری سفیدک سطحی چغندر با روش rDNA-RFLP

Study on genetic diversity of Iranian populations of *Erysiphe betae*(Vanha) Weltzien causal agent of sugar beet powdery mildew using rDNA-RFLP method

مهیار شیخ الاسلامی [۱]، سید محمود اخوت [۱]، قربانعلی حجارود [۱]، عباس شریفی تهرانی [۱]، مارتین زایدل [۲] ومحمد جوان نیکخواه [۱]

م. شیخ الاسلامی, س.م. اخوت, ق.ع. حجارود, ع. شریفی تهرانی, م. زایدل و م. جوان نیکخـواه. ۱۳۸۳. مطالعـه تنـوع ژنتیکـی در جمعیت های ایرانی قارچ *Erysiphe betae*(Vanha) Weltzien عامل بیماری سفیدک سطحی چغندر با روش rDNA-RFLP. **چغندرقند ۲۰(۲): ۱۵۹-۱۴۹**

چکیده

در این مطالعه ۱۰۵ جدایه قارچ عامل سفیدک سطحی چغندرقند از مناطق مختلف کـشور جمـع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت. استخراج DNA از آسکوکارپ‌ها با استفاده از محلول پنج درصد Chelex100 انجام شد. نواحی فاصله‌ساز بین ژن‌های ریبوزومی بـه همـراه قطعـه ۵/۸ S توسـط آغازگرهـای ITS1 و ITS4 از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز تکثیر شده و روی آگارز ۱/۵ درصد ارزیابی گردیدند. محصول PCR تمـام جدایه‌ها شامل یک قطعه با بزرگی ٦٤٥ جفت بازی بود. محصولات PCR بـه وسیله نه آنزیم‌برشی *Eco*RI, *Msp*I,*Sac*I, *Hae*III, *Alu*I, *Taq*I, *Hind*III, *Cfo*I, *Rsa*I هضم و محصولات هضم روی ژل اکریلامیـد ۷/۵٪ تفکیک گردیدند. نتایج نشان داد که فقط چهار آنزیم‌برشـی *Cfo*I, *Hae*III, *Alu*I, *Msp*I دارای محـل بـرش روی قطعه مزبور بودند. آنزیم *Alu*I در دفعات مختلف باندهای متغیری پدید آورد و نتایج آن لحاظ نگردیـد. آنزیم *Cfo*I بادو محل تشخیص سه قطعه با طول‌های ۲۸۰،۱۸۵ و۱۸۰ جفت باز را تولید کرد. محصول هضم آنزیم *Msp*I چهار قطعه با بزرگی ۳۲۵،۱٦۰،۱۲۰ و٤۰ جفت باز بود. آنزیم *Hae*III پس از هضم محصولات PCR پـنج قطعـه بـا انـدازه‌های ۳۲۵،۱۸۰،۷۵ ، ٤۰ و۳۰ جفـت بـاز تولیـد کـرد. بـین نقـوش بانـدی محصولات PCR و محصولات هضم آنزیمی هریک از آنزیم‌ها برای تمام جدایه‌های بررسـی شـده تفـاوتی مشاهده نشد. نتایج نشان داد که جمعیت‌های ایرانی قارچ عامل سفیدک سطحی چغندر از یکنواختی بـسیار بالایی برخوردار هستند.

واژه‌های کلیدی: بیماری سفیدک سطحی, تنوع ژنتیکی, جمعیت‌های ایرانی, چغندرقند, قارچ, rDNA-RFLP

۱- گروه گیاهپزشکی،دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران-کرج-ایران m1sheikh@yahoo.com
۲ -آزمایشگاه فیتوتکنولوژی،دانشگاه علوم کاربردی هایلبرون واینزبرگ-آلمان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سفیدک سطحی چغندر ازمهمترین بیماری‌های قارچی این محصول در مناطق مختلف کشت چغندرقند درجهان شناخته می‌شود. این بیماری اولین بار در سال ۱۹۰۳توسط وانیا(Vañha 1903) ازکشور چکوسلواکی سابق تحت عنوان *Microsphaera betae* Vañha و از آن پس از سایرکشورهای اروپایی، آمریکا و هندوستان گزارش شده است. اولین گزارش بیماری از ایران در سال ۱۳۱۷ توسط اسفندیاری (به نقل از احمدی نژاد ۱۳۵۲) بوده است. ولتزین (Weltzien) 1963 براساس فعالیت انحصاری قارچ روی جنس بتا (*Beta*) و تفاوت دراندازه‌های آسکوکارپ عامل بیماری را *Erysiphe betae* نامگذاری کرد. در بین سفیدک‌های سطحی بیشترین مطالعات در زمینه تنوع ژنتیکی در مورد جمعیتهای قارچ *Blumeria graminis* (DC.) Speer عامل سفیدک سطحی گندمیان بوده است. مطالعات متعدد روی جمعیت‌های طبیعی *Blumeria graminis* fsp.*tritici* نشان داده که این قارچ دارای تنوع ژنتیکی زیادی است (Bailey and MacNiell 1983; Leijerstorm,1965; O'dell et al. 1989; Wolf,1967). منشأ این تنوع در یک جمعیت می تواند ناشی از موتاسیون (Leijerstorm 1972)، فشار انتخابی ناشی از ارقام مقاوم، رقابت، جریان ژنی(Gene flow) وریزش ژنتیکی (Gene drift) باشد(Martines et al.1984).

نشانگرهای مولکولی متعددی نظیر RFLP و RAPD-PCR برای تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف قارچی استفاده شده است (Delyé et al.1997). اما درمورد پارازیت‌های اجباری و بخصوص سفیدک‌های سطحی تهیه ماده قارچی از موانع اصلی درانجام این آزمایش‌ها به شمار می‌رود. ناحیه ژن‌های ریبوزومی و نواحی فاصله‌ساز بین آن‌ها بیشترین ناحیه توالی‌یابی شده در قارچها است که به طور معمول برای مطالعات سیستماتیک مولکولی درسطح گونه و درون گونه به کار می رود. آغازگرهای ITS1 وITS4 به عنوان آغازگرهای استاندارد در اغلب مطالعات تاکسونومی قارچ شناسی استفاده می شود (Bruns et al.1991; White et al.1990).

آنن و همکاران (Annen et al. 2001) به کمکrDNA-RFLP تنوع گسترده‌ای را درون گونه قارچ میکوریز *Hebeloma velutipes* مشاهده کردند. در مورد بیماری پوسیدگی قهوه‌ای ساقه سویا در شمال آمریکا از rDNA-RFLP برای تمایز عامل اصلی به وجود آورنده بیماری توسط *Phialophora gregata* از سایر قارچهایی که از نواحی ژنتیکی رنگ یافته شناسایی شده اند به کار رفته است(Harrington et al. 2000). بررسی‌ها در مورد *Microsphaera pulchra* با نشانگر rDNA-RFLP آن را به دو گروه درون گونه‌ای تقسیم کرد که این نتایج با نتایج قبلی که براساس بررسی ویژگی‌های مرفولوژیکی به دست آمده بود کاملاً مطابقت داشت (Sato et al.1997).

www.SID.ir

Archive of SID

در جمعیت‌هایی از *Erysiphe cichoracearum* جمع‌آوری شده از میزبان‌های مختلف نشانگر rDNA-RFLP تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. جدایه‌های *E.cichoracearum*، شش هاپلوتایپ معین را مشخص کردند که هر هاپلوتایپ اختصاص به یک میزبان یا یک مجموعه مرتبط از میزبان‌ها داشت (Zeller and Levy 1995). در بررسی ۲۸ جدایه از *Sphaerotheca fuliginea* با rDNA-RFLP و ۱۱ آنزیم محدود کننده تمام جدایه ها الگوی یکسانی را نشان دادند. هم چنین در روش RAPD-PCR با استفاده از۲۲ آغازگرپلی مورفیسم اندکی مشاهده شد و تجزیه کلاستر براساس اطلاعات حاصل از RAPD قادر به تشخیص جمعیت‌های درون گونه‌ای در *S.fuliginea* نبود (Bardin et al.1997). مطالعه۴۱ جدایه *E.cichoracearum* با استفاده از rDNA-RFLP سه هاپلوتایپ متفاوت را مشخص کرد. بررسی این جمعیت با نشانگر RAPD-PCR و ۱۶ آغازگر سه گروه مختلف را در جمعیت مورد مطالعه آشکار کرد که با هاپلوتایپ‌های rDNA- RFLP مطابقت کامل داشتند (Bardin et al.1999). یکی از راه‌های موثر برای کنترل بیماری‌ها یافتن ارقام مقاوم است اما بدیهی است که موفقیت در تهیه ارقامی با مقاومت مطلوب و پایدار به شناخت کافی از ژنتیک بیمارگر و میزبان و تعامل آن‌ها بستگی دارد. پژوهش حاضر در راستای بررسی تنوع ژنتیکی بیمارگر برای اولین بار در دنیا انجام شد.

مواد وروش‌ها

۱- جمع‌آوری نمونه

نمونه‌ها از مناطق مختلف کشور در طی سال‌های ۱۳۸۰و ۱۳۸۱ ازاستان‌های فارس (۱۴ نمونه)، اصفهان(۶نمونه)، قزوین(۱۲ نمونه)، کرمان (۳ نمونه)، کرمانشاه(۸ نمونه)، آذربایجان غربی(۱۵نمونه)، اردبیل(۵ نمونه)، سمنان(۳ نمونه)، مرکزی(۳ نمونه)، لرستان(۵ نمونه)، تهران(۴ نمونه)، کهکیلویه وبویراحمد(۴ نمونه)، خراسان(۸ نمونه)، همدان(۷ نمونه) و خوزستان(۸ نمونه) جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها شامل برگ‌های واجد آسکوکارپ بودند که عمدتاً از بوته‌های چغندرقند هم چنین نمونه‌هایی از چغندر لبویی، چغندر علوفه‌ای و چغندر وحشی (*Beta vulgaris* subsp.*maritima*) با فواصل حداقل ۱۰ کیلومترجمع‌آوری شدند که پس از خشک کردن داخل پاکت‌های کاغذی نگه‌داری شدند. هم چنین کنیدی از تعدادی از نمونه‌ها روی چغندرهای هشت هفته‌ای تک کلنی و تکثیر شدند و پس از فراوان‌سازی و جمع‌آوری، اسپورها لیوفیلیز شدند.

۲-استخراج DNA

استخراج DNA از آسکوکارپ‌ها براساس روش خداپرست(۱۳۸۰) انجام شد. براساس این روش قطعات برگ با اندازه تقریبی ۱×۱ سانتی‌متر ابتدا در

www.SID.ir

Archive of SID

ه مدت یک ثانیه قرار داده وروی دستمال کاغذی سترون خشک شد. پس از خشک کردن ابتدا یک عدد لام که قبلاً به‌ه مدت یک ساعت داخل اسید کلریدریک۱۰ درصد قرار داشت شسته و سپس توسط شعله ضدعفونی سطحی شد. پس از سرد شدن لام تعداد ۵۰ عدد آسکوکارپ از لکه منفرد روی قطعه برگی برداشته وروی لام قرار داده شد و روی آن یک قطره الکل اتیلیک ۹۶ درصد ریخته شد. پس از تبخیر الکل لام سترون دیگری روی آن قرار داده شد و آسکوکارپ‌ها کاملاً له شدند. ذرات قارچی توسط سوزن سترون به لوله حاوی شلکس ۵ درصد منتقل شد. پس از ۱۰ ثانیه هم زدن روی شیکر این لوله‌ها داخل دستگاه ترمومیکسر (Thermomixer) به‌ه مدت نیم ساعت در دمای 56^{o} C قرار داده شدند. پس از آن به‌ه مدت ۱۰ دقیقه در دمای 95^{o} C قرار داده و سپس به‌ه مدت ۱۰ دقیقه در دور۱۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس مایع‌رویی به یک لوله تمیز منتقل و برای مراحل بعدی در -20^{o} C نگهداری شدند. برای استخراج DNA از کنیدی‌ها از روش مک درموت و همکاران (McDermott et al.1994) و با استفاده از بافرCTAB انجام شد.

برای تکثیر قطعه DNA ریبوزومی از دو آغازگر ITS1 و ITS4 معرفی شده توسط وایت و همکاران (White et al.1990) استفاده شد. واکنش PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۴/۴ میکرو لیتر آب مقطر دو بار تقطیر، ۲ می‌کرولیتربافر PCR ۱۰ غلظتی، ۰/۴ میکرول‌یتر dNTP Mix حاوی ۲/۵ میلی مول از هر یک از dNTP ، یک واحد Taq DNA Polymerase ، ۱ میکرولیتر(۲۵ پیکومول) از آغازگر بالا دست ITS1 5′ (TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3′) ،یک میکرولیتر(۲۵ پیکومول) آغازگر پایین دست با توالی (TCCTCCGCTTATTGATATGC 3′ ITS4 5′) و یک میکرولیتر DNA قالب بود.

لوله‌ها پس از یک سانتریفوژ کوتاه داخل دستگاه ترمو سایکلر بیومترا مدل (Tpersonal, Goetingen, Germany) قرار داده شد و سپس طبق دستورالعمل زیر چرخه PCR انجام شد.

چرخه‌های گرمایی شامل:

۱- مرحله واسرشتگی مقدماتی:	۵ دقیقه در 95^{o} C
۲-مرحله واسرشت:	۱دقیقه در 95^{o} C
۳-مرحله اتصال:	۱دقیقه در 52^{o} C
۴-مرحله گسترش:	۲دقیقه در 72^{o} C
۵-مرحله گسترش نهایی:	۵ دقیقه در 72^{o} C

و ۳۵ بار چرخه بین مراحل ۴-۲ بود. ارزیابی محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵درصد در سیستم بافری 1X TBE (Tris 89.1 mM,Boric Acid 88.9 mM,Na2EDTA 50 Mm) انجام وژل سپس با اتیدیوم بروماید۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر رنگ‌آمیزی و وجود قطعه DNA تکثیر شده ردیابی شد.

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر آنزیم‌های برشگر روی محصول PCR

هضم محصول PCR جدایه‌ها توسط آنزیم های برشگر *Hae*III,*Alu*I,*Taq*I,*Hind*III,*Cfo*I,*E coR*I, *Msp*I, *Sac*I و *Rsa*I بررسی شد. پس از تهیه بافرهای رقیق‌کننده و نگه‌دارنده مقدار ۱/۵ میکرولیتر از هریک از آنزیم‌ها با ۸/۵ میکرولیتر از بافر مخصوص هر آنزیم مخلوط گردید. واکنش‌های هضم شامل ۰/۸ میکرولیتر بافر هضم ویژه هر آنزیم ،۲میکرولیتر بافر حاوی آنزیم برشی(۳واحد) و۵/۲ میکرولیتر محصول PCR از DNA ریبوزومی تکثیر شده بود. واکنش‌ها سپس به‌ مدت یک ساعت در حمام آبی ^{o}C ۳۷ قرار گرفتند. ارزیابی محصولات هضم با افزودن بافر بارگذاری بر روی ژل پلی اکریلامید ۷/۵ درصد در سیستم بافری 1X TBE انجام شد. رنگ‌آمیزی به‌ مدت نیم ساعت در محلول اتیدیوم برماید (۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر) و به دنبال آن رنگبری در آب مقطر انجام شد و سپس توسط دستگاه Gel Documentation (Pharmacia Biotech) عکس‌برداری صورت گرفت.کلیه مواد، آنزیم‌ها و آغازگرها از شرکت Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany خریداری گردید.

نتایج

نتیجه واکنش PCR برای تمام جدایه‌ها تکثیریک قطعه ۶۴۵ جفت بازی بود(شکل ۱). از مجموع نه آنزیم استفاده شده چهار آنزیم *Hae*III,*Alu*I , *Msp*I و *Cfo*I دارای محل تشخیص و برش روی محصولات PCR بودند. آنزیم *Alu*I در دفعات مختلف آزمایش نتایج متغیری داشت و به این دلیل ازادامه آزمایش با این آنزیم روی کل نمونه‌ها صرف نظر شد. محصول هضم آنزیم *Cfo*I سه قطعه با بزرگی ۲۸۰،۱۸۵ و۱۸۰ بود(شکل ۲). آنزیم *Msp*I با سه مکان تشخیص و برش روی محصول PCR تمام جدایه‌ها چهار قطعه با اندازه‌های ۳۲۵،۱۶۰،۱۲۰ و۴۰ جفت باز تولید کرد (شکل ۳). س‌ران‌جام آنزیم*Hae*III درچهار نقطه دارای توالی تشخیص و برش بود که در نتیجه هضم پنج قطعه به طول‌های ۳۲۵،۱۸۰،۷۵،۴۰ و۳۰جفت بازی تولید شد(شکل ۴). سایر آنزیم‌ها فاقد توالی تشخیص بر روی محصول PCR تمام جدایه‌ها بودند. درسه مورد از ۱۰۵ نمونه، DNA حاصل از استخراج آن از کنیدی‌ها استفاده شد که نتایج حاصل از آن با نمونه‌های آسکوکارپ یکسان بود. در مجموع نتایجی که از تأثیر آنزیم‌های محدود کننده روی جدایه‌های مختلف به‌ دست آمد حاکی از آن بود که بین جدایه‌های مناطق مختلف کشور و هم چنین میزبان‌های مختلف تفاوتی وجود ندارد و همگی در یک گروه جای می‌گیرند.

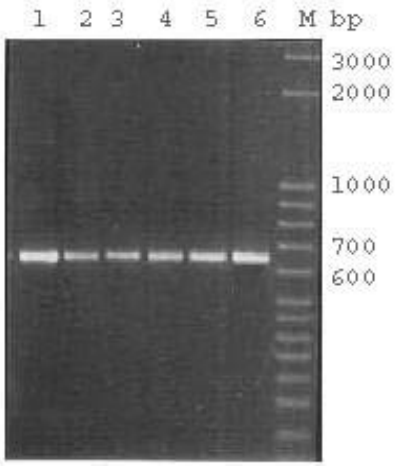
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ فهرست و مشخصات جدایه‌های *E. betae* که درعنوان اشکال آمده است

Table 1 List and specifications of *E. betae* isolates which included in the pictures

شماره Number	نام جدایه Name of Isolate	محل جمع‌آوری Location	سال جمع‌آوری Year	میزبان Host	منبع استخراج DNA Source of DNA
1	QZ1	قزوین	1381	چغندر قند Sugar beet	آسکوکارپ Ascocarp
2	MGH	اراک	1381	چغندر قندSugar beet	آسکوکارپ Ascocarp
3	MAS	شازند	1381	چغندر قندSugar beet	آسکوکارپ Ascocarp
4	EHA	اصفهان	1380	چغندر قندSugar beet	آسکوکارپ Ascocarp
5	EDA	اصفهان	1381	چغندر علوفه ای Fodder beet	آسکوکارپ Ascocarp
6	DBM1	دزفول	1380	چغندروحشی Wild beet	آسکوکارپ Ascocarp
7	DBM2	دزفول	1380	چغندروحشیWild beet	آسکوکارپ Ascocarp

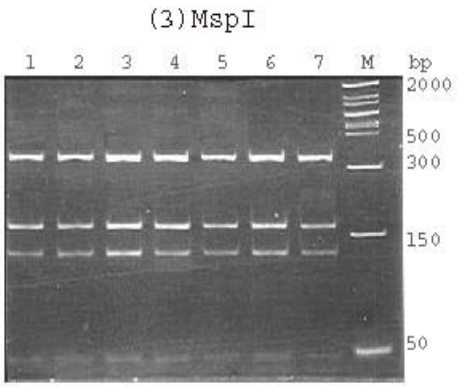


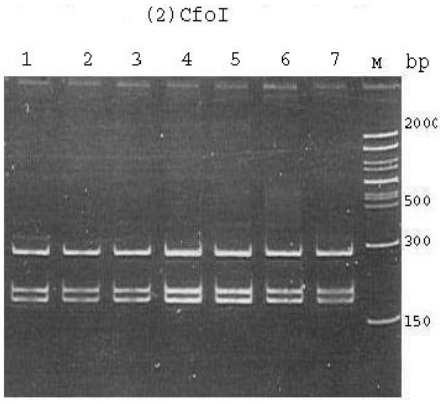
شکل ۱- نمایش محصول PCR جدایه های مختلف *E.betae*،جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران روی ژل آگارز ۱/۵ درصد رنگ آمیزی شده با اتیدیوم برماید.جدایه ها به ترتیب:۱-QZ1 -۲ MGH-۳ MAS-۴ EHA-۵ EDA-۶ DBM1 وستون M نشانه گذار وزن مولکولی ۵۰ bp هستند.

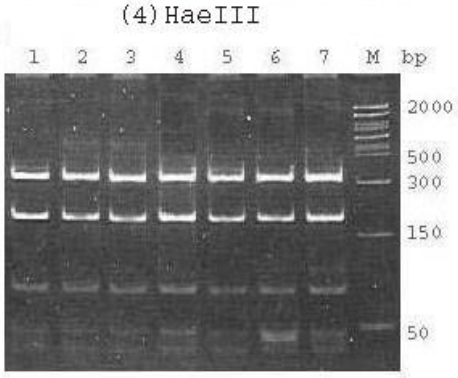
Figure 1.PCR product of different isolates of *E.betae* on agarose 1.5% stained with ethidium bromide.Isolates are:1-QZ1,2-MGH,3-MAS,4-EHA,5-EDA,6-DBM1.M line is weight marker 0f 50bp.

www.SID.ir

Archive of SID







شکل‌های ۳،۲ و٤ نقوش باندهای حاصل ازهضم محصولات PCR نواحی ژن‌های ریبوزومی جدایه‌های مختلف *E.betae* با استفاده از آنزیم‌های برشگر *Cfo*I ، *Mso*I و *Hae*III روی ژل اکریلامید ٪۷/۵ رنگ آمیزی شده با اتیدیوم برمایـد. جدایه‌ها بـه ترتیـب:۱-QZ1 ۲-MGH ۳-MAS ۴-EHA ۵-EDA ۶-DBM1 ۷-DBM2 وســـتون M نشانه گذار وزن مولکولی ۵۰bp هستند .

Fig. 2,3,4-Electrophoretic patterns of ITS-5.8S – PCR products of different isolates of *E.betae* digested with *Cfo*I,*Msp*I and *Hae*III on %5.7 acrylamide ,stained with ethidium bromide.Isolates are:1. QZ1,2.MGH,3.MAS,4.EHA,5.EDA,6.DBM1,7. DBM2.M line is molecular weight marker of 50 bp.

بحث

در ایــن تحقیــق تفــاوتی در ناحیــه ITS جدایـه‌های مختلـف *E.betae* مـشاهده نـشد، اگرچـه جدایه‌ها متعلق به نواحی جغرافیایی با فاصله بـسیار دور بودند. چنین پدیده‌ای در قـارچ‌های بیمـاریزای گیـاهی غیرمعمـول نیـست. دلیـه و همکـاران (Delyé et al.1995) با استفاده از نشانگرهای RAPD و مـدل ریاضی نی و لی (Nei and Lee 1979) بـیش از ۹۵ درصـد شـباهت در میـان ۱۳ جدایـه *U.necator* مشاهده کردند. تنوع اللی در جمعیت‌های فرانسوی *S.fuliginea* با استفاده از روش‌های RAPD-PCR و rDNA-RFLP بـــه میزان ۱۰ درصد تخمین زده شد که ایـن تنـوع انـدک نشان دهنده رابطه ژنتیکی بسیار نزدیک جدایه‌ها است، اگرچـه ایـن جدایـه‌ها متعلـق بـه نـواحی بـسیار دور از یکدیگر بوده‌اند (Bardin et al.1997). نتایج تحقیق حاضـر مـی‌توانـد درک بهتـری از اکولـوژی *E.betae* ارائه کند. نتایج بررسی نقش آسکوسپورها در جوانه‌زنی و بیم-اری-زایی در ت-حقیقات مختلف حاکی از عـدم توانـایی ایـن اسـپورها در بقـای قـارچ بـوده اسـت (شیخ‌الاسلامی و همکاران، مطالب منتشر نـشده ;

www.SID.ir

Archive of SID

(Minassian 1967; Mamluk and Weltzien 1973) و بنابراین امکان تغییرپذیری ژنتیکی قارچ از طریق فرم جنسی از بین می رود. هم چنین کنیدی و میسلیوم‌های قارچ نمی‌توانند در فاصله زمانی طولانی بین برداشت و شروع بیماری در سال بعد بقای قارچ را تأمین کنند (شیخ الاسلامی وهمکاران، مطالب منتشر نشده).علاوه براین با توجه به فعالیت انحصاری *E.betae* روی جنس بتا، در مناطق سردسیر و معتدل میزبان پایا برای نگه‌داری قارچ در شرایط زمستان وجود ندارد. بنابراین تنها راه شروع بیماری در مناطق سردسیر و معتدل بایستی اسپورهای غیر جنسی باشند که از فواصل دور توسط باد به این مناطق منتقل می‌شوند. اگرچه این موضوع توسط دراندروسکی (Drandarewski 1978) و راپل و همکاران (Ruppel et al.1975) مشاهده شده است اما تأیید آن در ایران نیازمند تحقیقات بیشتر است. درصورتی که این فرضیه درست باشد هر ساله کنیدی‌ها از مناطق محدودی سرچشمه می‌گیرند و به این ترتیب عملاً امکان پیدایش جدایه‌های جغرافیایی از بین می‌رود. در مورد میزبان، چغندرقند به عنوان یک محصول زراعی بسیار جوان و شاید جوان‌ترین عضو در بین محصولات مهم زراعی باشد که تنها حدود ۲۰۰ سال از عمر زراعی آن می‌گذرد، در عین حال که این زمان در ایران بیش از ۱۰۰ سال نیست. به این ترتیب می‌توان انتظار داشت که روابط میزبان و بیمارگر آن چنان که در مورد سایر محصولات نظیر گندم و جو و بیمارگرهایی نظیر زنگ یا سفیدک وجود دارد شکل نگرفته باشد، با عنایت به این نکته که نوع مقاومت در چغندرقند نسبت به بیماری سفیدک سطحی از نوع مقاومت افقی است و عملاً میزبان فشار انتخاب را به جمعیت بیمارگر وارد نمی‌کند تا آنرا وادار به پیدایش نژادهای جدید کند. با توجه به انگل اجباری بودن قارچ در صورتی که تغییر ژنتیکی در جمعیت قارچ روی دهد برای انتقال این واریاسیون‌ها به نسل بعد قارچ باید به توانند خود را روی گیاه در طول زمستان حفظ کند و چون در مناطق سردسیر که مکان‌های اصلی کشت چغندرقند به شمار می‌روند میزبان پایا برای قارچ وجود ندارد این واریاسیون‌های احتمالی از بین می‌روند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده References

احمدی نژاد، ا.۱۳۵۲. مطالعاتی در مورد سفیدک سطحی چغندرقند. بیماری‌های گیاهی، جلد ۹، شماره۲، صفحه ۲۵-۲۰ .

خداپرست، س. ا.۱۳۸۰. تحقیق در زمینه رده‌بندی و شناسایی قارچ‌های تیره *Erysiphaceae* دراستان گیلان. رساله دکتری بیماری شناسی. گروه گیاهپزشکی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تهران. ۲۰۴ صفحه .

Aanen DK, Kuiper TW, Hoekstra RF (2001) A widely distributed DNA polymorphism within a biological species of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma velutipes.* Mycological Research.105 (3):284-290

Bailey KL, McNiell BH (1983) Virulance of *Erysiphe graminis* f.sp.*tritici* in southern Ontario in relation to vertical genes for resistance in winter wheat. Canadian Journal of Plant Pathology 5:148-153

Bardin M, Nicot PC, Normand P, Lemaire JM (1997) Virulance variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*,causal agent of powdery mildew of cucurbits. European Journal of Plant Pathology 103:545-554

Bardin M,Carlier J, Nicot C (1999) Genetic differentiation in the French population of *Erysiphe cichoracearum*,a causal agent of powdery mildew of cucurbits. Plant Pathology 48:531-540

Bruns TD, White TJ, Taylor JW (1991) Fungal molecular systematics. Ann. Rev. Ecol. Syst. 22: 525-564

Delyé C, Laigret MF, Corio – Costet F (1995) A RAPD assay for strain typing of the biotrophic grape powdery mildew fungus *Uncinula necator* using DNA extracted from the mycelium.Exp. Mycol. 19:234-237

Delyé C, Laigret MF and Corio – Costet F (1997) RAPD analysis provides insight into the biology and epidemiology of *Uncinula necator*. Phytopathology 87:670-677

Drandarewski CA (1978) powdery mildews of beet crops, in: The Powdery Mildews. DM Spencer, ed. Academic Press, London. 565 pp

www.SID.ir

Archive of SID

Harrington TC, Steimel J, Workneh F, Yang XB (2000) Molecular identification of fungi associated with vascular discoloration of soybean in the north central United States. Plant Disease. 84:83-89

Leijerstorm B (1965) Studies on powdery mildew on wheat in Sweden II.Physiological races in Scandinavia in 1962 and 1963 and the resistance in a number of wheats to Scandinavian races.Staten Vaxskyddasazst. Medd.13:171-183

Leijerstorm B (1972) Studies on powdery mildew on wheat in Sweden III.Variability of virulance in *Erysiphe graminis* f.sp.*tritici* due to gene recombination and mutation. Staten Vaxskyddasazst. Medd.15:231-248

Mamluk OF, Weltzien HC (1973) Untersuchungen uber die Hauptfruchtform des echten Rubenmehltaus *Erysiphe betae* (Vanha) Weltzien. III Die Ascosporen. Phytopathologische Zeitschrift: 78 (1):42-56

Martines JW, Seaman WL , Atkinson TG (1984) Diseases of Field Crops of Canada. The Canadian Phytopathological Society.160pp

McDermott JM, Brandle U, Dutly F, Haemmerli UA, Keller S, Muller KE, Wolfe MS (1994) Genetic variation in powdery mildew of barley:Development of RAPD, SCAR, and VNTR markers. Phytopathology 84:1316-1321

Minassian V (1967) Fungicidal control of *Erysiphe betae* (Vanha) Welt. Master Thesis.Am.Univ. Beirut, Fac. Agric. 76pp

Nei M, Lee WH (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases.Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76:5269-5273

O'dell M, Wolfe MS, Flavell RB, Simpson CG, Summers RW (1989) Molecular variation in population of *Erysiphe graminis* on barley, oat and rye. Plant Pathology 38:340-351

Ruppel EG, Hill FJ, Mumford E (1975) Epidemiological observation on the sugar beet powdery mildew, epiphytotic in western U.S.A. Plant Disease Reporter 59:283-285

www.SID.ir

Archive of SID

Sato S, Takamatsu S, Yamamoto Y(1997) Taxonomical study of *Microsphaerapulchra* on *Cornus* spp. Based on morphological characters and PCR-RFLP analysis of the rDNA region.ICCP98 Number 2.2.37

http://www.bspp.org.uk/iccp98/2.2/37.html

Vañha J (1903) Eine neue blattkrankeit der rübe ,der echte mehltau der rübe ,*Microsphaera betae*.Z.Zuckerindustrie Böhmen 27:180

Weltzien HC (1963) *Erysiphe betae* (Vanha)comb.nov., the powdery mildew of beets. Phytopathologische Zeitschrift 47:123-128

White T,Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In:PCR-protocols: A Guide to Methods and Applications. PP 315-322

Wolfe MS (1967) Physiologic specialization of *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* in the United Kingdom, 1964-5. Transactions of The British Mycological Society 50:631-640

Zeller KA and Levy M (1995) Intraspecific differentiation in the powdery mildew *Erysiphe cichoracearum* determined with rDNA RFLPs. Molecular Ecology 4:277-283

www.SID.ir