فصلنامه‌ی تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال اول، شماره‌ی چهارم، زمستان ۱۳۹۲
صص ۷۲-۶۱

تعیین تنوع ژنتیکی *Fusarium solani* عامل پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی با استفاده از گروه‌های سازگار رویشی

محمدرضا پروین*[۱]، رضا فرخی‌نژاد [۲]

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۸

چکیده

در پاییز ۱۳۸۸ از مناطق مختلف استان خوزستان در مجموع ۷۹ جدایه *Fusarium solani* از ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی جداسازی گردید. بیماری‌زایی جدایه‌ها و همچنین تنوع ژنتیکی آن‌ها با استفاده از VCG مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها نشان داد که تمام جدایه‌های مورد آزمایش این گونه بیماری‌زا هستند. برای تولید موتانت نیت از محیط کشت زاپک کلرات (CDAC) حاوی ۵٪ کلرات پتاسیم و رزبنگال استفاده شد. کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت بر اساس نحوه‌ی رشدشان روی محیط‌کشت پایه حاوی یکی از چهار منبع ازت نیترات، نیتریت، آمونیوم و هیپوزانتین تعیین شد. بر این اساس ٦٨٪ از موتانت‌های نیت در کلاس فنوتیپی *nit*1، ۱۸٪ آنها در کلاس فنوتیپی *nit*3 و ١٤٪ آنها در کلاس فنوتیپی *nit*M قرار گرفتند. مکمل‌سازی بین موتانت‌های نیت جدایه‌ها روی محیط‌کشت حداقل انجام شد و جدایه‌ها در ۲۵ گروه سازگار رویشی قرار گرفتند. در این مطالعه رابطه‌ی مشخصی بین VCG و منطقه‌ی جغرافیایی مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: خوزستان، گوجه‌فرنگی، *Fusarium solani*، گروه‌های سازگار رویشی(VCGs).

[۱]- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
[۲]- استاد گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
*نویسنده مسئول مقاله: mrparvin421@gmail.com

مقدمه

بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی از بیماری‌های مهم این محصول در استان خوزستان می‌باشد. این بیماری عوامل مختلفی دارد. از گونه‌های جنس فوزاریوم که باعث پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی می‌شود، قارچ *Fusarium solani* (Martius) Appel and Wollenweber emend. Snyder and Hansen است که مرحله‌ی جنسی آن *Haemanectria haematococca* (Barkeley and Broome) Samuels and Nirenberg. (*Nectria haematococca*) می‌باشد. پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی ناشی از *F. solani* اولین بار از استرالیا گزارش شده است (Vawdery and Paterson, 1988). این قارچ توسط *امتی و ارشاد* (۲۰۰٤) و همچنین *ویانی و همکاران* (۲۰۰۸) به عنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی از ایران گزارش شده است. تاکنون در ایران مطالعه‌ای با استفاده از VCG روی آن صورت نگرفته است. همچنین مطالعات با استفاده از این نشانگر ژنتیکی روی این قارچ در دنیا بسیار اندک بوده است. گیاهان آلوده دچار کم رشدی شده و درجات متغیری از کلروز بین رگبرگی، سفیدشدگی[1] پهنک برگ، حالت پیسک[2] و لکه‌های نکروتیک روی برگ‌های جوان نشان می‌دهند (Vawdery and Paterson, 1988). پوسیدگی پوستی به رنگ قهوه‌ای در ریشه‌های اصلی یا ریشه‌های جانبی با حالت تغییر رنگ در حال توسعه درون استوانه‌ی مرکزی در فاصله‌ی ۲-۱۰ سانتی‌متری از لکه وجود دارد (Vawdery and Paterson, 1988; Cucuzza *et al*., 1991). در گیاهانی که به شدت تحت تاثیر بیماری قرار می‌گیرند، پوسیدگی ریشه‌ی اصلی را به طور کامل احاطه کرده و طوقه نیز پوسیده می‌شود. چنین گیاهان به طور مکرر ریشه‌های جدیدی در بالای طوقه ایجاد می‌کنند (Vawdery and Paterson, 1988). تنوع به تفاوت‌های ژنتیکی و مرفولوژیکی موجود بین افراد یک جمعیت اشاره می‌کند. چندین روش برای تعیین تنوع در جمعیت وجود دارد که یکی از آنها استفاده از گروه‌های سازگار رویشی[3] می‌باشد (Leslie, 1993; Kistler, 1997; McDonald, 1997). قرار گرفتن دو یا چند هسته (که از نظر ژنتیکی متفاوت هستند) در یک سیتوپلاسم مشترک که در اثر تماس و جوش خوردن (آناستوموز) دو ریسه‌ی سازگار به وجود می‌آیند را هتروکاریوزیس و به محصول این عمل هتروکاریون رویشی می‌گویند (Sidhu and Webster, 1979). *بلک اسلک*[4] برای اولین بار در سال ۱۹۰٤، وجود هسته‌های غیرمشابه در سیکل زندگی قارچ‌ها را نشان داد. در سال‌های ۱۹۱۲-۱۹۱٤ *برجف*[5] وجود تبادل هسته‌ها در ریسه‌های رویشی را هتروکاریوزیس[6] نامید (Sidhu and Webster, 1979). *دیکنسون*[7] برای اولین بار در سال ۱۹۳۲ وقوع هتروکاریوزیس بین جدایه‌های گونه‌های *Fusarium fructigenum* (*F. lateritium*) را گزارش کرد (Sidhu and Webster, 1979). جدایه‌هایی که از لحاظ رویشی سازگار بوده و با یکدیگر تشکیل هتروکاریون می‌دهند، از لحاظ ژنتیکی به هم شبیه بوده و در یک گروه سازگار رویشی قرار می‌گیرند، ولی جدایه‌هایی که تولید هتروکاریون نمی‌کنند، از نظر رویشی ناسازگارند (Correll *et al*., 1986; Elmer and Stephens, 1989; Leslie, 1993; Woo *et al*., 1996). سازگاری رویشی در قارچ‌هایی که فاقد تولیدمثل جنسی‌اند، عامل اصلی تنوع محسوب می‌گردد (Leslie, 1993). *پوهالا* (Puhala, 1985) برای تعیین گروه‌های سازگار رویشی در *F.oxysporum* روش ابداعی *کاو*[8] را اصلاح و به‌کار برد. وی برای این کار از موتانت‌های نیت که قادر به استفاده از نیترات نبودند و در محیط کشت‌های حاوی

[1] Bleaching
[2] Mottle
[3] Vegetative Compatibility Groups (VCG)
[4] Blakeslec
[5] Burgeff
[6] Heterokaryosis
[7] Dickinson
[8] Cove

کلرات تولید می‌شدند، استفاده کرد. *پوهلا* (۱۹۸۵) یک روش طبقه‌بندی جدیدی را بر اساس سازگاری رویشی جدایه‌های بیماری‌زای *F.oxysporum* پیشنهاد کرد. وی ارتباطی را بین جدایه‌های یک فرم اختصاصی و گروه‌های سازگار رویشی نشان داد. او اظهار داشت که ژنگاه‌های vic (کنترل‌کننده‌ی سازگاری رویشی) و ژنگاه‌هایی که بیماری‌زایی را کنترل می‌کنند، پیوستگی نزدیکی با یکدیگر دارند.

تحقیق حاضر با هدف بررسی تنوع ژنتیکی گونه *F. solani* با استفاده از گروه‌های سازگار رویشی و تعیین ارتباط آن با مناطق جغرافیایی محل جمع‌آوری نمونه‌ها صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی قارچ

در پاییز ۱۳۸۸ نمونه برداری از مزارع گوجه‌فرنگی استان خوزستان در شهرهای بهبهان، رامهرمز، شوش، دزفول، شوشتر و گتوند انجام شد. نمونه برداری از گیاهانی صورت گرفت که علائم بیماری (پوسیدگی ریشه و طوقه و پژمردگی) را نشان می‌دادند و جداسازی قارچ با استفاده از محیط *نش و اسنایدر* (Nash and Snyder, 1962) انجام شد.

خالص‌سازی و شناسایی قارچ

با استفاده از محیط کشت آب-آگار (WA) جدایه‌ها به روش تک اسپور خالص‌سازی شدند و روی همین محیط‌کشت در یخچال نگه‌داری شدند. برای شناسایی قارچ‌ها نیز از محیط‌کشت‌های برگ میخک-آگار (Carnation-leaf agar= CLA) و سیب زمینی-دکستروز آگار (Potato-dextrose agar=PDA) استفاده گردید. قارچ‌ها با استفاده از منابع معتبر و مهم شناسایی و گونه‌های فوزاریوم بر اساس خصوصیات مرفولوژیکی شناسایی گردیدند. جهت شناسایی از کلیدهای *نلسون و همکاران* (Nelson *et al*., 1983)، *بوس* (Booth, 1971) و *برجس و همکاران* (Burgess *et al*., 1994) استفاده شد.

آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی به روش آلوده کردن خاک سترون با مایه‌ی تلقیح جدایه‌ها روی دانه‌های گندم در گلدان (حاوی خاک، ماسه و خاک‌برگ سترون) به روش *دینگرا و سینکلر* (Dhingra and Sinclair, 1987) و در قالب طرح آماری کاملا تصادفی با سه تکرار و پنج گیاه در هر گلدان و وجود تیمار شاهد، در شرایط مزرعه، انجام شد. بذور گوجه‌فرنگی رقم پریمو[1] (از شرکت فلات ایران) که از ارقام مورد کشت در استان می‌باشد، به روش مستقیم‌کاری در گلدان کاشته شدند و در مرحله‌ی دو برگی حقیقی، مقداری از خاک اطراف طوقه را کنار زده، چهار دانه گندم حاوی مایه‌ی قارچ در کنار طوقه قرار داده و روی آن با کمی خاک پوشانده شد. در تیمار شاهد فقط از دانه گندم استفاده گردید.

تولید موتانت‌های نیت

از کشت‌های خالص هر جدایه، قطعه‌ی کوچکی به پتری‌های حاوی محیط کشت کامل منتقل گردید. بعد از گذشت حدود ده روز که قارچ به خوبی روی محیط فوق رشد کرد، از هر جدایه ده قطعه‌ی دو میلی‌متری برداشته و به ده پتری حاوی محیط کشت کلرات‌دار (PDC، MMC و CDAC) منتقل شد. سپس تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای تولید موتانت‌های نیت نگهداری شدند. محیط‌کشتی که بیش‌ترین راندمان تولید موتانت نیت را داشت، انتخاب و برای تولید

[1]Primo

موتانت‌های نیت سایر جدایه‌ها از آن استفاده گردید. بعد از تولید موتانت نیت، قسمت کوچکی از حاشیه‌ی موتانت نیت انتخاب و به لوله‌ی حاوی محیط کشت حداقل منتقل گردید (Correll *et al*., 1987).

تعیین کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت

برای تعیین فنوتیپ موتانت‌های نیت، قطعاتی به اندازه‌ی دو میلی‌متر از کشت پنج روزه‌ی هر موتانت روی محیط‌کشت حداقل برداشته و به محیط کشت‌های حاوی یکی از منابع ازت (نیترات سدیم، نیتریت سدیم، تارتارات آمونیوم، هیپوزانتین) به‌طور جداگانه مایه‌زنی شد. بعد از آن تشتک‌های پتری در دمای اتاق (۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) تا رشد کامل موتانت‌ها (پنج روز) نگه‌داری شدند (Correll *et al*., 1987).

آزمون‌های مکمل‌سازی برای تعیین گروه‌های سازگار رویشی جدایه‌ها

برای تعیین گروه‌های سازگار رویشی جدایه‌ها، بین موتانت‌های نیت M*nit* و موتانت‌های *nit*1 یا *nit*3 جدایه‌ها مکمل‌سازی صورت گرفت، در غیاب موتانت‌های M*nit* ، مکمل‌سازی بین موتانت‌های *nit*1 و *nit*3 انجام شد. در این تحقیق، ابتدا آزمون مکمل‌سازی بین موتانت‌های نیت ۱۵ جدایه (جمع‌آوری شده از مناطق مختلف) انجام شد. سپس بعد از تعیین گروه‌های سازگار رویشی این جدایه‌ها، از هرگروه یک موتانت M*nit* به عنوان نماینده انتخاب و کلیه‌ی موتانت‌های *nit*1 و *nit*3 مابقی جدایه‌ها با آن‌ها مکمل‌سازی شدند. در ضمن بعد از اینکه تمام گروه‌های سازگار رویشی جدایه‌ها مشخص شدند، برای اطمینان از آزمون‌های مکمل‌سازی، مجدداً بین موتانت‌های نیت کلیه‌ی جدایه‌های هر گروه نیز آزمون مکمل‌سازی انجام شد. برای انجام آزمون‌های مکمل‌سازی، یک قطعه‌ی دو میلی‌متری از موتانت M*nit* یک جدایه به وسط تشتک پتری محیط کشت حداقل منتقل شد و سپس چهار طرف آن و به فاصله‌ی تقریبا مساوی (دو سانتی‌متر) یک قطعه‌ی دو میلی‌متری از موتانت‌های *nit*1 و *nit*3 سایر جدایه‌ها قرار داده شد (Correll *et al*., 1987).

نتایج

جداسازی و شناسایی قارچ

در این تحقیق در مجموع ۷۹ جدایه *F.solani* از ریشه و طوقه‌ی آلوده‌ی گیاهان گوجه‌فرنگی (شکل ۱) در استان خوزستان جداسازی و شناسایی شد.

تولید موتانت‌های نیت

از پانزده جدایه‌ای که به طور آزمایشی روی محیط کشت‌های PDC (حاوی کلرات پتاسیم ۱/۵، ۳، ۷، ۸/۵ و ۹ درصد) و MMC (حاوی کلرات پتاسیم ۱/۵، ۳ و ۵ درصد) بررسی شد، هیچ موتانت نیتی تولید نشد. بنابراین از محیط کشت CDAC حاوی کلرات پتاسیم ۳٪ استفاده شد. ولی از این محیط کشت نیز موتانت نیت به دست نیامد. این بار جدایه‌ها به محیط کشت CDAC حاوی کلرات پتاسیم پنج درصد حاوی رزبنگال منتقل شدند که از این محیط کشت سکتور سریع‌الرشد به دست آمد. این سکتورها با انتقال به محیط کشت حداقل، به‌صورت ریسه‌های بسیار نازک و ظریف رشد کرده و موتانت نیت تشخیص داده شدند. در مورد بقیه‌ی جدایه‌ها نیز از همین محیط کشت برای تولید موتانت نیت استفاده شد. علی‌رغم تلاش‌های مکرر، از بعضی جدایه‌ها موتانت نیتی تولید نشد. بنابراین از ادامه‌ی کار روی این دسته از جدایه‌ها صرف نظر شد. با استفاده از محیط کشت مذکور، تعداد ٦٣١ موتانت نیت به‌دست آمد.

تعیین کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت

بعد از پنج روز تشتک‌های پتری برای تعیین کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت بررسی شدند. کلیه‌ی موتانت‌های نیت بر اساس نحوه‌ی رشد پرگنه روی محیط کشت‌هایی که دارای یکی از منابع ازت (نیترات سدیم، نیتریت سدیم، هیپوزانتین و تارتارات آمونیوم) بودند، در یکی از سه کلاس فنوتیپی *nit*1، *nit*3 و *nit*M قرار گرفتند. علی‌رغم تلاش‌های مکرر برای تولید موتانت‌های نیت متنوع، در چند جدایه از این قارچ همه‌ی موتانت‌های نیت، *nit*1 بود. از مجموع موتانت‌های حاصله از جدایه‌ها، ٤٣٢ عدد (٦٨٪) *nit*1، ۱۱۲ عدد (۱۸٪) *nit*3 و ۸۷ عدد (۱٤٪) *nitM* بودند.

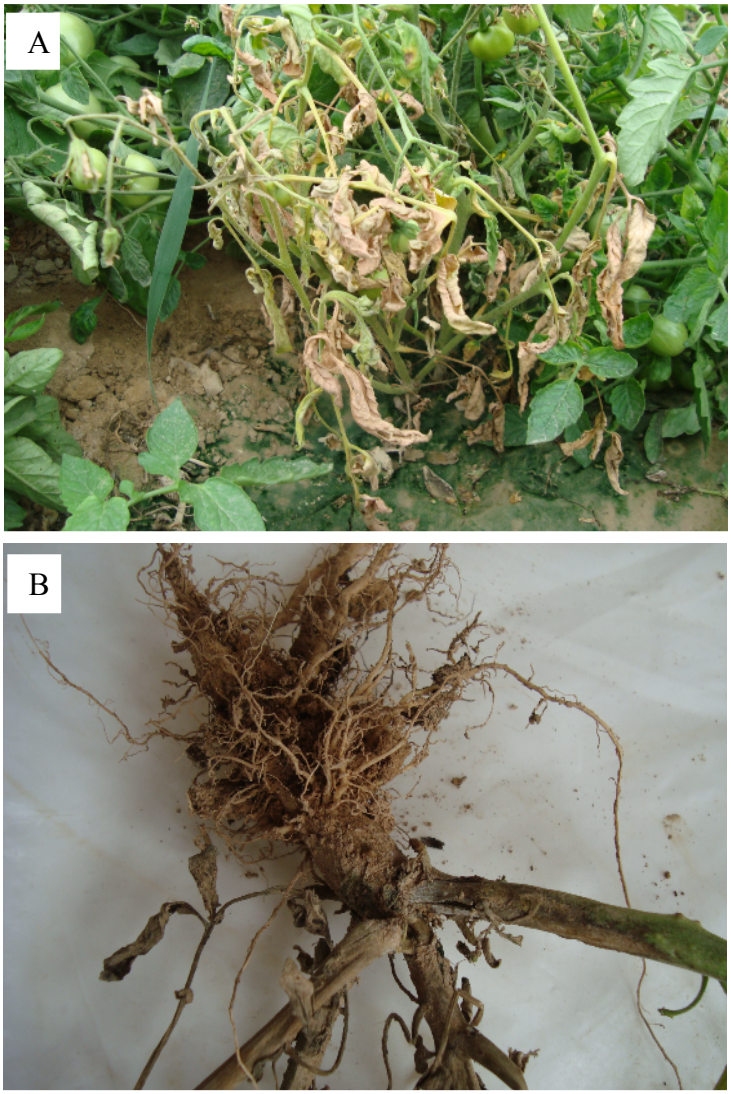
مکمل‌سازی موتانت‌های نیت

از روز پنجم به بعد روی محیط کشت حداقل در محل برخورد پرگنه موتانت‌های نیت سازگار، رشد متراکمی از میسلیوم‌های هوایی که نشان دهنده‌ی تشکیل هتروکاریون و سازگاری رویشی جدایه‌ها بود، مشاهده شد. جدایه‌هایی که از لحاظ رویشی سازگار بودند، در یک گروه سازگار رویشی قرار گرفتند. نه جدایه از این قارچ از شهرهای بهبهان (چهارجدایه)، گتوند (سه جدایه) و رامهرمز (دو جدایه) خودناسازگار تشخیص داده شدند و جدایه‌های خودسازگار از شهرهای مختلف در ۲۵ گروه سازگار رویشی قرار گرفتند که ۱۳ گروه از آنها تک‌عضوی بودند (شکل۱). گروه‌های سازگار رویشی مشترک بین مناطق مختلف عبارت بودند از: VCG4(شش جدایه) از شوشتر که با VCG5 (چهار جدایه) از رامهرمز مشترک بود. VCG6 (چهار جدایه) از گتوند که با VCG7 (دو جدایه) از رامهرمز مشترک بود. همچنین VCG8 (پنج جدایه)، VCG9 (چهار جدایه)، VCG10 (چهار جدایه) و VCG11 (دو جدایه) که به ترتیب از رامهرمز، گتوند، شوش و بهبهان بودند با هم مشترک بودند. ارتباط بین VCG و منطقه‌ی جغرافیایی در جدول (۱) آمده است.

جدول ۱- ارتباط بین منطقه‌ی جغرافیایی، تعداد VCG و توزیع جدایه‌های *Fusarium solani* در آنها.

منطقه‌ی جغرافیایی	توزیع جدایه‌ها در گروه‌های VCG*
دزفول	۱(۸)
رامهرمز	۲ خودناسازگار، (۱)۵، (۲)۱، (۳)۱، (٤)۱، (۵)۱
بهبهان	٤ خودناسازگار، (۱)٤، (۲)۱
شوش	(۳)۱، (٤)۱
شوشتر	(۱)۲، (٦)۱
گتوند	۳ خودناسازگار، (۱)۲، (۳)۱، (٤)۲

* اعداد داخل پرانتز، نشان‌دهنده‌ی تعداد جدایه‌ها و اعداد بیرون پرانتز، نشان‌دهنده‌ی تعداد VCG می‌باشند.



شکل ۱- **(A)** بوته آلوده در مزرعه و **(B)** ایجاد پوسیدگی ریشه و طوقه‌ی گوجه‌فرنگی در اثر ***Fusarium solani*** .

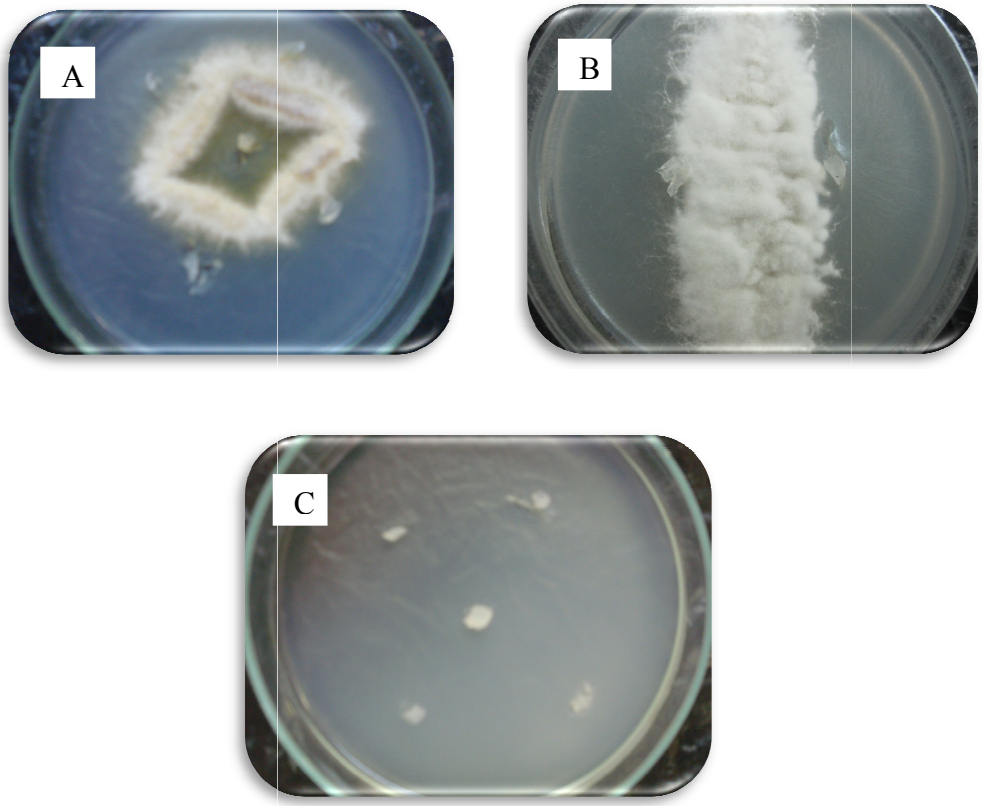
آزمون بیماری‌زایی

به‌علت زیاد بودن جدایه‌های *F. solani*، تعدادی از آنها به‌عنوان نمونه انتخاب شد. از VCG1، VCG2 ، VCG3 و VCG7 که به ترتیب از دزفول، گتوند، رامهرمز و شوش بودند، هر کدام دو جدایه و از VCGهایی که با مناطق دیگر اشتراک داشتند، یک جدایه انتخاب شد. از گروه‌های تک‌عضو که هر کدام از چهار شهر بهبهان، گتوند، رامهرمز و شوش بودند، از هر شهر یک جدایه و از جدایه‌های خودناسازگار که از سه شهر بهبهان، رامهرمز و گتوند بودند، نیز از هر شهر یک جدایه انتخاب شد. درمجموع ۲۳ جدایه برای اثبات بیماری‌زایی استفاده شد. پس از گذشت چهار هفته، شدت بیماری بر اساس وسعت ناحیه‌ی نکروز شده و تغییر رنگ یافته‌ی ریشه و طوقه (پوسیدگی) تعیین شد، نتایج نشان داد تمام جدایه‌های *F. solani* قادر به بیماری‌زایی روی گوجه‌فرنگی بودند. جهت اجرای اصول کخ و اطمینان از اینکه علائم ایجاد شده ناشی از حمله‌ی قارچ مایه‌زنی شده می‌باشد، از قسمت‌های تغییر رنگ یافته ریشه و طوقه، قطعاتی روی محیط کشت انتخابی نش و اسنایدر کشت داده شد و قارچ مایه‌زنی شده، جداسازی گردید. پوسیدگی ریشه و در بعضی موارد طوقه، در گیاهان قابل مشاهده بود و گیاهان علائم زردی و پژمردگی از خود نشان دادند (شکل۲).

بحث

علائم مشاهده شده در آزمایش اثبات بیماری‌زایی گونه‌ی *F. solani* با علائم مشاهده شده در مزرعه و با تحقیقات *چندرا و همکاران* (Chandra *et al*., 1983)، *واودری و پترسون* (Vawdery and Peterson, 1988)، *کوکوزا و همکاران* (Cucuzza *et al*., 1991) و *ولکان و لوری* (Wolcan and Lori, 1993) مطابقت داشت. راندمان تولید موتانت‌های نیت *F. solani* در محیط کشت PDC حاوی ۱/۵، ۳، ۵، ۷، ۸/۵ و ۹ درصد کلرات پتاسیم، صفر بود. از محیط‌کشت MMC حاوی ۱/۵، ۳ و ۵ درصد کلرات پتاسیم نیز هیچ‌گونه موتانت نیتی تولید نشد. در مطالعه‌ی *رامبرگ و دیویس* (Romberg and Davis, 2007) که روی *F. solani* f.sp. *eumartii* صورت گرفت، برای تولید موتانت‌های نیت از محیط کشت PDC حاوی چهار درصد کلرات استفاده شد که این میزان کلرات برای تولید موتانت نیت کافی نبود. به همین دلیل از محیط کشت PDC حاوی کلرات پنج درصد استفاده کردند. اصولاً استرین‌های *F. solani* نسبت به *F. oxysporum* و *F. moniliform* به کلرات مقاوم‌تر می‌باشند. معمولاً رشد جدایه‌های *F. oxysporum* و *F. moniliform* در محیط کشت PDA حاوی ۱۵ گرم در لیتر کلرات پتاسیم محدود می‌شود (Hawthorne and Rees-George, 1996).

راه‌خدایی (۲۰۰۰) نیز با استفاده از محیط‌کشت PDC حاوی ۸۵ گرم کلرات پتاسیم در هر لیتر محیط کشت، موفق به جداسازی موتانت‌های نیت شد. در این تحقیق جدایه‌های *F. solani* در محیط‌کشت زاپک-کلرات حاوی سه درصد کلرات پتاسیم به‌علاوه‌ی رزبنگال، تولید موتانت نیت نکردند. بنابراین از محیط‌کشت زاپک-کلرات پنج درصد استفاده شد که تعداد کافی موتانت نیت از این محیط‌کشت به دست آمد. فراوانی موتانت‌های *nit*1، *nit*3 و *nit*M در این محیط کشت به ترتیب ٦٨٪، ١٨٪ و ١٤٪ بود. بنابراین نتایج این تحقیق نشان داد که در جدایه‌های *F. solani* اکثر موتانت‌ها از نوع موتانت *nit*1 بودند و موتانت‌های *nit*3 و *nit*M به ترتیب از فراوانی کمتری برخوردار بودند، این با نتایج *کارل و همکاران* (Correll *et al*., 1987)، *کلیتیچ و لسلی* (Klitich and Leslie, 1988)، *منزیس و همکاران* (Menzies *et al*., 1990) و *ونتر و همکاران* (Venter *et al*., 1992) هم‌خوانی داشت. به عقیده‌ی *کارل و همکاران*، راندمان تولید موتانت‌های نیت تحت تاثیر عوامل محیطی و گونه‌ی قارچ می‌باشد (Correll *et al*., 1987).



شکل ۲- مکمل‌سازی موتانت‌های نیت. (A) واکنش خودسازگاری در یک جدایه، (B) مکمل‌سازی موتانت‌های جدایه‌های مختلف و (C) واکنش ناسازگاری بین موتانت‌های نیت جدایه‌های مختلف.

در این تحقیق از بعضی جدایه‌های *F. solani* موتانت نیتی حاصل نشد که این مورد در مطالعات *راه‌خدایی* (۲۰۰۰) روی *F. solani*، عامل پوسیدگی خشک و پژمردگی سیب‌زمینی نیز مشاهده شده است. همچنین در این تحقیق علی‌رغم تلاش زیاد، در بعضی از جدایه‌ها، همه‌ی موتانت‌های نیت به‌دست آمده، *nit*1 بودند که این نتیجه نیز با تحقیق *رامبرگ و دیویس* (۲۰۰۷) مطابقت دارد. در این تحقیق بعضی از جدایه‌های *F. solani* خودناسازگار تشخیص داده شدند. *هاوترن و ریس‌جرج* (Hawthorne and Rees-George, 1996) مشاهده کردند که در بین جدایه‌های مختلف *F. solani*، تعداد زیادی جدایه خودناسازگار وجود دارد، به طوری که تعداد آنها، یک چهارم جدایه‌های خودسازگار بود. در این مطالعه بین شدت بیماری‌زایی و گروه‌های سازگار رویشی رابطه‌ای مشاهده نشد که با مطالعه *رئوفی و همکاران* (۲۰۰٤) مطابقت دارد؛ یعنی در بین اعضای یک VCG از نظر شدت بیماری‌زایی تفاوت وجود داشت که این تفاوت‌ها ممکن است به علت وقوع جهش در ژنگاه (یا ژنگاه‌های) مربوط به بیماری‌زایی گونه *F. solani* باشد. داشتن فرم جنسی، وقوع تقسیم میوز و احتمال ایجاد افراد نوترکیب از راه کراسینگ آور، دلیل دیگر این گونه جهش‌ها است. این جهش (جهش‌ها) باعث قطع ارتباط بین ژنگاه‌های بیماری‌زایی و ژنگاه‌های مربوط به سازگار رویشی می‌گردد. بین VCG و مناطق جغرافیایی محل جمع‌آوری جدایه‌ها نیز همبستگی مشاهده نشد که با یافته‌های *محمدی و نورس مفرد* (۲۰۰۹) همخوانی دارد. کشف جدایه‌ها در گروه‌های سازگار رویشی یکسان از منابع مختلف، نشان‌دهنده‌ی هموژن بودن جدایه‌هایی است که در مناطق اکولوژیکی مختلفی پراکنده‌اند (Chen and Swart, 2001).

همان‌طور که اشاره شد، در این مطالعه ۲۵ گروه VCG از قارچ *F. solani* گزارش گردیده که نشان‌دهنده‌ی تنوع ژنتیکی بالای این گونه می‌باشد و باید عوامل تاثیرگذار بر آن مورد بررسی قرار گیرد. عواملی چون بروز جهش‌های احتمالی و تولیدمثل جنسی نقش مهمی در ایجاد تنوع دارد و به‌دلیل مشاهده تنوع بالا درون برخی از جمعیت‌های قارچ مذکور، بررسی‌های دقیق‌تری در ارتباط با تنوع ژنتیکی آن، مثلاً با استفاده از نشانگرهای مولکولی، باید مورد توجه قرار گیرد. احتمال وجود چندین گونه در گونه‌ی ترکیبی[1] *F. solani* نیز باید بررسی گردد.

[1] Complex

References:

1. Booth C. 1971. The Genus *Fusarium*. Survey, UK: Commonwealth of Mycological Institute. 237 p.
2. Burgess LW, Summerell BA, Bullock S, Gott K and Backhouse D. 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* Research. 3rd ed. Sydney: University of Sydney. 134 p.
3. Chandra S, Raizada M and Gaur A K S. 1983. Pathological variability in *Fusarium oxysporum* and *F. solani*. Indian Phytopatholoy 36: 36–40.
4. Chen W and Swart W. 2001. Genetic variation among *Fusarium oxysporum* isolates associated with root rot of *Amaranthus hybridus* in South Africa. Plant Disease 85: 1076–1080.
5. 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.
6. Correll J C, Puhala J E and Schneider RW. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *appi* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. Phytopathology 76: 396–400.
7. Cucuzza J D, Watterson J C and Bernhardt E A. 1991. Foot rot of tomato caused by *Fusarium solani* in California. Plant Disease 76: 101.
8. Dhingra O D and Sinclair J B. 1987. Basic Plant Pathology Methods. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press. 355 p.
9. Elmer W H and Stephens C T.1989. Classification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi* into vegetative compatible groups. Phytopathology 79: 88–93.
10. Hawthorn 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 populations I, V, and VI. Mycological Research 100: 1075–1081.
11. Kistler H C. 1997. Genetic diversity in the plant pathogenic fungus, *Fusarium oxysporum*. Phythopathology 87: 474–479.
12. Klittich C J R and Leslie J F. 1988. Nitrate reduction mutants of *Fusarium moniliform* (*Gibberella fujikuroi*). Genetics 118: 417–423.
13. Leslie J F. 1993. Fungal vegetative compatibility. Annual Review of Phytopathology 31: 127–150.
14. McDonald B. 1997. The population genetics of fungi: tools and techniques. Phytopathology 87: 448–453.
15. Menzies J G, Koch C and Seywerd F. 1990. Additions to the host range of *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-lycopersici*. Plant Disease 74: 569–572.
16. Mohammadi A and Nooras Mofrad N. 2009. Genetic diversity in population of *Fusarium solani* from cumin in Iran. Journal of Plant Protection Research 49: 283–286.
17. Nash, SM and Snyder WC. 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot Fusarium in field soils. Phytopathology 52: 567–572.
18. Nelson P E, Toussoun TA and Marasas W F D. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania, USA: Pennsylvania State University Press. 193 p.
19. Ommati F and Ershad J. 2004. Identification of fungal agents of tomato wilting from nurseries and field of Semnan province. Paper presented at: 16th Iranian Plant Protection Congress; August 28–September 1; Tabriz, Iran.
20. Puhalla J E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. Canadian Journal of Botany 63: 179–183.

21. Rahkhodaei E. 2000. Vegetative compatibility groups and pathogenicity of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* from potato in Fars and Khuzestan Provinces [Msc] [Ahvaz, Iran]. Shahid Chamran University. 108 p.
22. Raouffi M, Farrokhi Nejad R and Mahmoudi S B. 2004. Population genetic diversity of *Fusarium solani* the causal agent of sugar beet root rot, using vegetative compatibility groups (VCGs) and its relationship to virulence of isolates. Sugar Beet 201: 39–53.
23. Romberg M K and Davis R M. 2007. Host range and phylogeny of *Fusarium solani* f.sp. *eumartii* from potato and tomato in California. Plant Disease 91: 585–592.
24. Sidhu G F and Webster J M. 1979. A study of heterokaryosis and its influence on virulence in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Canadian Journal of Botany 57: 548–555.
25. Vawdrey L L and Peterson R A. 1988. *Fusarium solani,* cause of foot rot of tomatoes in central Queensland. Australasian Plant Pathology 17: 24–25.
26. Venter SL, Theron DJ, Steyn PJ, Ferreira DI and Eicker A.1992. Relationship between vegetative compatibility and pathogenecity of isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *tuberosi* from potato. Phytopathology 82: 858–862.
27. Viani A, Alizadeh A, Babadoost M and Pieghami E. 2008. Investigation on *Fusarium* diseases of tomatoes in East Azarbaijan. Journal of Agricultural Science and Natural Resources 145: 192–206.
28. Wolcan S M and Lori G A. 1993. Tomato foot rot caused by *Fusarium solani*. Review of Plant Pathology 72: 21–93.
29. Woo SL, Zoina A, Delsorbo G, Lorito M, Nanni B, Scala F and Novielo C. 1996. Characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* by pathogenic races, VCG, RLFP, and RAPD. Phytopathology 86: 966–973.