



تعیین گروه‌های سازگاری رویشی *Fusarium oxysporum* عامل پژمردگی موز در بلوچستان^۱

مجید امانی

دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات تهران

حمید رضا زمانی زاده

دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات تهران

نادر حسن زاده

دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات تهران

ابراهیم سابکی

محقق مرکز تحقیقات کشاورزی ایرانشهر (بلوچستان)

سعید رضائی

مری گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

در این تحقیق گروه‌های سازگاری رویشی [vegetative compatibility groups (VCGs)] ۲۴ جدایه *Fusarium oxysporum* که از پاجوش‌های آلوده موز هشت منطقه بلوچستان (عورکی، باهوکلان، دشتیاری، راسک، شیرگواز، کهیر، گودن و چابهار) جمع‌آوری شده بود با استفاده از جهش‌یافتگان نیت [nitrate non-utilizing(nit) mutants] مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع از ۲۴ جدایه مورد آزمایش ۲۳۰ جهش یافته نیت به دست آمد که کلاس فنوتیپی آنها با استفاده از محیط‌های نیت‌رات سدیم، نیت‌ریت سدیم، هیپوزانتین، تارتارات آمونیوم و اسید اوریک تعیین گردید. بر این اساس ۶۸٪ از جهش‌یافتگان نیت در کلاس فنوتیپی nit 1، ۱۸٪ در کلاس فنوتیپی nit 3 و ۱۴٪ آنها در کلاس فنوتیپی Nit M قرار گرفتند. برای انجام آزمون‌های مکمل‌سازی (complementation tests) و تعیین گروه‌های سازگاری رویشی (VCGs)، بین کلیه جهش‌یافتگان Nit M با جهش‌یافتگان nit 1 و یا nit 3 مقابله گردید. تشکیل هتروکاریون‌های پروتوتروف در حد فاصله پرگنه‌های سازگار Nit M با nit 1 و nit 3 به صورت خط رشدی متراکم میسلیمها در مدت ۷-۱۴ روز ظاهر شد. جدایه‌های مورد آزمایش در این تحقیق در ۲ گروه سازگاری رویشی قرار گرفتند و بر این اساس ۱۵ جدایه در گروه VCG a و ۹ جدایه در گروه VCG b جای گرفتند.

واژه‌های کلیدی: گروه‌های سازگاری رویشی، فوزاریوم، موز، بلوچستان

۱ خلاصه فسمتی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به واحد علوم و تحقیقات تهران

مقدمه:

تعیین گروه‌های سازگاری رویشی [vegetative compatibility groups (VCGs)] روش مناسبی برای شناسایی و تفکیک فرم‌های اختصاصی *Fusarium oxysporum* می‌باشد که به عنوان ابزار اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها در سال‌های اخیر گسترش یافته است (ناصری و همکاران، ۱۳۷۹). در این روش قارچها بر اساس ژنتیک و نه بر همکنش میزبان - پاتوژن به زیر گروه‌هایی تفکیک می‌شوند (Correll 1991). مفیدترین کاربرد سازگاری رویشی (VCG) برای بیماری‌شناسان گیاهی، امکان استفاده از آن به عنوان یک ابزار تشخیصی می‌باشد. جدایه‌هایی که در یک گروه بیماریزا مثل نژاد یا فرم اختصاصی قرار دارند، در یک یا تعداد محدودی گروه سازگاری رویشی قرار می‌گیرند و عامل بیماری از طریق قرار گرفتن در گروه خاصی از VCG، تشخیص داده می‌شود (Puhalla 1985).

به دلیل اینکه واکنش‌های سازگاری یا ناسازگاری بین جدایه‌ها به صورت ظاهری قابل مشاهده نیست، موتانت‌های نیت که قادر به مصرف نیترا ت نمی‌باشند، جهت تشخیص گروه‌های سازگاری رویشی معرفی شده‌اند. بنابراین یک روش برای تشخیص تشکیل هتروکاریون پایدار، استفاده از نشانگرهای ژنتیکی مثل موتانت‌ها می‌باشد. پوهالا (Puhalla 1991) روش‌های ارائه شده توسط کوو (Cove 1976) برای بررسی سازگاری رویشی *Aspergillus nidulans* را با *F. oxysporum* مطابقت داده و با بکارگیری ۱/۵ تا ۳ درصد نمک کلرات پتاسیم ($KClO_3$) در محیط کشت ۲۱ جدایه *F. oxysporum*، موفق به بازیابی موتانت‌هایی شد که توانایی استفاده از نیتروژن را نداشتند. این موتانت‌ها که جهش یافتگان نیت نامیده می‌شوند، به صورت قطعات‌هایی مقاوم به کلرات در محیط‌های کشت کلرات‌دار قابل جداسازی می‌باشند سرپله و همکاران، (Cove, 1976, 1379). جهت شناسایی جهش یافتگان نیت، آنها را به محیط کشت حداقل (Minimal Medium = MM) که فقط دارای نیترا ت به عنوان تنها منبع نیتروژن می‌باشد، منتقل می‌نمایند. جهش یافته در این محیط به دلیل عدم توانایی مصرف نیترا ت رشدی ضعیف، گسترده، بدون اسپور و میسلیوم هوایی از خود نشان می‌دهد. پوهالا (Puhalla 1985) دو جهش یافته نیت را که می‌توانستند با یکدیگر هتروکاریون تشکیل دهند، Nit B و Nit A نامید. کارل و همکاران (Correll et al. 1987) کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت حاصل از جدایه‌های *F. oxysporum* را تعیین کردند.

پوهالا (Puhalla 1985) متوجه شد که بین گروه‌های سازگاری رویشی و فرم‌های اختصاصی ۲۱ جدایه *F. oxysporum* ارتباط وجود داشته و اعضای یک گروه VCG متعلق به یک فرم اختصاصی هستند.

پلاتز و کارل (Ploetz & Correll 1988) در کالیفرنیا از مجموع ۹۶ جدایه مربوط به *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* (FOC)، دو گروه سازگاری رویشی تشخیص دادند که متعلق به نژادهای ۱، ۲، ۴ و نا مشخص بوده، و شامل ۱۱ VCG بودند. بر اساس گزارش پلاتز و همکاران (Ploetz 1990, Ploetz et al. 1997) دو گروه سازگاری رویشی مربوط به ۱۶ VCG گزارش شده است. طبق گزارش بوهم و همکاران (Boehm et al. 1994) تاکنون نیز همین دو گروه سازگاری رویشی در این فرم اختصاصی گزارش شده است که بنتلی و همکاران (Bently et al. 1998) این دو گروه بزرگ را به زیر گروه‌های 1-A، 1-B، 1-C، 2-A و 2-B تقسیم‌بندی کردند.

هدف از این تحقیق بررسی میزان تنوع ژنتیکی و تعیین گروه‌های سازگاری رویشی (VCG) جدایه‌های *F. oxysporum* عامل بیماری مهم پژمردگی فوزاریومی موز جمع‌آوری شده از مناطق آلوده استان سیستان و بلوچستان می‌باشد. با توجه به سابقه کشت موز در منطقه و ارتباط بین کشاورزان بومی با مردم پاکستان احتمال می‌رود که قارچ عامل بیماری از طریق ورود غیر قانونی نهال، ریزوم و پاجوش‌های خریداری شده از پاکستان وارد کشور و منطقه شده باشد.

روش بررسی**۱- نمونه برداری و جداسازی**

نمونه برداری در طول بهار و تابستان سالهای ۱۳۷۸ و ۱۳۷۹ از باغهای موز صورت گرفت. برای جداسازی و خالص سازی نمودن جدایه‌ها، از محیطهای کشت PDA، WA (آب - آگار) دو درصد، Nash & Snyder و SNA (Gerlach & Nirenberg 1982) استفاده شد. خالص سازی جدایه‌ها در محیط کشت WA دو درصد و با روش تک اسپور (Booth 1971) و نوک ریشه (Nelson et al. 1983) انجام گردید.

شناسایی و تشخیص جدایه‌ها، براساس رنگ، شکل پرگنه و ویژگی‌های ماکروکنیدیوم، وجود یا عدم وجود میکروکنیدیوم، نوع فیالید، وجود یا عدم وجود کلامیدوسپور صورت گرفت (Windles 1992; Gerlach & Nirenberg 1982; Nelson et al. 1983; Booth 1971).

۲- آزمون بیماریزایی

جدایه‌های *F. oxysporum* روی رقم هاریچال به روش تزریق مایه قارچ به نهالهای موز (Brands 1919; Windles 1992) مایه‌زنی شدند. در نهالهای شاهد به جای سوسپانسیون اسپور از آب مقطر استریل استفاده گردید. نهالهای مایه‌زنی شده در شرایط گلخانه Mist ایستگاه تحقیقات میوه‌های گرمسیری باهوکلالت نگهداری شدند. علائم بیماری در ریزوم و علائم پژمردگی در اندامهای هوایی بعد از مایه‌زنی مورد بازدید و بررسی قرار گرفته و پس از ۲ ماه ثبت شد. قارچ عامل بیماری مجدداً از نهالهای مایه‌زنی شده جداسازی گردید.

۳- جداسازی موتانت‌های نیت (*nit mutants*)

از کشت‌های خالص هر جدایه در محیط PDA، قطعات کوچک ۲ میلیمتری تهیه و به محیط کشت حداقل (Minimal medium = MM) (Correll et al. 1987) منتقل گردید و در 25°C نگهداری شدند. با گذشت یک هفته قطعات کوچکی به قطر ۲ میلیمتر به محیطهای کشت حاوی کلرات پتاسیم (Minimal medium + Chlorate = MMC) و (PDA + Chlorate = PDC) تهیه شده به روش کارل و همکاران (Correll et al. 1987) و پوهالا (Puhalla 1985) منتقل گردید. سکتورهای سریع‌الرشد (موتانت‌های نیت) در شرایط 25°C پس از ۱۴ روز به دست آمدند. جهت شناسایی سکتورهای نیت، قطعات ۲ میلیمتری از سکتورهای تولید شده در محیطهای کشت MMC و PDC به محیط کشت MM انتقال داده شدند. محیطها ۴-۵ روز در دمای 25°C نگهداری گردیدند (Puhalla 1985). موتانت‌ها در روی این محیط کشت رشدی ظریف، گسترده، بدون اسپور و ریشه هوایی ایجاد کردند زیرا قادر به مصرف نیترات (تنها منبع نیتروژن محیط کشت MM) نبودند. بدین ترتیب موتانت‌های نیت شناسایی شده با این روش، جهت ادامه تحقیق وارد مرحله بعدی شدند (Correll et al. 1987).

۴- تعیین کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت

برای تعیین کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت (Nit M و nit 3, nit 1) از محیط کشت MM پنج قطعه یک میلیمتری به ترتیب روی محیطهایی که دارای یکی از پنج منبع نیتروژن یعنی نیترات سدیم، نیتريت سدیم، هیپوزانتین، تارتارات آمونیوم و اسید اوریک بود، منتقل گردید و در دمای 25°C به مدت ۴ روز نگهداری شدند. کلاس فنوتیپی موتانت‌های نیت براساس شکل پرگنه روی محیطهای کشت فوق‌الذکر به کمک جدول (۱) تعیین گردید و هر کدام در یکی از سه گروه (Nit M و nit 3, nit 1) قرار گرفتند (Correll et al. 1987).

جدول ۱- تعیین کلاس فنوتیپی موتانت‌های nit بر حسب نوع رشد در منابع مختلف نیتروژن (Correll et al. 1987)

نوع رشد روی منابع مختلف ازت						نوع جهش
فنونتیپ	نیترات سدیم	نیتريت سدیم	هیپوزانتین	تارتارات آمونیوم	اسید اوریک	
بدون جهش	تیپ والد	+	+	+	+	
جایگاه ژنی آنزیم نیترات ریدوکتاز	nit 1	-	+	+	+	
جایگاه ژنی آنزیم تنظیم کننده مسیر						
احیاء نیترات جایگاه تنظیم ژنی	nit 3	-	-	+	+	
کوفاکتور مولیبدن	Nit M	-	+	-	+	

+ = Wild type growth on related media
- = Thin growth without aerial mycelium

+ = رشد تیپ وحشی روی محیط کشت‌های مربوطه
- = رشد نازک بدون ریسبه هوایی روی محیط کشت‌های مربوطه

۵- آزمون مکمل‌سازی موتانت‌های نیت و تعیین گروه‌های سازگاری رویشی (VCG)

برای تعیین گروه‌های سازگاری رویشی موتانت‌های nit، کلیه مقابله‌های احتمالی بین آنها روی محیط MM انجام شد. در هر تشتک پتری حاوی محیط MM، قطعات ۲ میلی‌متری از Nit M هر یک از جدایه‌ها در وسط تشتک پتری و تا هشت موتانت nit 1 و یا nit 3 در اطراف آنها قرار داده شدند. بدین ترتیب برای ۲۴ جدایه مورد آزمایش، Nit M هر جدایه در مقابل nit 1 و یا nit 3 تعداد ۲۳ جدایه دیگر قرار گرفت. جهت شناسایی جدایه‌های خود ناسازگار رویشی (vegetative self - incompatible) در بین کلیه جدایه‌ها، Nit M هر جدایه نیز در برابر nit 1 و یا nit 3 همان جدایه قرار داده شد. سپس تشتک‌های پتری به مدت ۷-۱۴ روز جهت رشد پرگنه‌های nit و تشکیل یا عدم تشکیل هتروکاریون در دمای ۲۵°C نگهداری شدند.

نتیجه

۱- جداسازی و تشخیص *F. oxysporum*

از کشت بافت‌های آلوده موز روی WA و PAD، پرگنه‌هایی با رشد پنبه‌ای سفید رنگ و صورتی حاصل شدند که پس از بررسی میکروسکوپی ماکروکنیدیوم‌ها، میکروکنیدیوم‌ها، فیالیدها و کلامیدوسپورها (Booth 1971; Nelson et al. 1983; Gerlach & Nirenberg 1982; Windles 1992) به عنوان *F. oxysporum* تشخیص داده شدند.

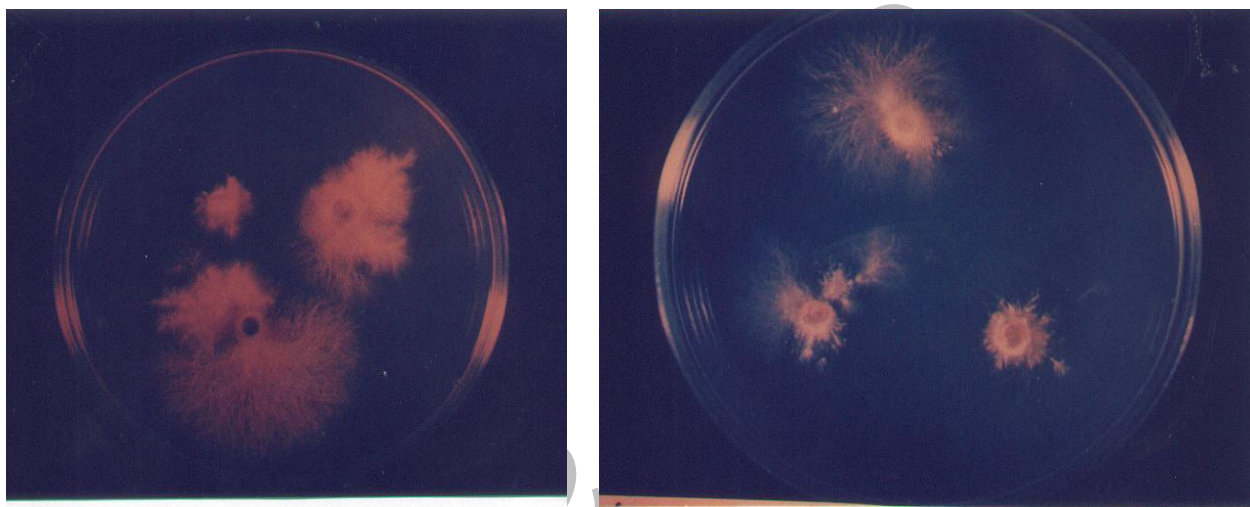
جمعاً ۲۴ جدایه به دست آمد که همگی علائم پژمردگی ایجاد می‌نمودند. تعداد ۹ جدایه از کهیر، ۶ جدایه از گودن، ۴ جدایه از عورکی، ۳ جدایه از شیرگواز، ۱ جدایه از باهوکلالت و ۱ جدایه از دشتیاری جداسازی و شناسایی گردید.

۲- بیماریزایی جدایه‌های *F. oxysporum*

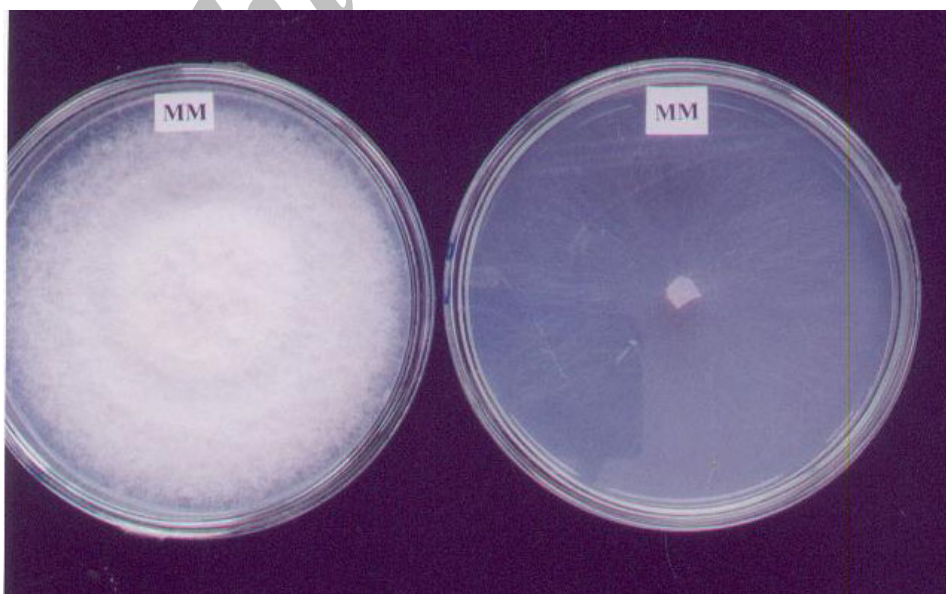
در این تحقیق، جدایه‌های به دست آمده از نظر توانایی بیماریزایی با یکدیگر مقایسه شدند. مایه‌زنی با تزریق سوسپانسیون اسپور با غلظت ۱۰^۶ اسپور در یک میلی‌لیتر روی بوته‌های موز حاصل از کشت بافت انجام گردید. کلیه جدایه‌ها ۲ ماه پس از مایه‌زنی علائم پژمردگی ایجاد نمودند. در پاجوشهای شاهد که فقط به آنها آب مقطر استریل تزریق شده بود، علائم بیماری بروز نکرد و پس از کشت مجدد قارچی جدا نگردید ولی از کشت مجدد بافتهای آوندی پاجوشهای مایه‌زنی شده روی PDA عامل بیماری جداسازی و شناسایی گردید.

۳- جداسازی موتانت‌های nit

سکتورهای مقاوم به کلرات روی محیط‌های حاوی ۳-۴/۵ درصد کلرات پتاسیم (MMC و PDC) ۷-۱۰ روز بعد از نگهداری در دمای ۲۵° C تولید شدند (شکل ۱). ۹۷/۶ درصد از سکتورهای ایجاد شده قادر به مصرف نیتрат نبوده و روی محیط کشت حداقل (MM) به صورت نازک و بدون ریشه هوایی رشد کردند (شکل ۲) و به عنوان موتانت nit در نظر گرفته شدند. فراوانی تولید سکتور در محیط کلرات و نسبت فنوتیپ‌های موتانت‌های nit، در بین ۲۴ جدایه متفاوت بود و در کل ۲۳۰ موتانت nit بدست آمد. ۷۱/۵ درصد از موتانت‌ها در محیط کشت PDC (KPS) و ۲۸/۵ درصد آنها در محیط کشت (KMM) جداسازی شدند. ۲/۴ درصد از جدایه‌ها روی محیط کشت MM رشد تیپ وحشی از خود نشان دادند و از ادامه تحقیق حذف شدند.



شکل ۱ (a, b) - تشکیل موتانت‌های نیت روی محیط کشت KMM.
Fig. 1. Growing nit mutants on KMM.



شکل ۲ - رشد تیپ وحشی (A) و رشد ظریف و بدون ریشه هوایی موتانت نیت (B) روی محیط کشت MM.
Fig. 2. Wild type growth (A) & thin growth without aerial mycelium nit mutant (B) on MM.

۴- کلاس فنوتیپی موتانت‌های nit

تمام موتانت‌های نیت به دست آمده از ۲۴ جدایه *F. oxysporum*، بر اساس مرفولوژی پرگنه روی محیط‌های دارای یکی از منابع نیتروژن (نیترات سدیم، نیتريت سدیم، هیپوزانتین، تارتارات آمونیوم و اسید اوریک)، در یکی از سه کلاس فنوتیپی nit 1، nit 3 و Nit M قرار گرفتند (شکل ۳). اکثر موتانت‌های نیت جزء nit 1 بوده و تعداد آنها روی محیط کشت PDC بیشتر از محیط کشت KMM بوده است و بر عکس تعداد nit 3 و Nit M در محیط کشت KMM بیشتر بودند. همچنین تعداد nit 3 بیشتر از Nit M بود.



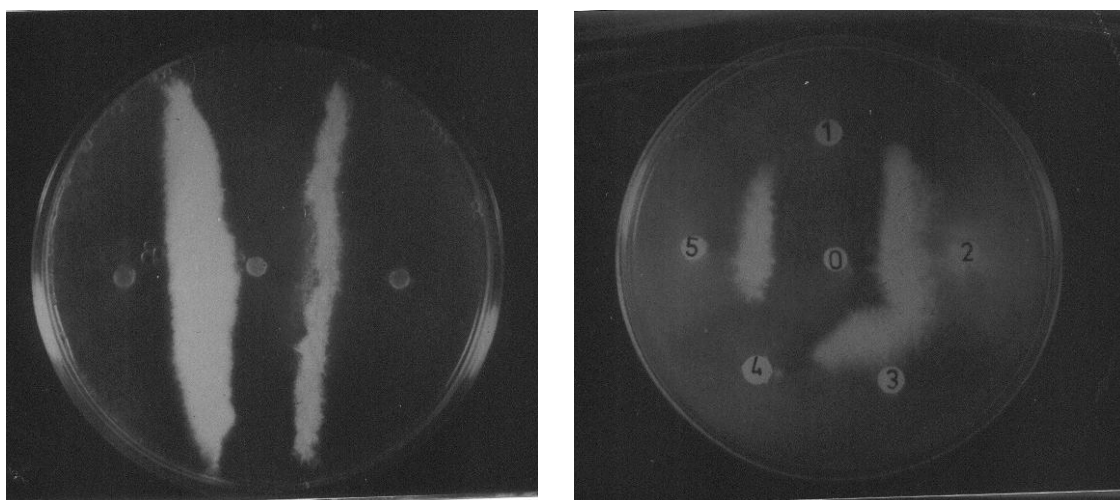
شکل ۳- تعیین فنوتیپ جدایه‌ها روی محیط کشت نیترات سدیم.

Fig. 3. Determination of phenotypes of isolates on Nitrate medium.

۵- آزمون مکمل‌سازی موتانت‌های nit و تعیین گروه‌های سازگاری رویشی (VCG)

در ۴-۵ روز اولیه کلنی‌های قارچ رشدی ظریف و بدون ریشه هوایی داشتند. پس از این مدت در محل بر خورد کلنی‌ها، آناستوموز بین موتانت‌های نیت اگزوتروف و هتروکاریون ایجاد گردید و رشد تیپ وحشی از خود نشان دادند. پس از ۱۴ روز خطی از رشد متراکم ریشه‌های هوایی در محل برخورد کلنی‌ها مشاهده شد (شکل ۴). این پدیده نشان دهنده سازگاری رویشی جدایه‌های مربوط به این موتانت‌های نیت است.

هنگامی که در آزمون مکمل‌سازی فیزیولوژیک، NitM یکی از دو عضو موتانت نیت بود تشکیل هتروکاریون و رشد متراکم قارچ به سرعت انجام می‌شد. در حالی که در دو فنوتیپ nit 1 و nit 3 دو جدایه سازگار این پدیده به کندی صورت می‌گرفت و در ۲۱ روز اول بسیار ضعیف بود. در برخی از موارد حتی پس از ۴ هفته هیچ واکنش سازگاری رویشی مشاهده نشد. کلیه جدایه‌هایی که با هم سازگاری رویشی داشتند در یک گروه VCG قرار گرفتند. در مجموع دو گروه سازگاری رویشی در بین ۲۴ جدایه *F. oxysporum* جمع‌آوری شده از مناطق موزکاری بلوچستان شناسایی گردید (جدول ۲). در گروه اول یا VCG a تعداد ۱۵ جدایه و در گروه دوم یا VCG b تعداد ۹ جدایه قرار گرفت. اعضای VCG a همگی از موزکاریهای کهیر و گودن جمع‌آوری شده بودند. در VCG b ۹ جدایه، یکی از موزکاری باهوکلالت، سه جدایه از شیرگواز، چهار جدایه از عورکی و یک جدایه از دشتیاری جمع‌آوری شده بود.



شکل ۴- تشکیل هتروکاریون و خط رشدی بین جدایه‌های سازگار.

Fig. 4. Formation of heterokaryon and line of dense growth between compatible isolates.

جدول ۲- گروه‌های سازگار رویشی جدایه‌های *Fusarium oxysporum* جدا شده از موز

Table 4. Vegetative compatibility groups (VCG) *Fusarium oxysporum* isolates from Banana

VCG b	VCG a
کهیر (۹ جدایه)	باهوکلات (یک جدایه)، شیرگواز (۳ جدایه)
گودن (۶ جدایه)	عورکی (۴ جدایه)، دشتیاری (یک جدایه)

بحث

در این تحقیق گروه‌های سازگاری رویشی ۲۴ جدایه قارچ *F. oxysporum* عامل پژمردگی موز جمع‌آوری شده از پاجوشهای آلوده منطقه بلوچستان با بکارگیری محیط‌های حاوی کلرات (PDC و MMC) تعیین گردید و در کل ۲ گروه سازگاری رویشی VCG مشخص شد.

در این بررسی راندمان سکتوردهی روی محیط‌های MMC و PDC به ترتیب ۲۸/۵ و ۷۱/۵ درصد بود. سکتوردهی تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی مثل میزان تغذیه و دما (Correll et al. 1987)، رشد روی محیط سمی (Klittich & Leslie 1988; Correll & Lesli, 1987) و تحت کنترل ژنتیکی است (Klittich et al., 1988).

موتانت‌های نیت به دست آمده در این تحقیق در سه کلاس فنوتیپی nit 1، nit 3 و Nit M قرار گرفتند. موتانت‌های nit 1 فراوانی بیشتری نسبت به nit 3 و Nit M داشتند. به اعتقاد کاو (Cove, 1976) منبع نیتروژن مورد استفاده در محیط حاوی کلرات نسبت فراوانی موتانت‌های nit را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

پس از اینکه فنوتیپ‌های فیزیولوژیکی موتانت‌های nit در این مطالعه مشخص شد، یک Nit M به عنوان تستر (Tester) در تمام آزمون‌های مکمل‌سازی استفاده گردید و بر اساس روش پلاتز و همکاران (Ploetz et al., 1988) Nit M، در تمام جدایه‌ها شناسایی شد. بهترین محیط کشت برای تولید موتانت‌های Nit M محیط کشت KMM (MMC) بود.

با مکمل‌سازی موتانت‌های نیت ۲۴ جدایه *F. oxysporum* جدا شده از موز، هر سویه به یک VCG ربط داده شد و به این ترتیب ۲ گروه سازگاری رویشی VCG شناخته شد. تنوع گروه‌های سازگاری رویشی در *F. oxysporum* کمتر از قارچ‌هایی نظیر *Neurospora crassa* که تولید مثل جنسی دارند، می‌باشد (Puhalla 1985).

پوهالا در سال ۱۹۸۵ گزارش کرده است که بین فرم‌های اختصاصی و VCG ارتباطی وجود دارد و تمام اعضاء مربوط به یک VCG متعلق به فرم اختصاصی خاصی بوده و سویه‌های مرتبط به فرم‌های اختصاصی مختلف در گروه‌های سازگاری روبشی متفاوت قرار می‌گیرند.

پلاتز و کارل (Ploetz & Correll et al. 1988) گزارش داده‌اند که بین VCG و نژادهای قارچ *F. oxysporum f. sp. Cubense* ارتباط نزدیکی وجود داشته و نژادهای آن در گروه‌های سازگاری روبشی (VCGs) مختلف قرار می‌گیرند و شامل نژادهای ۱، ۲، ۳ و ۴ می‌باشد.

در این تحقیق جدایه‌های *F. oxysporum* جدا شده از موز در VCG X قرار گرفتند. البته اثبات ارتباط بین VCG و بیماریزایی و پاتوتیپ نیازمند آزمون‌ها و تحقیقات بیشتری است. این نتایج امکان استفاده از VCG را به عنوان ابزار مفید در آزمون‌های تلقیح گلخانه ای - زراعی فراهم می‌آورد.

اگر چه تعداد نمونه‌های مورد بررسی برای یک نتیجه‌گیری کلی در یک منطقه جغرافیایی به وسعت سیستان و بلوچستان بسیار کم است، ولی با این وجود تقریباً ارتباط بین بیماریزایی جدایه‌ها، VCG و فرم اختصاصی را به خوبی نشان می‌دهد. این مشاهدات بر پایه تعداد کمی جدایه بوده و برای نتیجه‌گیری‌های دقیق‌تر لازم است که تحقیقات بیشتری انجام گیرد و خصوصیات VCG بیشتر شناخته شود. از آنجا که ارتباط بین پژمردگی و VCG به اثبات رسیده است، سازگاری روبشی می‌تواند گیاهی که می‌خواهند در جهت تشخیص جدایه‌های *F. oxysporum f. sp. cubense* مفید واقع شود.

منابع و مأخذ:

- ۱- امانی، مجید. زمانی زاده، حسن زاده، نادر، سابکی ابراهیم و سعید رضائی. ۱۳۸۰. شناسایی و پراکندگی عامل بیماری پژمردگی موز در بلوچستان. پایان نامه کارشناسی ارشد.
- ۲- سرپله، ابوالفضل و بنی‌هاشمی، ضیاءالدین. ۱۳۷۹. گروه‌های سازگاری روبشی نژادهای *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* در ایران و سایر جدایه‌های *F. oxysporum* از اراضی بکر و زراعی منطقه مهارلوی فارس. مجله بیماری‌های گیاهی، شماره ۱ و ۲ جلد ۳۶.
- ۳- ناصری، بیتا. علیزاده، عزیزاله. سعیدی، عباس و صفایی، ناصر. ۱۳۷۹. بررسی تنوع جمعیت در قارچ *Fusarium graminearum* با استفاده از گروه‌های سازگاری روبشی (VCGs) و رابطه آن با بیماریزایی نسبی جدایه‌ها. مجله بیماری‌های گیاهی، شماره ۳ و ۴ جلد ۳۶.
- 4- Bently, S. Pegg, K. G., Moor, N. Y., Davis, R. D. and Buddenhagen, I. W. 1998. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *F. oxysporum f. sp. Cubense* analysed by DNA fingerprinting. *Phytopathol.* 88, 1283-1293.
- 5- Boehm, E. W. A., Ploetz, R. C. and Kistler, H. C. 1994. Statistical analysis of electrophoretic karyotype variation among vegetative compatibility groups of *F. oxysporum f. sp. Cubense*. *Molecular plant-microbe Interactions* 7, 196-207.
- 6- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycology Institute. Kew. Surrey. UK. 237.
- 7- Brandes, E. W. 1919. Banana wilt. *Phytopathology* 9, 339-89.
- 8- Correll, J. C. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *F. oxysporum*. *Phytopathology* 81:1061-1064.
- 9- Correll, J. C., Klittich, C. J. R. and Leslie, J. F. 1987. Nitrate-nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathol.* 77, 1640-1646.

- 10-Correll, J. C. and Leslie, J. F. 1987. Genetic diversity in the Panama disease pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*, determined by vegetative compatibility. *Mycol. Soc. Am. Newsl.* 38,22.
- 11-Cove, D. J. 1976. Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*: the selection and characterization of chlorate resistant mutants. *Heredity* 36, 191-203.
- 12-Gerlach, W. and Nierenberg, H. 1982. The Genus *Fusarium*. A pictorial atlas. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Farstwirtschaft, Berl-Dahlem.* 209, 1-406.
- 13-Klittich, C. J. R., Correll, J.C. and Leslie, J. F. 1988. Inheritance of sectoring frequency in *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). *Experimental mycology.* 12: 289-294.
- 14-Klittich, C. J. R. and Leslie, J. F. 1988. Nitrate reduction mutants of *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). *Genetics* 118, 417-423.
- 15-Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium species : An Illustrated Manual for identification.* Pennsylvania State university Press, University Park. 193 p.
- 16-Ploetz, R. C. 1990. Population biology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*. In: Ploetz, R. C. (ed.) *Fusarium wilt of banana.* APS Press, StPaul, Minnesota, USA, pp.63-76.
- 17-Ploetz, R. C. and Correll, J. C. 1988. Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*. *Plant Dis.* 72, 325-328.
- 18-Ploetz, R. C. and Pegg, K. G. 1997. *Fusarium* wilt of banana and Wallace's line: was the disease originally restricted to the Indo-Malayan region? *Australasian plant pathology* 26, 239-249.
- 19-Puhalla, J. E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63, 179-183.
- 20-Windles, C. E. 1992. Current status of *Fusarium* taxonomy. *Phytopathol.* 81, 1048-1051.

Archive of SID

Vegetative Compatibility Groups (VCGs) of *Fusarium oxysporum*, the Causal Agent of Banana Wilt in Balochestan Province

M. Amani

Islamic Azad University

H.R. Zamanizadeh

Assoc. Professor of Plant Pathology Science and Research Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran.

N. Hssanzadeh

Assoc. Professor of Plant Pathology Science and Research Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran.

E. Saboki

Agriculture Research Center, Balochestan

S. Rezaii

Instructor of Plant Pathology, Science and Research Branch Islamic Azad University

Abstract

In present investigation, vegetative compatibility groups (VCGs) of 24 isolates of *Fusarium oxysporum* collected from 8 regions (Oraki, Baho Kelat, Dashtyari, Rask, Shirgovaz, Kahir, Goodan, and Chabahar) were determined using nitrate non-utilizing (nit) mutants. In total, 230 nit mutants were synthesized from 24 isolates and their phenotypic classes on medium sodium nitrate, sodium nitrite, hypoxanthin, ammonium tartarate and uric acid were investigated. Of these, 68% belonged to nit 1, 18% to nit 3, and 14% to Nit M. To determine VCGs and complementation tests, pairings were made between all Nit M and nit 1 and/or nit 3. In a compatible reaction between Nit M and two other nit mutants, a dense growth at the line of contact between two colonies was formed after 7-14 days. All isolates examined in this study, were grouped into two VCGs of which 15 isolates, belonged to VCG a and 9 isolates to VCG b .

Keywords: VCGs, *Fusarium*, Banana, Balochestan