مقاله کوتاه

بررسی گروههای سازگار میسلیومی در جمعیت‌های قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary عامل پوسیدگی اسکلروتینیایی گیاهان روغنی در شمال و شمال غرب کشور*

MYCELIAL COMPATIBILITY GROUPS IN POPULATIONS OF *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB.) DE BARY THE CAUSAL AGENT OF SCLEROTINIA ROT OF OILSEED CROPS IN NORTH AND NORTHWEST OF IRAN

حسین ایرانی[1]**، محمد جوان نیکخواه[2]، اصغر حیدری[1] و ا. ابراهیم‌اف[3]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲۱)

چکیده

در این پژوهش تنوع جمعیت *Sclerotinia sclerotiorum* عامل پوسیدگی ساقه و طوقه در کلزا و آفتاب گردان با استفاده از گروه های سازگار میسلیومی تعیین شد. از بین ۳۵۵ جدایه بررسی شده، ٦٤ گروه سازگار میسلیومی تشخیص داده شد که ۵۲٪ آنها تک عضوی بودند. از بین گروه های سازگار تک عضوی ٦٤٪ جدایه های تک عضوی مربوط به شمال و بقیه ۳٦٪ به شمال غرب کشور تعلق داشتند. نتایج حاصله نشان داد که تفاوت معنی داری ما بین گروه های سازگار رویشی در جمعیت های این قارچ در شمال و شمال غرب کشور در سرعت رشد کلنی، تعداد سختینه، وزن خشک سختینه ها و بیماریزایی جدایه های مورد مطالعه وجود دارد.

کلیدواژه: Sclerotinia rot، تنوع جمعیت، تنوع ژنتیکی

---

* بخشی از رساله دکتری نگارنده اول ارایه شده به انستیتو ملی تحقیقات میکروبیولوژی باکو، کشور آذربایجان

** نویسنده مسئول، پست الکترونیک: hosseinirani405@yahoo.com

۱- مربی و استادیار پژوهش بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، ارومیه

۲- استاد گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳- بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه باکو

مقدمه

گروه های سازگاری میسلیومی (Mycelial Compatibility Groups, MCGs) به عنوان یک نشانگر مورفولوژیکی سریع و موثر برای شناسایی تنوع ژنتیکی درون گونه ای در بین جمعیت قارچ های بیمارگر گیاهی از جمله *S. sclerotiorum* در نقاط مختلف جهان مورد استفاده قرار گرفته است (Kull *et al*. 2004; Malva´rez *et al*. 2007). در این سیستم اگر دو جدایه تشکیل یک پرگنه را بدهند جدایه سازگار محسوب می شوند. جدایه های سازگاری که در یک گروه از MCG قرار می گیرند در حقیقت به یک دودمان همسانه ای تعلق دارند(Kohli *et al*. 1992). در ایران برای اولین بار از ٦٢ جدایه جمع آوری شده از مزارع کلزا در شمال کشور ٤٢ گروه سازگار رویشی تشخیص داده شد (Karimi *et al*. 2010). هدف از پژوهش کنونی جمع آوری جدایه های *S. sclerotiorum* از روی گیاهان روغنی به منظور تعیین تنوع جمعیت ها و تنوع درون گونه ای در بعضی از خصوصیات مورفولوژیکی این قارچ در شرایط اقلیمی متفاوت استان های شمال و شمال غرب کشور است.

مواد و روش ها

طی سالهای۸۷-۱۳۸٦ از پنج منطقه کشت دانه های روغنی کلزا و آفتاب گردان واقع در استان های مازندران، گیلان، اردبیل، آذربایجان شرقی و غربی، ٤٠٠ نمونه گیاهی مشکوک به آلودگی به بیماری اسکلروتینیایی ساقه کلزا و طوقه آفتاب گردان جمع آوری و سختینه های قارچ پس از جداسازی از ساقه و طوقه، شستشو و پس از ضدعفونی در محیط غذایی سیب زمینی- دکستروز- آگار(PDA) کشت شدند. تشتک ها ی پتری به مدت ۳ روز در در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

به منظور تعیین گروه های سازگاری میسلیومی، تعداد ۳۵۵ جدایه *S. sclerotiorum*، با استفاده از آزمون سازگاری میسلیومی به روش شیفر و کوهن (Schafer & Kohn 2006) بررسی شدند. ابتدا جدایه ها روی محیط غذایی سیب زمینی دکستروز آگار کشت داده شدند. پس از رشد قارچ، حداقل یک سانتی متر از حاشیه فعال پرگنه به ازای هر جدایه سه قطعه دیسک (سه تکرار) به قطر تقریبی ٤ میلی متر برداشته و در تشتک های محتوای محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار و ۱۷۵ میکرو لیتر در لیتر از رنگ قرمز خوراکی مک کورمیک به شکل مثلث متساوی اضلاع با فاصله تقریبی ۳/۵ سانتی متر از یکدیگر کشت و در دمای ۲۰ تا ۲۲ و تاریکی نگه داری و پس از ۳ و ۷ روز مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی (ماکروسکوپی) اگر واکنش های تاسازگاری به صورت ظهور نوار قرمز از میسلیوم های قارچ در ناحیه واکنش و حد فاصل دو جدایه، ظهور یک نوار نازک و یکنواخت از میسلیوم های هوایی در ناحیه تلاقی و در حد فاصل دو جدایه، ظهور یک نوار پهن و یکنواخت از میسلیوم های هوایی در حد فاصل دو جدایه و ظهور یک فضای عاری از میسلیوم در ناحیه واکنش و در حد فاصل دو جدایه ظاهر گردید. واکنش به عنوان ناسازگاری ثبت شد و هنگامی که پرگنه ها در منطقه رشد دو جدایه با هم ادغام شدند، واکنش به عنوان سازگاری در نظر گرفته شد (Kull *et al*. 2004). این آزمایش دو بار تکرار شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها و نیز ضرائب همبستگی با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. میانگین ها با استفاده از آزمون T-test و در سطح احتمال ۰۵/۰

جدول ۱- تاریخ ، محل جغرافیایی و تعداد جدایه های قارچ *S. sclerotiorum* جمع آوری شده از مزارع کلزا و آفتاب گردان

Table 1. Date of collection, geographic location and number of *S. sclerotiorum* isolates from canola and sunflower fields

جمعیت Population	تعداد جدایه No. of isolates	مکان Location	میزبان Host plant	تاریخ جمع آوری Year of collection
1	88	Mazandaran	canola	2007
2	81	Guilan	canola	2007
3	23	Ardabil	sunflower	2008
4	22	East Azerbaijan	sunflower	2008
5	141	West Azerbaijan	sunflower	2008

مقایسه شدند.

نتیجه و بحث

از مجموع ٤٠٠ گیاه دارای علایم پوسیدگی ساقه و طوقه نمونه برداری شده از ٣٦ مزرعه کشت کلزا و آفتاب گردان تعداد ٣٥٥ جدایه *S. sclerotiorum* شناسایی شد(جدول ١).

در این آزمایش واکنش ناسازگاری با ایجاد یک فاصله با یک خط قرمز رنگ مشخص در سمت زیرین تشتک پتری و یا تشکیل ریسه های هوایی ضخیم، نازک و یا محدود شدن رشد رویشی ریسه ها بین دو جدایه قابل تشخیص بود(شکل ١).

جدایه های ناسازگار در تشتک های پتری نشان داد که در تعداد کمی از جدایه ها واکنش ها به صورت خط قرمز در فضای ما بین دو جدایه مشاهده شد. در حالیکه در اکثر جدایه های ناسازگار در محل برخورد ریسه ها ی هوایی ضخیم و یا نازک مشاهده شد. همچنین از بین ٣٥٥ جدایه بررسی شده، ٦٤ گروه سازگار میسلیومی تشخیص داده شد که ٥٢٪ آنها تک عضوی بودند. از جدایه های تک عضوی ٦٣/٦٤٪ مربوط به شمال و بقیه ٣٦/٣٦٪ به شمال غرب کشور تعلق داشتند. در این مطالعه 56 MCG بین استان های آذربایجان غربی و شرقی مشترک بود. ولی بین استان اردبیل و یا استان های گیلان و مازندران MCG مشترک

(a) **(b)** **(c)** **(d)**

شکل ١- شمایی از واکنش های ناسازگاری میسلیومی در بین جدایه های *S. sclerotiorum* a) ایجاد یک فاصله با یک خط قرمز رنگ b) تشکیل ریسه های هوایی ضخیم c) تشکیل ریسه های هوایی نازک d) محدود شدن رشد رویشی ریسه ها بین دو جدایه

Fig. 1. Mycelial incompatible reactions among isolates of *S. sclerotiorum* a) The presence of red reaction line, b) band of fluffy aerial hyphae, c) band of narrow aerial hyphae, d) barrage zone of sparse growth hyphae where the mycelia respectively

جدول ۲- تعداد جدایه ها و گروه های سازگار رویشی تعیین شده در مزارع آلوده به *S. sclerotiorum* در شمال و شمال غرب ایران

Table 2. Number of isolates and mycelial compatibility groups (MCGs) of *S. sclerotiorum* from north and northwest of Iran

مکان جغرافیایی Geographical origin	تعداد جدایه No. of isolates	تعداد گروه های سازگار رویشی No. of MCGs	گروه های سازگار رویشی تعیین شده MCGs identified
Mazandaran	88	21	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21
Guilan	81	17	22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38
Ardabil	23	3	39,40,41
East Azerbaijan	22	4	42,43,44,56
West Azerbaijan	141	19	45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64

مشاهده نگردید(جدول ۲).

وجود گروه های سازگار رویشی تک عضوی فراوان در بین جدایه های کلزا نسبت به جدایه های آفتاب گردان نشان دهنده تنوع زیاد در جمعیت قارچ در شمال کشور نسبت به جمعیت قارچ در شمال غرب کشور است. بدلیل بهره مندی استان های گیلان و مازندران از رطوبت کافی امکان تولید مثل جنسی برای قارچ عامل بیماری فراهم می شود (Afshari-Azad 2001) و چنین به نظر می رسد که به دلیل وقوع مرحله جنسی (تلومورف)و نیز پتانسیل بالای آسکوسپورهای هوازاد است که نقش مهمی در پخش و گسترش بیماری به مسافت های طولانی و دور دست داشته و متعاقباً امکان انتشار بیماری، بروز ژنوتیپ های جدید و تنوع ژنتیکی را در مناطق جدید فراهم می سازد. برعکس در استان های شمال غرب کشور مانند آذربایجان غربی و آذربایجان شرقی چرخه زندگی قارچ عامل بیماری متفاوت بوده و آلودگی اولیه در گیاه آفتاب گردان توسط قارچ به طریقه جوانه زنی میسلیوژنیک سختینه های موجود در داخل خاک صورت می گیرد(Irani *et al.* 2001). لذا چنین به نظر می رسد که به دلیل عدم وجود شرایط محیطی مساعد برای تولید آپوتسیوم تنوع ژنتیکی کمتری در بین جدایه های این مناطق دیده شده است و در نتیجه جمعیت قارچ در این مناطق از پتانسیل تغییر پذیری بالایی برخوردار نیست و تنها می توان عواملی نظیر جهش و یا تشکیل آناستوموز در اثر پدیده سازگاری رویشی را به عنوان عوامل موثر در تغییرات ژنتیکی نام برد. این روش تولید مثل به حفظ ژنوتیپی قارچ کمک نموده و متعاقباً سبب محدودیت تغییر پذیری ژنتیکی می گردد. در مطالعه حاضر، پراکندگی همسانه ای *S. sclerotiorum* بین استان اردبیل و یا استان های گیلان و مازندران مشاهده نگردید این محدودیت به نظر می رسد به دلیل جابجایی کم زاد مایه های قارچ عامل بیماری در مناطق یاد شده باشد و یا اینکه ژنوتیپ های خاصی تحت شرایط مختلف محیطی و نیز رقابت انتخاب شده اند (Kull *et al.* 2004). مشاهدات مزرعه ای ما در مناطق شمالی کشور نشان داد که کشت کلزا در مزارع کوچک (کمتر از دو هکتار) انجام گرفته و این مزارع هیچوقت به صورت دائمی زیر کشت کلزا قرار نمی گیرند. در نتیجه به عنوان یک منبع دائمی برای اینوکلوم قارچ عامل بیماری محسوب نمی شوند. بر عکس

در مناطق شمال غرب کشور مانند استان های آذربایجان غربی وآذربایجان شرقی کشت آفتاب گردان در مزارع وسیع و به صورت دائمی انجام می گیرد. طبق تحقیقات صورت گرفته در کشور کانادا در استان های اونتاریو، مانیتوبا و ساسکاچووان در مزارع کلزا تعدادی از همسانه ها به طور مکرر و در طی چند سال در مسافت های طولانی گسترش یافته اند که این نشان می دهد که این MCG ممکن است در پراکنش وسیع و در تکرار بالا وجود داشته باشد(Bardin and Huang , 2001). در مطالعه حاضر، 56 MCG بطور مشترک در مزارع آفتابگردان بین استان های آذربایجان غربی و شرقی شناسایی شد. لذا چنین به نظر می رسد که در این دو منطقه کشت آفتابگردان سالیان دراز و در مقیاس وسیع کشت می شود. علاوه بر این، مناطق یاد شده دارای شرایط آب و هوایی مشابه و عملیات زراعی و نیز چرخه زندگی قارچ عامل بیماری یکسانی بوده و آلودگی اولیه گیاه آفتابگردان توسط جوانه زنی میسلیوژنیک سختینه های قارچ در زیر خاک انجام می پذیرد. به نظر می رسد که پخش و انتشار پروپاگول های قارچ عامل بیماری به راحتی توسط فعالیتهای انسانی یعنی پراکنده سازی بذور آلوده و وجود ابزار شخم آلوده به سختینه و یا آب آبیاری صورت می گیرد.

منابع

جهت ملاحظه به صفحهٔ ۱۸٤ متن انگلیسی مراجعه شود.